

# 衛生試験所報告



第 8 1 号

昭和 38 年 10 月

---

BULLETIN

No. 81

October 1963

OF  
NATIONAL INSTITUTE OF  
HYGIENIC SCIENCES

NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES  
TAMAGAWAYOGA-MACHI, SETAGAYA-KU,  
TOKYO, JAPAN

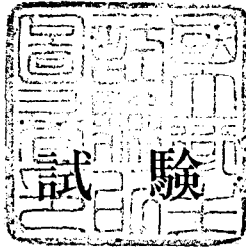
---

国立衛生試験所

衛生試報

Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試驗所報告



第 8 1 号

昭和 38 年 10 月

---

No. 81

BULLETIN

October 1963

OF  
NATIONAL INSTITUTE OF  
HYGIENIC SCIENCES

NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES  
TAMAGAWAYOGA-MACHI, SETAGAYA-KU,  
TOKYO, JAPAN

---

国立衛生試験所

## 目 次

## 報 文

アンチピリン誘導体の分析的応用に関する研究 (第2報)	
4-formylantipyrine を用いるパラアミノサリチル酸ナトリウムまたは	
カルシウム中のメタアミノフェノールの比色定量	守田 実… 1
2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine 1, 1'-dioxide および	
2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine のポーラログラフィー	守田 実… 3
有機化合物のポーラログラフによる研究	
(第21報) PCNB および DNOC の交直ポーラログラフィー	佐藤 寿… 8
(第22報) DDT およびそれら関連ニトロ化合物の交直ポーラログラフィー	佐藤 寿… 10
定電位電解法の研究 (第6報)	
EDTA を用いる銀パラジウム合金の電解分析	辻 楠雄… 13
$\alpha$ -ジオキサソと酢酸との会合 (ラマンスペクトルによる研究 第3報)	鹿島 哲… 15
氷酢酸・トルエン混合溶媒を用いる	
カイニン酸の非水溶液滴定 (非水溶液滴定の研究 第17報)	鹿島 哲… 18
3-acetyl-4-hydroxycoumarin および	
dehydroacetic acid の pKa について	足立 透・江島 昭… 20
麻薬類の薄層クロマトグラフィー (第1報)	
あへん製剤中のアルカロイドの検出	高橋一徳・水町彰吾・朝比奈晴世… 23
尿中麻薬の検出について (第2報)	大野昌子・朝比奈晴世… 26
インシュリンの薬化学的研究 (第30報)	
等電点沈澱法による精製カツオおよびマグロ・インシュリンの	
N-末端アミノ酸と化学構造について	西崎笹夫… 30
インシュリンの薬化学的研究 (第31報)	
Crystal TA のN- および C-末端アミノ酸について	西崎笹夫… 34
卵胞ホルモンの研究 (第13報)	
クリーム中のエストロンの比色定量法	長沢佳熊・越村栄之助・木村俊夫… 36
薬剤耐性因子の伝達におよぼす培地の影響	岩原繁雄・小島満子… 38
資 料	
赤外吸収スペクトル測定における二、三の工夫	大場琢磨・河端五郎… 41
解熱鎮痛剤中のフェナセチンの定量法の改良	辻 章夫・中村晃忠… 42
第七改正日本薬局方パラアミノサリチル酸カルシウム,	
パラアミノサリチル酸ナトリウムおよび	
その製剤の定量法について	辻 章夫・中村晃忠… 43
日本薬局方プロテイン銀定量法の検討	斎藤恵美子… 44
製剤中のグルクロン酸の定量	中島辰己・吉村 淳・西本喜重… 45
ネオビタミン A 混在時のビタミン A 定量法の選択	小川俊太郎・小林 正… 47
クロロフェノール類中の PCP の分析	河合 聡・近藤常功・時枝妙子… 49
ペンタクロロフェノールおよび	
関連化合物の薄層クロマトグラフィー	鈴木郁生・加藤せえ… 51
昭和 37 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… 53
コールドパーマネントウェーブ用	
第2剤の処理効果について	市川重春・南城 実・狩野静雄… 54
歯磨中の ABS の試験について	市川重春・南城 実・狩野静雄… 55

II

カラムクロマトグラフィーによる

法定化粧品用タル色素(一部)の分離.....森 秀将・横山 剛・浜田和子... 57  
 飲料水中の微量フェノールの定量について.....藤井正道・島峯皇彦... 60  
 灯台飲料用天水中の <sup>90</sup>Sr の定量.....長沢佳熊・城戸靖雅・池淵秀治... 62  
 水中の放射性物質除去装置の性能試験成績について.....長沢佳熊・城戸靖雅・時本好子・  
 市場克也..... 71

昭和 37 年 (1962) 産茶葉の <sup>90</sup>Sr および

<sup>137</sup>Cs の汚染について.....長沢佳熊・亀谷勝昭... 73

昭和 37 年 (1962) 度に製造された粉乳の

<sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs の汚染について.....長沢佳熊・亀谷勝昭... 77

食品中の農薬の残留と中性洗剤による

洗浄効果について.....川城 岐・岡田太郎・辰濃 隆・  
 藤巻昌子..... 78

輸入食品の人工着色料について (第 4 報) .....細貝祐太郎・天野立爾・武見和子... 80

食品添加物の消長について (第 1 報) 乾果物中の亜硫酸.....川城 岐・川田公平・福沢富美・  
 細貝祐太郎・天野立爾・武見和子... 81

医療用プラスチックに関する研究 (第 6 報)

総 プラスチック製注射筒について.....藤井正道・佐藤 寿・堀部 隆・  
 島峯皇彦・竹内 勝..... 83

医療用プラスチックに関する研究 (第 7 報)

医療用塩化ビニールについて (その I) .....藤井正道・佐藤 寿・堀部 隆・  
 竹内 勝..... 85

歯科用セメント中のヒ素含有量について.....藤井正道・堀部 隆・石塚弘章... 87

マロン酸処理内毒素の反覆投与について.....石関忠一・岩原繁雄... 89

赤痢菌感染実験に際しおこったサルの大腸内細菌叢ならびに

生時・感染死後における腸管各部位の細菌叢について.....林 長男... 90

benzophenone 誘導体より spiran 環への微生物転換の試み .....名取信策・宇田川俊一... 93

殺菌剤によるカビ胞子の細胞変化の電子顕微鏡的観察 (第 1 報)

*Aspergillus* 分生胞子の正常微細構造.....一戸正勝・松島 崇・倉田 浩... 95

癌および細菌に対する化学療法剤のスクリーニング試験成績 (第 4 報)

主として含窒素異項環化合物について (4) .....宮沢文雄・橋本泰而・岩原繁雄・  
 板井孝信・鈴木郁生・佐子 茂・  
 神谷庄造・夏目幸子・中島利章・  
 大草源三..... 98

真菌に対する化学療法剤のスクリーニング試験成績 (第 1 報)

主として含窒素異項環化合物について.....岩原繁雄・倉田 浩・稲垣尚起・  
 板井孝信・鈴木郁生・神谷庄造・  
 中島利章.....101

インスタント食品の細菌および真菌汚染度について.....衛生微生物部...102

抄 録.....105

講演要旨.....124

衛試例会.....129

国家検定, 国家検査などの試験成績報告.....131

日本薬局方標準品および国立衛生試験所標準品.....140

## 薬用植物栽培試験場報告

## 報 文

春日部において栽培された若干の

麻黄のアルカロイド含有量について (続報) ..... 川谷豊彦・藤田早苗之助・久保木憲人・  
真木義次.....147

放射線照射のケシの発芽におよぼす影響..... 川谷豊彦・藤田早苗之助...148

放射線照射がケシのアヘン生産におよぼす影響 (第1報) ..... 川谷豊彦・藤田早苗之助・大野忠郎...150

ブルガリア産 *Artemisia maritima* L. var. *salina* Koch の

試作栽培について..... 川谷豊彦・大野忠郎...153

春日部における *Duboisia myoporoides* R. Br. の

栽培について..... 川谷豊彦・藤田早苗之助・久保木憲人・  
原 定雄・真木義次.....156

ガラタミン原料としてのナツズイセンの

試作栽培について..... 川谷豊彦・石原活磨・大野忠郎...159

*Rauwolfia* 属植物とくに印度蛇木 (*R. serpentina* BENTH.) の

種子の発芽に関する研究 (第5報)

硫酸処理が印度蛇木の種子の発芽におよぼす影響..... 宮崎幸男・五太子小太郎...163

伊豆における *Rauwolfia* 属植物とくに印度蛇木(*R. serpentina* BENTH.) の栽培試験 (第5報)

圃場における3年生および4年生株の成績..... 宮崎幸男・五太子小太郎...165

伊豆におけるココアの栽培試験 (第2報)

温室内においてしゃ光がココアの生育, 収量,

コカイン含量におよぼす影響..... 宮崎幸男・渡辺宏之...167

伊豆におけるガラタミン含有植物の栽培試験 (第1報)

ショウキラン (*Lycoris aurea* HERB.), ナツズイセン (*L. squamigera* MAXIM.),スノーフレック (*Leucojum aestivum* L.), スノードロップ (*Galanthus nivalis* L.) の

1961~1962年における一般生育状態..... 宮崎幸男・五太子小太郎...172

伊豆におけるガラタミン含有植物の栽培試験 (第2報)

温室内においてしゃ光がショウキラン (*Lycoris aurea* HERB.)

の生育ならびに収量におよぼす影響..... 宮崎幸男・五太子小太郎...176

## 資 料

春日部におけるカンゾウの試作栽培について..... 川谷豊彦・大野忠郎・石原活磨・  
逸見誠三郎.....180

放射線照射の印度蛇木の発芽におよぼす影響 (続報) ..... 川谷豊彦・逸見誠三郎...181

ミシマサイコの病害について (第1報)

根および葉からの病原菌の分離..... 倉田 浩・藤田早苗之助...182

ミシマサイコの病害について (第2報)

分離糸状菌の病原性..... 倉田 浩・藤田早苗之助...184

種子島における印度蛇木の栽培試験 (第4報)

4年生植物の月別収穫の成績..... 高城正勝...186

## 抄 録

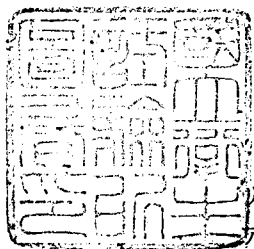
## CONTENTS

M. MORITA : Studies on the Analytical Application of Antipyrine Derivatives. II. Colorimetric Determination of <i>m</i> -Aminophenol in Sodium or Calcium <i>p</i> -Aminosalicylate with 4-Formylantipyrine .....	1
M. MORITA : Polarography of 2,2'-Dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine 1,1'-dioxide and 2,2'-Dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine .....	3
H. SATO : Polarographic Studies of Some Organic Compounds. XXI. A.C & D.C. Polarography of PCNB and DNOC .....	8
XXII. A.C. & D.C. Polarography of DDT and Their Related Nitro Compounds .....	10
K. TSUJI : Studies on Controlled Potential Electrolysis. VI. Electrolysis of Silver and Palladium in Disodium Ethylenediaminetetraacetate Solution .....	13
T. KASHIMA : The Molecular Association of <i>p</i> -Dioxane and Acetic Acid (Studies with Raman Spectroscopy. III.) .....	15
T. KASHIMA : Nonaqueous Titration of $\alpha$ -Kainic Acid in Mixture of Anhydrous Acetic Acid and Toluene .....	18
T. ADACHI and A. EJIMA : On the pKa Value of 3-Acetyl-4-hydroxycoumarin and Dehydroacetic Acid .....	20
K. TAKAHASHI, S. MIZUMACHI and H. ASAHINA : Thin-layer Chromatographic Study on Narcotic Drugs. I. Detection of Alkaloids in Opium Preparations .....	23
M. ONO and H. ASAHINA : Detection of Narcotic Drugs in Biological Fluid. II. ....	26
S. NISHIZAKI : Pharmaceutical and Chemical Studies on Insulin. XXX. On N-Terminal Amino Acids and Chemical Structures of Bónito Fish and Tunny Fish Insulins Purified by Precipitation at Isoelectric Point .....	30
S. NISHIZAKI : Pharmaceutical and Chemical Studies on Insulin. XXXI. On N- and C-Terminal Amino Acids of Crystal TA .....	34
K. NAGASAWA, E. KOSHIMURA and T. KIMURA : Studies on Follicular Hormones. XIII. Quantitative Analysis of Estrone in Cream by Colorimetric Method .....	36
S. IWAHARA and M. KOBATAKE : The Influence of Culture Media on the Drug-resistance Transfer of Bacteria .....	38
<hr/>	
T. OBA and G. KAWATA : Some Convenient Sampling Technique on Infrared Spectrometry .....	41
A. TSUJI and A. NAKAMURA : Improvements of Determination for <i>p</i> -Acetophenetidine in Pharmaceutical Preparations .....	42
A. TSUJI and A. NAKAMURA : Improvements of Determinations for Calcium Paraaminosalicylate, Sodium Paraaminosalicylate, and their Preparations in J.P. VII .....	43
E. SAITŌ : Studies on the Determination of J.P. VII. Argentum Proteincum .....	44
T. NAKASHIMA, K. YOSHIMURA and N. NISHIMOTO : Determination of Glucuronic Acid in Medicines .....	45
S. OGAWA and T. KOBAYASHI : Comparison of Various Analytical Methods of Vitamin A in the Presence of Neovitamin A .....	47
S. KAWAI, T. KONDO and T. TOKIEDA : Analysis of Pentachlorophenol in Chlorophenols .....	49
I. SUZUKI and S. KATO : Thin Layer Chromatography of Pentachlorophenol and Related Compounds .....	51
Y. NAKAGAWA and H. ISAKA : Morphine Content of Japanese Opium Collected During 1961-1962 .....	53

S. ICHIKAWA, M. NANJO and S. KANO : On the Effect of Oxidizing Agents for Cold Permanent Solution .....	54
S. ICHIKAWA, M. NANJO and S. KANO : On the Examination of ABS in the Dental Creams and Powders .....	55
H. MORI, T. YOKOYAMA and K. HAMADA : Separation of Some Japanese Official Cosmetic Colours by Column Chromatography .....	57
M. FUJII and M. SHIMAMINE : On the Microdetermination of Phenol in Drinking Water .....	60
K. NAGASAWA, Y. KIDO and H. IKEBUCHI : <sup>90</sup> Sr in Stock Rain Water in Lighthouses .....	62
K. NAGASAWA, Y. KIDO, Y. TOKIMOTO and K. ICHIBA : On the Function Test of a Decontamination Apparatus of Radio-Contaminated Water .....	71
K. NAGASAWA and K. KAMETANI : Contamination of <sup>90</sup> Sr and <sup>137</sup> Cs in Tea Grown in 1962.....	73
K. NAGASAWA and K. KAMETANI : Contamination of <sup>90</sup> Sr and <sup>137</sup> Cs in Skin Milk Products in 1962 .....	77
I. KAWASHIRO, T. OKADA, T. TATSUNO and S. FUJIMAKI : Pesticide in Food and the Effect of Washing with Synthetic Detergent (Alkylbenzene Sulfonate) .....	78
Y. HOSOGAI, R. AMANO and K. TAKEMI : On the Artificial Colors in Imported Foods. VI. ....	80
I. KAWASHIRO, K. KAWADA, F. FUKUZAWA, Y. HOSOGAI, R. AMANO and K. TAKEMI : Studies on Vicissitudes of Food Additives. I. Determination of Sulfur Dioxide in Dried Fruits .....	81
M. FUJII, H. SATO, T. HORIBE, M. SHIMAMINE and M. TAKEUCHI : Studies on Plastics for Medical Uses. VI. Plastics Syringe .....	83
M. FUJII, H. SATO, T. HORIBE and M. TAKEUCHI : Studies on Plastics for Medical Uses. VII. Polyvinyl Chloride for Medical Uses (Part I) .....	85
M. FUJII, T. HORIBE and H. ISHIZUKA : Determination of Arsenic in Dental Cements .....	87
C. ISHIZEKI and S. IWAHARA : On the Repeated Administration of Endotoxin Treated with Malonic Acid .....	89
N. HAYASHI : On the Faecal and Gastrointestinal Flora of Monkeys before and after Experimental Shigella Infections .....	90
S. NATORI and S. UDAGAWA : An Attempted Microbial Transformation of Benzophenones to Spirans.....	93
M. ICHINOE, T. MATSUSHIMA and H. KURATA : Electron Microscope Observations on the Ultrastructural Changes of Fungus Spore Cell Induced by Fungicide Agent. I. Fine Structure of <i>Aspergillus</i> Conidia in Normal Stage .....	95
F. MIYAZAWA, T. HASHIMOTO, S. IWAHARA, T. ITAI, I. SUZUKI, S. SAKO, S. KAMIYA, S. NATSUME, T. NAKASHIMA and G. OKUSA : Screening Test on Anti-cancer and Anti-microbial Actions. IV. On Some Derivatives of Nitrogen-containing Heterocyclic Compounds (4) .....	98
S. IWAHARA, H. KURATA, N. INAGAKI, T. ITAI, I. SUZUKI, S. KAMIYA and T. NAKASHIMA : Screening Test on Anti-fungal Actions. I. On Some Derivatives of Nitrogen-containing Heterocyclic Compounds and Others .....	101
Department of Microbiology : Microbiological Examination of Instant Juice, Coffee, Cocoa, Tea and Shiruko .....	102
<hr/>	
T. KAWATANI, S. FUJITA, N. KUBOKI and Y. MAKI : On the Alkaloidal Content in Ephedras Cultivated at Kasukabe. II. ....	147
T. KAWATANI and S. FUJITA : Influence of $\gamma$ -Ray Radiation on the Germination of <i>Papaver somniferum</i> L. ....	148
T. KAWATANI, S. FUJITA and T. OHNO : Influence of $\gamma$ -Ray Radiation on the Opium Production of <i>Papaver somniferum</i> L. I. ....	150

T. KAWATANI and T. OHNO : On the Trial Cultivation of <i>Artemisia maritima</i> L. var. <i>salina</i> Koch of Bulgarian Origin .....	153
T. KAWATANI, S. FUJITA, N. KUBOKI, S. HARA and Y. MAKI : On the Cultivation of <i>Duboisia myoporoides</i> R. BR. at Kasukabe .....	156
T. KAWATANI, K. ISHIHARA and T. OHNO : On the Trial Cultivation of <i>Lycoris squamigera</i> MAXIM. as Galanthamine Source .....	159
Y. MIYAZAKI and K. GODAISHI : The Germination of the Seeds of <i>R. serpentina</i> BENTH. V. The Effect of the Sulphuric Acid Treatment on the Germination of the Seeds of <i>R. serpentina</i> BENTH. ....	163
Y. MIYAZAKI and K. GODAISHI : Experimental Cultivation of Rauwolfias, Especially of <i>R. serpentina</i> BENTH. at IZU. V. Results of the Third Year and Fourth Year Growth of <i>R. serpentina</i> BENTH. ....	165
Y. MIYAZAKI and H. WATANABE : Experimental Cultivation of Coca at Izu. II. Relation of the Light Intensity and the Growth, Yield, and Cocaine Content in the Greenhouse .....	167
Y. MIYAZAKI and K. GODAISHI : Experimental Cultivation of the Plants Containing Galanthamine at IZU. I. General Growth of Shokiran ( <i>Lycoris aurea</i> HERB.), Natsuzuisen ( <i>L. squamigera</i> MAXIM.), Snowflake ( <i>Leucojum aestivum</i> L.), and Snowdrop ( <i>Galanthus nivalis</i> L.) in 1961-1962 .....	172
Y. MIYAZAKI and K. GODAISHI : Experimental Cultivation of the Plants Containing Galanthamine at IZU. II. Relation of the Light Intensity and the Growth and Yield of Shōkiran ( <i>Lycoris aurea</i> HERB.) in the Greenhouse .....	176
T. KAWATANI, T. OHNO, K. ISHIHARA and S. HEMMI : On the Trial Cultivation of Glycyrrhizas at Kasukabe .....	180
T. KAWATANI and S. HEMMI : Influence of $\gamma$ -Ray Radiation on the Germination of <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. II. ....	181
H. KURATA and S. FUJITA : Notes on the Dry-Root-Rot Disease of <i>Bupleurum falcatum</i> L. I. Isolation of Pathogenic Fungi from the Leaf, Stem and Root .....	182
H. KURATA and S. FUJITA : Notes on the Dry-Root-Rot Disease of <i>Bupleurum falcatum</i> L. II. Inoculation Experiment by Use of Isolates .....	184
M. TAKI : On the Experimental Cultivation of <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. at Tanegashima. IV. Results of Monthly Harvest of the 4-Year-Old Plant .....	186





## アンチピリン誘導体の分析的応用に 関する研究(第2報)\*

4-formylantipyrine を用いるパラアミノサ  
チル酸ナトリウムまたはカルシウム中のメタ  
ミノフェノールの比色定量

守 田 実

アルデヒド類たとえば *p*-dimethylaminobenzaldehyde, フルフラール等はアミン類に対する定性, 定量試薬として広く利用されている。1927年 Ekkert<sup>1)</sup> は数種のアルデヒドとフェノール類との呈色反応につい

Table 1. Coloration of amines and phenols with 4-formylantipyrine

comps.	color
aniline	—
<i>p</i> -anisidine	dark yellow
<i>p</i> -toluidine	yellow
$\alpha$ -naphthylamine	orange yellow
$\beta$ -naphthylamine	orange yellow
methylamine	—
<i>p</i> -aminobenzoic acid	yellow
2-aminopyridine	yellow
4-aminoantipyrine	yellow
<i>p</i> -nitroaniline	yellow
phenylhydraz'ne	pink-red
hydrazine	yellow
<i>p</i> -aminosalicylic acid	—
<i>m</i> -aminophenol	yellowish orange
INAH	yellow
phenol	yellow
<i>o</i> -cresol	orange yellow
guaiacol	orange yellow
catechol	orange yellow
phloroglucinol	red
thymol	orange
resorcinol	red
$\alpha$ -naphthol	pink-red
$\beta$ -naphthol	orange yellow
vanillin	yellow
hydroquinone	light orange
salicylic acid	—
pyrogallol	reddish orange
<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	—
<i>p</i> -methylaminophenol	—

て報告している。著者は今回アンチピリンの一誘導体である 4-formylantipyrine を用いて各種のアミンおよびフェノールに対する呈色反応を検討したところ Table 1. に示すような結果を得た。

Table 1. から明らかなように, 4-formylantipyrine に対して, メタアミノフェノール (MAP) はパラアミノサリチル酸 (PAS) とその呈色状態が著しく異なるので本呈色反応を PAS 中の不純物である MAP の定量に応用し得るのではないかと考えた。

現在までに PAS 中の微量 MAP の定量法としては i) 紫外吸収による方法<sup>2)</sup>, ii) MAP をジアゾ化して 2,4-dinitrophenol<sup>3)</sup>, 津田試薬<sup>4)</sup>  $\beta$ -ナフトール<sup>5)</sup> 等とカップリングさせて比色する方法, iii) PAS および MAP の両者をジアゾ化する時前者のジアゾニウム塩が不安定で加水分解して 2,4-dihydroxybenzoic acid となりアルカリ性とする時後者のジアゾニウム塩とカップリングして黄色に呈色する反応を利用して比色する方法<sup>6)</sup>, iv) *p*-nitroaniline をジアゾ化し MAP にカップリングさせる方法<sup>7)</sup>, v) ヨウ素酸カリウムと酢酸を作用させて MAP を赤紫色に呈色させ比色する方法<sup>8)</sup> や 2,6-dichloroquinone monochlorimide を作用させる比色法<sup>9)</sup> があり, また最近 Bican-Fister<sup>10)</sup> はモリブデンブルー法による MAP の定量法を報告している。

著者は前述した 4-formylantipyrine との呈色反応を用いて定量条件を検討したところ, ほぼ満足な結果を得ることができたので報告する。

### 実験の部

試薬 1) *m*-aminophenol 丸若化学 KK 工業製純品をトルエンよりさらに再結晶したもの。mp 122~123° 2) 4-formylantipyrine 伊藤<sup>11)</sup> の方法により合成 淡黄色針晶 mp 162° 3) 4-formylantipyrine の 0.6% 無水エタノール溶液 4) PAS Na および

\* 第1報は本誌, 80, 6 (1962)

Ca 塩 JP VII 合格品をさらにクロロホルムでよく洗浄し、デシケーター中で乾燥したもの。5) 75% 硫酸 6) 無水エタノール。

**定量法** PAS Na あるいは PAS Ca 0.4 g をとりグラスフィルターに入れ、クロロホルム 20 ml を加えよくかきまぜ吸引濾過する。残留物はクロロホルム 10 ml ずつでさらに 10 回洗浄する。クロロホルムを合し水浴上でクロロホルムを留去し残留物に正確に無水エタノール 15 ml を加えてとかし、その 5 ml をとり 0.6% 4-formylantipyrine の無水エタノール溶液 5 ml, 75% 硫酸 3 ml を加えてふりまぜ室温に放置。15~40分間に 478 m $\mu$  で吸光度を測定。別に作成した検量線により MAP の含量を求める。(対照：無水エタノール 5 ml を用いて同様に操作したもの)。

**検量線** MAP の 5 mg%, 10 mg%, 20 mg% 無水エタノール溶液 5 ml ずつをとり、以下定量法に記したように操作して吸光度を求め検量線を作成する。5 mg% から 20 mg% の間において Lambert-Beer の法則に従かう。MAP および PAS の場合の吸収曲線を Fig. 1 に示す。

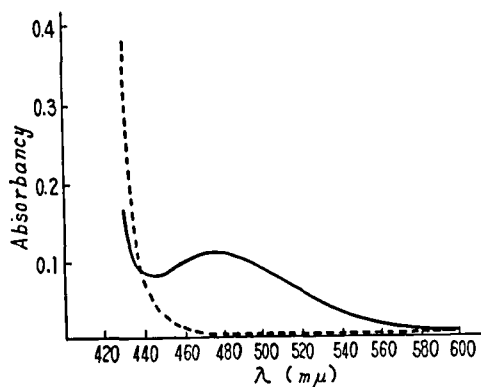


Fig. 1. Absorption curve  
— MAP 0.5 mg, ..... PAS Na 2mg

#### 定量法の検討

(1) 硫酸の濃度の影響 MAP の 10 mg% 無水エタノール溶液 5 ml と 1% 4-formylantipyrine の無水エタノール溶液 5 ml との混液に 30, 50, 70, 80% の硫酸および濃硫酸 (>95%) 3 ml を加えて硫酸の濃度が呈色度におよぼす影響を検討した。その結果硫酸の濃度が 70~80% では吸光度は一定であったので 75% を用いることにした。

(2) 4-formylantipyrine の濃度の影響 MAP の 10 mg% 無水エタノール溶液 5 ml と 0.1, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0% の 4-formylantipyrine の無水エタノール溶液 5 ml との混液に 75% 硫酸 3 ml を加えて 4-formylantipyrine の濃度が呈色度におよぼす影響

をしらべた。その結果 0.5~0.8% では呈色が一定となったので 0.6% を用いることにした。

(3) 呈色の安定性 MAP の 10 mg% 無水エタノール溶液を用いて定量法にしたがって操作し呈色の安定性を検討した。試薬を加えてから少なくとも 15~40 分の間では呈色度は一定であるのでこの間に測定することにした。

**回収率試験** PAS Na および PAS Ca に一定量の MAP を混じり以下定量法にしたがって操作し MAP の定量を行なった。その結果を Table 2 に示す。

Table 2. Recovery test of MAP

conditions	recovery
PAS Ca 0.3 g+MAP 1.5 mg	95.5%
PAS Na 0.3 g+MAP 1.5 mg	104.5%

他のアルデヒド類の MAP および PAS Na との呈色 他のアルデヒドとして benzaldehyde, salicylaldehyde, furfural, vanillin, 3,4-methylenedioxybenzaldehyde および *p*-dimethylaminobenzaldehyde をえらび、これらのアルデヒドと MAP および PAS Na との呈色反応を行ない、4-formylantipyrine のそれと比較した。その結果これらのアルデヒドの中で vanilline は 4-formylantipyrine に似た状態を示すがやや感度が悪く、他のアルデヒド類はいずれも 4-formylantipyrine に劣る結果を示した。

本法は現在まで報告されている MAP のいずれの定量法とも全く異なった原理によるものであり操作も簡単で、かつ何ら特殊な試薬を必要としないのを特長とする。

終りに種々御配慮を賜りました小川俊太郎支所長、中島辰巳部長、森 秀将室長に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) L. Ekkert: *Pharm. Zentralh.*, 68, 563(1927); *C. A.*, 21, 4018(1927)
- 2) 太田, 中島, 中上: 田辺製薬研究年報, 1, 63(1956)
- 3) 青木, 岩山, 作山: 薬誌, 71, 1327(1951)
- 4) 根来: 薬誌, 71, 209(1951)
- 5) 第七改正日本薬局方第一部, p. 479
- 6) M. Pesez: *Bull. soc. chim. biol.*, 31, 1369(1949); *C. A.*, 44, 4881(1950); 根来: 薬誌, 71, 1322(1951)
- 7) 板井, 井下田: 衛生試験, 72, 81(1954); J. Morise: *Ann. pharm. franc.*, 13, 333(1955);

- C.A., 49, 16344(1955)  
 8) G. Lenaers : *J. Pharm. Belg.* [NS], 5, 224 (1950)  
 9) 渡辺, 鎌田 : 薬誌, 72, 972(1952)  
 10) T. Bičan-Fister : *J. pharm. Pharmacol.*, 14, 280(1962)  
 11) 伊藤 : 薬誌, 76, 167(1957)

Summary

Studies on the Analytical Application of Azopyridine Derivatives. II. Colorimetric Determination of *m*-Aminophenol in Sodium or Calcium *p*-Aminosalicylate with 4-Formylantipyridine

Minoru MORITA

A new and simple colorimetric method of assay for *m*-aminophenol in sodium or calcium *p*-aminosalicylate using 4-formylantipyridine was established. By this method, a small amount of *m*-aminophenol, ca 0.5 mg, can be determined rapidly without using any special reagent.

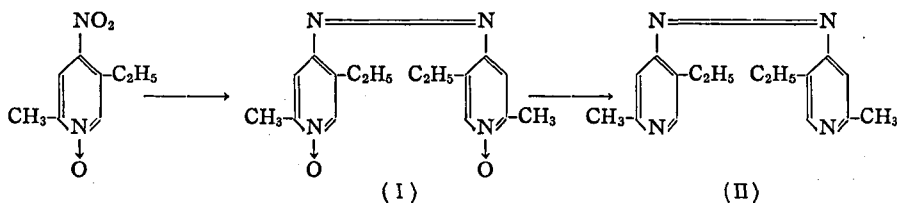
(昭和38年5月31日受付)

2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine-1, 1'-dioxide および 2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine のポーラログラフィー

守 田 実

著者は以前に中島ら<sup>1)</sup>の方法に従って 5-ethyl-2-methyl-4-nitropyridine-N-oxide の鉄粉と酢酸による還元を行っていた際、たまたま塩化アンモニウム水溶液における亜鉛末還元を行なったところ、分解点 218° の赤色微細針晶を得た。本物質の元素値は C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub> に一致し、さらに三塩化リンにより融点 101° で元素分析値が C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub> と一致する橙色針晶に変化した。1943 年落合ら<sup>2)</sup>は 4-nitropyridine N-oxide の還元において、そのニトロ基は通常芳香族

のニトロ基と異なり還元に対して抵抗性が大きく、しかも容易に dimerization をおこしてアゾ誘導体を与えることを報告し、加藤ら<sup>3)</sup>は 4-nitro-2,6-lutidine 1-oxide を用いて同様な結果を得ている。これらの事実からみると著者の得た分解点 218° の赤色結晶は 2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine 1, 1'-dioxide (I) であり、融点 101° の橙色針晶は 2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine (II) であると考えられる。



(I), (II) はポーラログラフィー的に活性な原子団を有する。今回著者は (I), (II) ならびに 5-ethyl-2-methylpyridine-N-oxide (III) のアゾ基および N-oxide 基の還元電位の比較検討、および (I), (II) がポーラログラフィー的にいかなる挙動を示すかに興味をおぼえたのと、またこれらのことはあまり行なわれておらないところから本実験を行なった。

実験材料および実験方法

装置 柳本製 ベン記録式 直交 ポーラログラフィー PA 101型、水銀滴下電極は  $m=0.750 \text{ mg}\cdot\text{sec}^{-1}$ ,  $t=4.21 \text{ sec}$  (open circuit, 0.1 N KCl 中),  $h=60 \text{ cm}$  の恒数を有する。電解液の内部抵抗は 500  $\Omega$  以下で  $iR$ -

drop は無視した。

試料 2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine-1, 1'-dioxide (I) 5-ethyl-2-methyl-4-nitropyridine N-oxide 10 g, NH<sub>4</sub>Cl 3.3 g, 水 78 ml の混合物を 20° にたもち、かきまぜながら Zn 末 8.9 g を 50 分にわたって加える。加え終わってからさらに 1 時間かきまぜた後、15% アンモニア水約 60 ml を加えて十分アルカリ性とし CHCl<sub>3</sub> で抽出。K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> で乾燥し CHCl<sub>3</sub> を留去。得量約 6 g, 希エタノールより再結晶。赤色微細針晶。dp 218.5° C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub> 計算値 C 64.00, H 6.67, N 18.67, 実験値 C 64.18, H 6.65, N 19.13。

2, 2'-dimethyl-5, 5'-diethyl-4, 4'-azopyridine (II)

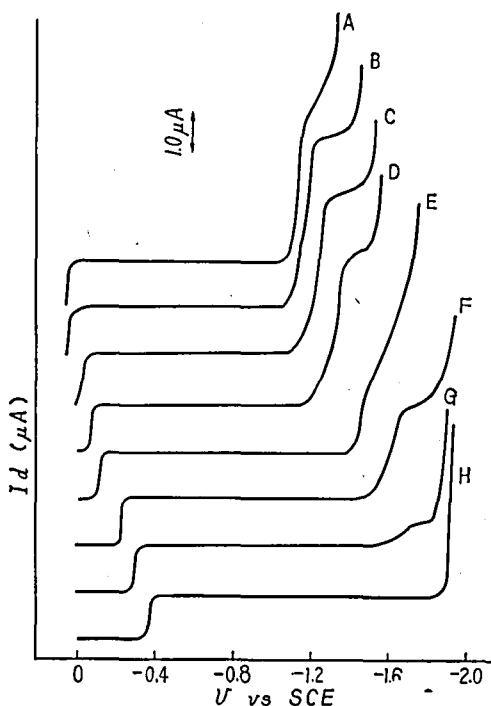


Fig. 1. Polarograms of 2,2'-dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine 1,1'-dioxide (I), 0.5 mM,  
 $\mu=0.44$ , A: pH 1.11 B: " 2.44  
 C: " 3.60 D: " 4.68  
 E: " 6.30 F: " 7.44  
 G: " 9.06 H: " 10.56

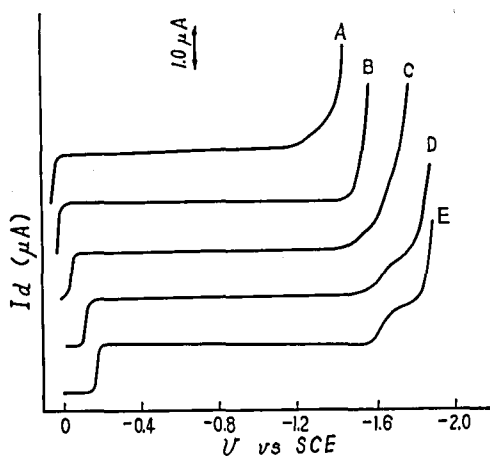


Fig. 2. Polarograms of 2,2'-diethyl-4,4'-azopyridine (II), 0.5 mM,  
 $\mu=0.365$   
 A: pH 2.44 B: pH 4.68  
 C: " 6.35 D: " 7.44  
 E: " 9.06

(I) 2 g を  $\text{CHCl}_3$  8 ml に溶かし氷冷しながら  $\text{PCl}_5$  1.5 g を  $\text{CHCl}_3$  7 ml に溶かした液を加える。室温に 30 分間放置した後氷水に投じ、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  でアルカリ性とし、 $\text{CHCl}_3$  で抽出。 $\text{K}_2\text{CO}_3$  で乾燥、 $\text{CHCl}_3$  を留去。得量 0.8 g。希メタノールより再結晶。橙色針晶。mp 101°  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_4$  C 71.64, H 7.46, N 20.90, 実験値 C 71.54, H 7.56, N 20.83.

5-ethyl-2-methylpyridine N-oxide (III) Lee ら<sup>4)</sup>の方法により調製。淡黄色油状液。

操作 緩衝液として  $\text{NaAc}+\text{HCl}$  (pH 1.11~3.60),  $\text{NaAc}+\text{HAc}$  (pH 4.63~4.68),  $\text{KH}_2\text{PO}_4+\text{NaOH}$  (pH 6.30~7.44), glyocol+ $\text{NaCl}+\text{NaOH}$  (pH 9.06~10.56) を用い、さらに  $\text{NaCl}$  を加えて (I) の場合はイオン強度  $\mu$  を 0.44 に、(II) の場合は 0.365 に調製した。ただし半波電位  $E_{1/2}$  を比較する際には (I), (II) のいずれも同一イオン強度で行なったものを比較した。試料は 50% エタノールに溶かしたものの一定量を取りこれらの緩衝液でうすめ、セラチンを 0.01% の割合に加え窒素ガスを 15 分間通じた後  $25 \pm 0.1^\circ$  でポーログラフィーを行なった。外部基準電極としては飽和カロメル電極 (SCE) を用いた。

### 実験結果

pH の影響 (I) および (II) のポーログラム

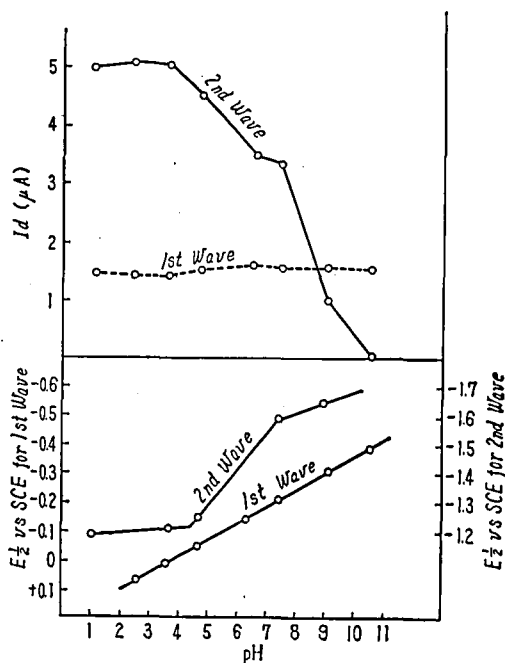


Fig. 3.  $E_{1/2}$ -pH and wave height-pH curves of 2,2'-dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine 1,1'-dioxide (I) (0.5 mM)

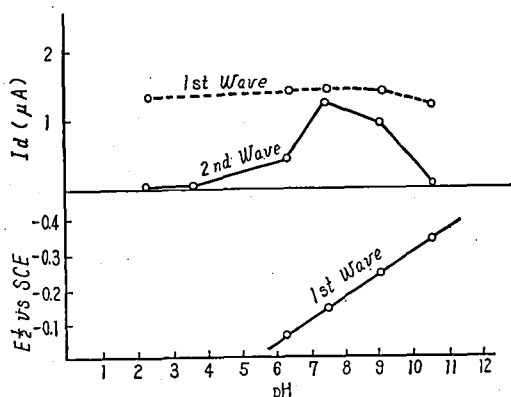


Fig. 4.  $E_{1/2}$ -pH and wave height-pH curves of 2,2'-dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine (II) (0.5 mM)

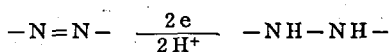
を Fig. 1, 2 に示す。(I) および (II) の第1波の波高は pH によりほとんど変化しないが第2波は pH が大きくなるにつれて次第に減少し pH 10.56 では全く認められなくなる。(II) は pH 6~9 において第2波が現れるがその他の pH では1段階のみを示す。

(I) および (II) の第1波および第2波の  $E_{1/2}$ -pH 曲線および波高  $I_d$ -pH 曲線を Fig. 3, 4 に示す。

(II) の第2波の  $E_{1/2}$  は pH 6.35 で  $-1.58$  v, pH 7.54 で  $-1.59$  v, pH 9.06 で  $-1.60$  v (いずれも vs. SCE) である。

(I) および (II) の第1波

(I) の第1波 (pH 6.35) および (II) の第1波 (pH 7.44) はその波高が水銀柱  $h$  (60~85 cm) の平方根および濃度 ((I) の場合 0.1~1.0 mM (II) の場合 0.1~0.5 mM) に比例し拡散電流の性質を示す。拡散電流恒数  $K_D$  ( $\mu A \cdot mM^{-1} \cdot mg^{-1/2} \cdot sec^{-1/2}$ ) はそれぞれ 2.89 および 2.81 で、温度係数  $T_0$  は  $25^\circ$  でいずれも 1.7%, Riehl<sup>6)</sup> の式によりその分子量から拡散恒数を  $5.19 \times 10^{-6}$  および  $5.43 \times 10^{-6}$  ( $cm^2 \cdot sec^{-1}$ ) と推定し Ilković の式により還元にあづかる電子数を計算すると  $n=2.1 \approx 2$  および  $1.99 \approx 2$  となる。また  $E_{1/2}$ -pH 曲線 (Fig. 3, 4) は  $E_{1/2} = 0.216 - 0.059pH$  および  $E_{1/2} = 0.330 - 0.062pH$  で表わされその傾斜  $\Delta E_{1/2} / \Delta pH$  の 59 mv, 62 mv は2電子2プロトン還元の見積りに一致もしくは近く、 $E_{1/4} \sim E_{3/4} = 29$  mv, 32 mv も2電子還元の見積りに近い。以上の事実により (I) および (II) の第1波はアゾ基よりヒドロゾ基の2電子2プロトン還元で電極反応は可逆的である。



(I) および (II) の第2波

(I) の第2波は主として N-oxide 基の還元によるものと考えられ、pH 2.44 において  $K_D=9.89$  である。波高は  $\sqrt{h}$  ( $h=60\sim 85cm$ ) に比例するが (I) の2個の N-oxide 基の還元によるものより著しく高く約6電子還元に相当する。波形は温度により著しく変化し正確に波高を求めることは困難であるが、 $17^\circ, 25^\circ, 35^\circ$  ではいずれも約  $5 \mu A$  (0.5 mM) の値を示す。N-oxide が protonation されて還元される場合に溶液の内部より拡散により補給される以外に、電極面での protonation による kinetic current も含まれていると考えられるが、上述のように  $T_0$  が小さいことは電極面の吸着波も関与しているのではないかと思う。実際その電気毛管曲線 (Fig. 5 の右図) は吸着されていることを示している。さらに pH が小さいところでは  $-1.2 \sim -1.5$  v にわたって著しく高い波を与え pH が大きくなるにつれて減少する事実とその波形から接触的水素波の可能性も強い。これら3つの因子が N-oxide 基本来の還元波に重なって高い波を与えていると考えられる。

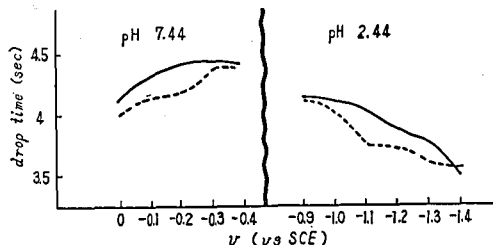
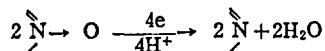


Fig. 5. Electrocapillary curve of (I) ..... solution containing 0.5 mM of (I) — blank solution

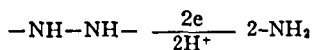
pH 4.63 では波高はやや低くなり  $K_D=9.0$  で、 $\sqrt{h}$  ( $h=60\sim 85cm$ ) に比例するが、 $T_0$  は  $25^\circ$  で 0.72% を示しやはり小さい。波高と濃度 (0.1 mM~1.0 mM) とはほぼ比例するが多少等温吸着式的な関係にある。その電気毛管曲線をとると全般に吸着現象がみとめられる。

pH 6.35 において (I) の第2波はゼラチンの濃度を 0.005% とするとさらに  $E_{1/2} = -1.40$  v および  $-1.66$  v の2波に分れる。前波はその波高が  $\sqrt{h}$  ( $h=60\sim 85cm$ ) に比例し  $K_D=5.9$  で Ilković 式で  $n$  を計算すると  $n=4.3$  となる。後波はその波高が前波よりやや低く波高は  $\sqrt{h}$  ( $h=60\sim 85cm$ ) に比例し  $K_D=5.1$  で  $n=3.7 \approx 4$  となる。N-oxide 基は2電子2プロトン還元により対応するアミンに還元されることが知られているが<sup>9)</sup>、この後波は (I) の2個の N-oxide 基の還元 (protonation されておらないもの)

によると思う。



(II) の第2波は pH 6.35 でわずかに現われ、pH 7.45 で最高の波高を示すが pH 9.06 では再び減少しさらにアルカリ性となると消える。pH 7.54 におけるその波高は  $\sqrt{h}$  ( $h=60\sim 85$  cm) に比例し  $T_c$  は  $25^\circ$  で 1.9% で拡散支配であることを示し、 $K_D=2.33$  で  $n$  を計算すると  $n=1.7\rightarrow 2$  となる。その  $E_{1/2}\sim 1/4 E=72\sim 85$  mv で波は flat であり、 $E_{1/2}$  を中心として対称性が悪い。すなわち電極反応は不可逆でこれはヒドラゾ基よりアミンへの還元によるものと思う。



前述した (I) の第2波中、pH 6.35、セラチン濃度 0.005% における前波にはこのヒドラゾ基からアミンへの不可逆波が重なっていると思われる。そこでこのヒドラゾからアミンへの還元に対応する波高を前波の波高から差し引いて  $n$  を計算すると  $n=3.7\rightarrow 4$  となり、これは N-oxide 基の protonation されたものの還元によると考えられる。

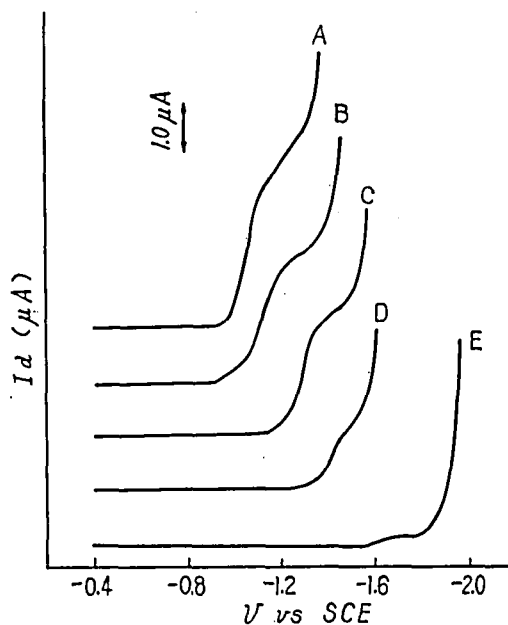
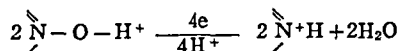


Fig. 6. Polarograms of 5-ethyl-2-methylpyridine N-oxide, 1.0 mM,  $\mu=0.44$   
A: pH 1.11 B: pH 2.44 C: pH 4.68  
D: " 6.35 E: " 9.60

最近窪田ら<sup>7)</sup> はピリジン N-oxide 類のポーログラフイーについて理論的取扱を行なっている。著者は (I) の第2波をさらに検討するために 5-ethyl-2-methylpyridine N-oxide (III) のポーログラフイーもあわせ行なった。一般に N-oxide 類は酸性で還元波を与えるがアルカリ性となるにつれて消失することが知られている<sup>8)</sup>、(III) も同様に酸性および pH 7.44 では還元波を示すが pH 9.06 では全く示さない (Fig. 6, 7)。

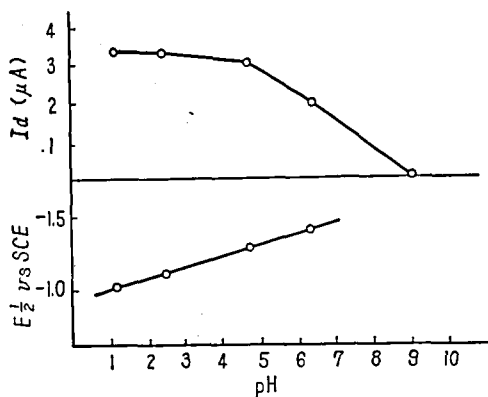


Fig. 7.  $E_{1/2}$ -pH and wave height-pH curves of 5-ethyl-2-methylpyridine N-oxide (III) (1.0 mM)

この事実から pH 7.44 における (I) の第2波は (I) の N-oxide 基の還元波にさらにヒドラゾよりアミンの不可逆波が重なったものであることを示し、pH 9.06 におけるのは (I) の N-oxide 基によるものではなくてヒドラゾよりアミンへの還元波のみによるものであることを示している。

他の微小吸着波 pH 6.30 および 7.44 において (I) および (II) はその第1波の前に 0.04  $\mu\text{A}$  程度 (1 mM 濃度で) の小さい波が現われる。これらの波はその波高が  $h$  (60~85 cm) に比例し、温度に無関係であること、電解液のエタノール濃度が 50% になると消失する事実等吸着波の性質をもつ。これはその電気毛管曲線からも明らかである (Fig. 5 の左図)。

### 考 察

1960 年林ら<sup>9)</sup> は 4,4'-azopyridine 1,1'-dioxide の接触還元において触媒として Raney Ni を用いると N-oxide 基がさきに還元され、Pd 炭を用いるとアゾ基がさきに還元されることを報告している。

前述したようにポーログラフイーではアゾ基がまず還元されることがわかりこれは Pd 炭を触媒とする場合に相当し興味あることである。

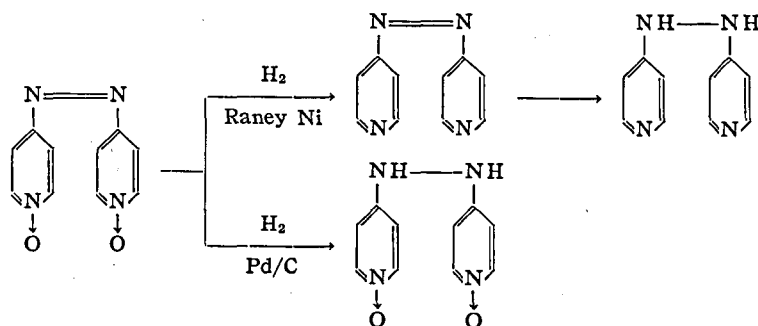


Table 1. Half-wave potentials of azo and N-oxide radicals of (I), (II) and (III)

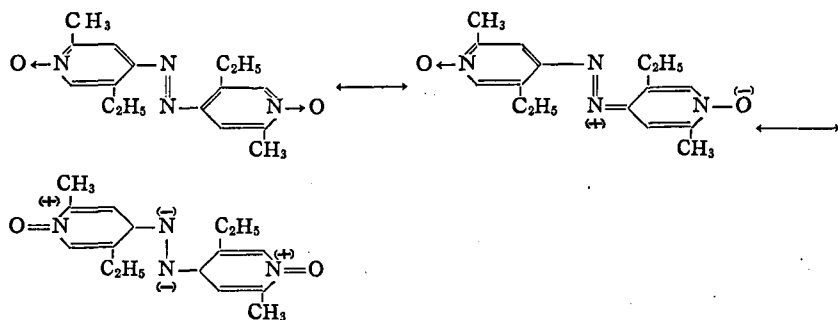
pH	E <sup>1/2</sup> (vs SCE)			
	azo radical		N-oxide radical	
	(I)	(II)	(I)	(III)
1.11			-1.19	-1.03
2.44			-1.20	-1.10
4.68			-1.29	-1.28
6.35	-0.19	-0.06		
7.44	-0.24	-0.14		
9.06	-0.25	-0.23		
10.56	-0.34	-0.32		

つぎに (I), (II), (III) のアゾ基および N-oxide 基の E<sup>1/2</sup> を Table 1 に示す。

Table 1 から明らかのように (I) のアゾ基および N-oxide 基の E<sup>1/2</sup> は (II) および (III) のそれよりいずれも陰電位にずれている。(I) においてはアゾ基と N-oxide との間にも下図に示すような共鳴構造の寄与が考えられそれだけより安定化の一因となっているものと思う。

総括

(I) はゼラチン濃度 0.01% では pH 1~10.56 において 2 段階を与える。第 1 波はその波高が pH によ



りほとんど変化せずアゾ→ヒドラゾの還元による。第 2 波は pH 1.11~6 では主として N-oxide 基の還元によるが pH 6~9 ではヒドラゾ→アミンの不可逆波が重なり pH 10.56 ではヒドラゾ→アミンの還元によるもののみとなる。この第 2 波は pH の小さいところでは kinetic current, 吸着波, 接触の水素波などが重なり N-oxide のみの還元によるよりも高い波を与える。ゼラチン濃度を 0.005% とすると第 2 波は pH 6.35 においてさらに protonation された N-oxide と protonation されておらない N-oxide とによる 2 つの波に分離する。前波にはヒドラゾ→アゾの不可逆波が重なっている。(I) のアゾ基, N-oxide 基はアゾ基と N-oxide 基を含む共鳴による安

定化のために, (I), (II) のアゾ基, N-oxide 基にくらべて, いずれもやや難還元性になっている。

終りに色々御配慮を賜りました小川俊太郎 支所長, 中島辰己部長, 森秀将室長に謹謝し, 種々御助言を戴きました京都大学農学部農芸化学教室千田真博士に厚く御礼申し上げます。また元素分析をお願いした藤沢薬工研究所元素分析室の諸氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 中島, 遠藤: 日化, 81, 816(1960)
- 2) 落合, 堅田: 薬誌, 63, 186(1943)

- 3) 加藤, 浜口: *Pharm. Bull.*, 4, 174(1956)  
 4) J. B. Lee, et al: *J. Chem. Soc.*, 1956, 772  
 5) N. Riehl, et al: *Z. Physik. Chem.*, 194, 97 (1944)  
 6) A. Foffani, et al: *Gazz. Chim. Ital.*, 83, 1051, 1059(1953); I. Aiko: *Pharm. Bull.*, 1, 335(1953); Y. Asahi: *Bull. Chem. Soc.*, 34, 1185(1961)  
 7) T. Kubota, H. Miyazaki: *Bull. Chem. Soc.*, 35, 1449(1962)  
 8) E. Hayashi, H. Yamanaka, S. Matsushita: *Chem. Pharm. Bull.*, 8, 649(1960)

### Summary

**Polarography of 2,2'-Dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine-1,1'-dioxide and 2,2'-Dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine** Minoru MORITA

Polarographic behaviors of 2,2'-dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine 1,1'-dioxide (I) and 2,2'-dimethyl-5,5'-diethyl-4,4'-azopyridine (II) were investigated together with that of 5-ethyl-2-methylpyridine N-oxide (III).

(I) exhibits two reduction waves at the 0.01% gelatin concentration over the pH range 1.11~9.06. The 1st wave is a reversible 2-electron, 2-proton reduction wave due to the electrode reaction of  $-N=N- + 2e + 2H^+ \rightarrow -NH-NH-$  (A). The

2nd wave is rather complicated. In the pH range 1.11~4.68, it is the reduction wave of N-oxide radical containing catalytic hydrogen wave, absorption wave and kinetic current. When the pH is between 6.30 and 7.44, it is a composite wave of the reduction of N-oxide radical and an irreversible reaction of  $-NH-NH- + 2e + 2H^+ \rightarrow 2-NH_2$  (B). At pH 9.06, however, it becomes only due to the reaction of (B). When the gelatin concentration is decreased to 0.005%, this 2nd wave is split further into the wave of  $E^{1/2} = 1.40$  v and that of  $E^{1/2} = 1.66$  v (vs. SCE respectively). The former is considered to be a composite wave of two reactions of  $2 \gg N-O-H^+ + 4e + 4H^+ \rightarrow 2 \gg N^+H + 2H_2O$  and (B). The latter may be attributed to the reaction of  $2 \gg N-O + 4e + 4H^+ \rightarrow 2 \gg N + 2H_2O$ . On the other hand, (II) shows one reduction wave at pH 1.11~3.60 and 10.56 and two waves at pH 4.60~7.44. The 1st wave comes from the reaction of (A) and 2nd one from that of (B).

The half-wave potentials of N-oxide and azo radicals of (I) are shifted to more negative side as compared with those of (II) and (III), probably owing to the increased stability by the contribution of resonance structures involving N-oxide and azo radicals in (I).

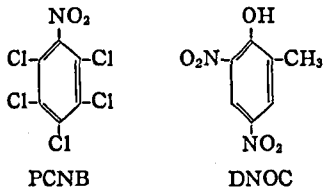
(昭和38年5月31日受付)

## 有機化合物のポーログラフによる 研究 (第21, 22報)\*

佐藤 寿

### (第21報) PCNB および DNOC の 交直ポーログラフィー

土壌せん虫根絶剤 PCNB (Pentachloronitrobenzene) および只殺虫退治に用いる DNOC (4,6-Dinitro-o-cresol) らはそれらの化学構造がしめすとおり



いずれもポーログラフ的に活性のニトロ基をもっているから、当然ポーログラフ波をしめすはずである。従って著者は標記両化合物について交直ポーログラフィーを行なったところ、いくつかの知見をえた

\* 第20報, 佐藤 寿: 衛生試験, 80, 27(1962)

ので、それらの概要を報告する。

#### 1. 装置

Yanagimoto pen-recording AC-DC Polarograph Type PA-101, 水銀滴下電極は  $h = 65.0$  cm, open circuit にて,  $m^2/t^{1/2} = 1.574$ , 電極間距離 1 cm, 電解液の内部抵抗は 500  $\Omega$  以下。

#### 2. 材料

PCNB (mp. 144°) および DNOC (mp. 87.5°)。

#### 3. 操作

1 M 塩化リチウム液 10 ml + 10 mM 試料エタノール液 5 ml  $\rightarrow$  エタノールで全量を 50 ml (試料濃度, 1 mM の場合) とする, 他の電解液は緩衝液 5 ml + 2.5 M 臭化ナトリウム液 5 ml + 10 mM 試料エタノール液 5 ml  $\rightarrow$  エタノールで全量を 50 ml (試料濃度, 1 mM の場合) とする, それぞれ交流ポーログラフィーの場合にはゼラチン液を加えず, 窒素を通さないまま行なったが, 直流ポーログラフィーの場合には



電解液 5 ml に対してゼラチン液 1 滴を加え、窒素を飽和させたのち行なった。

### 結果および考察

#### 1. PCNB および DNOC の交直ポーログラム

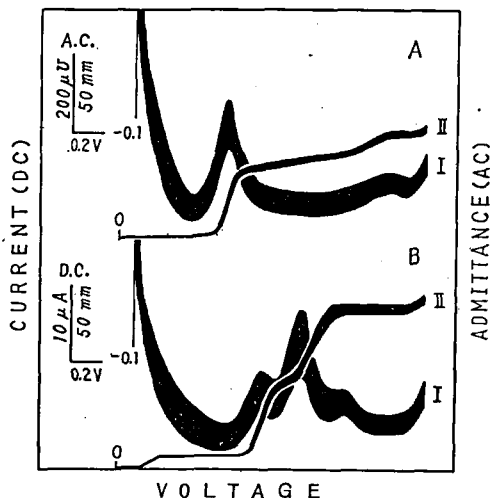


Fig. 1. A.C. & D.C. Polarograms of PCNB and DNOC.

A: PCNB, B: DNOC,

I. A.C. Polaro., S.,  $4 \mu\text{V}/\text{mm}$ ,  $0 \mu\text{F}$ ,  $\Delta E = 15 \text{ mV}$ ,  $50 \text{ c/s}$ ,

II. D.C. Polaro., S.,  $0.2 \mu\text{A}/\text{mm}$ ,  $1000 \mu\text{F}$ , pH 7.3, C.,  $1.0 \text{ mM}$ .

PCNB および DNOC の交直ポーログラムを Fig. 1 に、pH の変化に対する両化合物の直流ポーログラムを Fig. 2 にそれぞれしめす。

両化合物はいずれもニトロ基をもっているため、それらの還元に基づく明瞭な波を生じている。すなわち PCNB は 1 個のニトロ基が約 6 電子還元によりアミンに変化する機構と考えられ、DNOC も 2 個のニトロ基がそれぞれ約 6 電子還元により 2 個のアミンを生ずるためのポーログラム波と認められる。これらの機構はすでに著者の第 1, 9, 12, 14, 15, 17 報<sup>1)</sup>でくわしくのべてあるが、補足的に言えば両化合物の交流ポーログラム (Fig. 1 参照) すなわち PCNB は 1 個のニトロ基による高いピークを生じ、DNOC は 2 個のニトロ基による 2 個のピークをそれぞれ直流ポーログラムの半波電位付近においてしめしていることならびに Table 1 よりそれらの還元機構はニトロ基がアミンに還元されている機構であると推察される。

#### 2. 両化合物の定量

Fig. 1, 2 および Table 1 にしめしたとおり、波高は濃度に比例するから定量できることを認めた。

#### 3. 両化合物の還元機構

前述のとおり、交直ポーログラフにおいて、いずれも 6 電子還元機構であることは明らかであるから、両化合物の還元機構はつぎのように推定される。

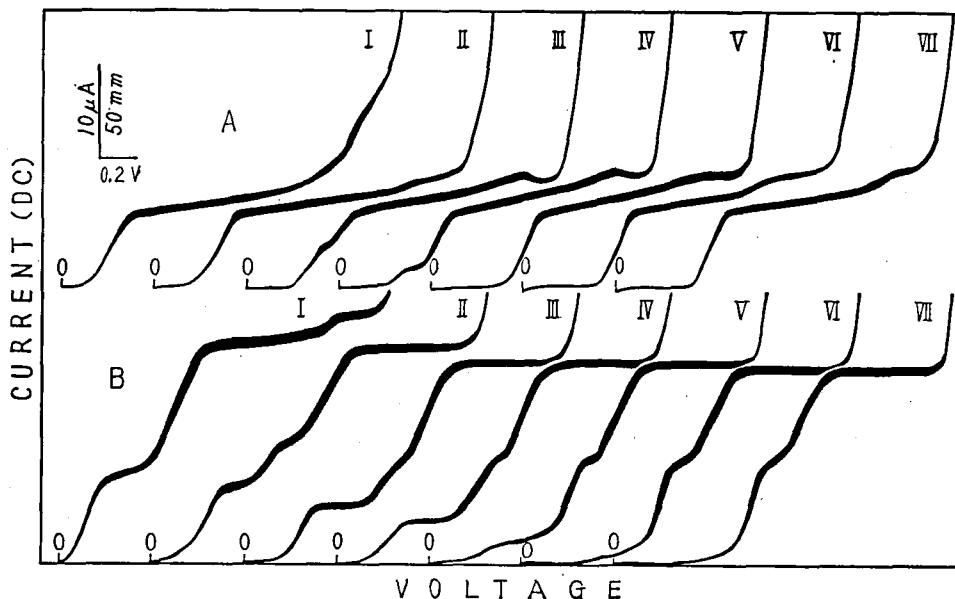


Fig. 2. D.C. Polarograms of PCNB and DNOC.

A: PCNB, B: DNOC, pH: I. 3.9, II. 6.0, III. 6.9, IV. 7.5,

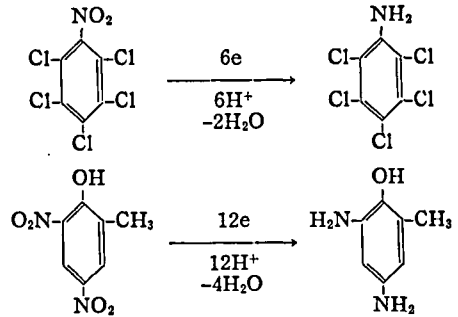
V. 8.8, VI. 10.0, VII. 12.9, C.,  $1 \text{ mM}$ , S.,  $0.2 \mu\text{A}/\text{mm}$ ,  $1000 \mu\text{F}$ .

Table 1. A.C. &amp; D.C. Polarographic behaviors of PCNB and DNOC.

Compound	A.		C.	
	Peak potential (vs. S.C.E) -V	Wave height (Admittance) $\mu\text{V}$		
In 0.2 M LiCl-80% Ethanol. (pH 7.3)				
Pentachloronitrobenzene <sup>a)</sup> (PCNB)	0.71	248		
	1.75	68		
4,6-Dinitro-o-cresol <sup>b)</sup> (DNOC)	0.95	152		
	1.20	308		
Compound	D.		C.	
	$-E^{1/2}$ (vs. S.C.E) V	Electron Id* n		
In 0.2 M LiCl, 0.01% Gelatin-80% Ethanol. (pH 7.3)				
PCNB <sup>a)</sup>	0.72	5.09	4.8	
	1.64	1.53	1.4	
DNOC <sup>b)</sup>	0.23	0.89	0.8	
	0.94	5.60	5.3	
	1.27	6.36	6.0	
In 0.25 M NaBr, 0.04 M Britton-Robinson Buffer, 0.01% Gelatin-80% Ethanol.				
PCNB <sup>a)</sup>	pH 3.0	0.46	5.22	4.9
		1.73	5.22	4.9
	6.0	0.55	5.22	4.9
		1.54	1.53	1.4
	6.9	0.55	2.93	2.8
		0.73	2.29	2.2
		1.52	1.46	1.4
	7.5	0.51	1.40	1.3
		0.73	3.94	3.7
		1.49	1.59	1.5
	8.8	0.71	5.22	4.9
		1.51	1.46	1.4
	10.0	0.71	5.22	4.9
		1.54	1.78	1.7
	12.9	0.71	5.34	5.0
		1.56	1.59	1.5
DNOC <sup>b)</sup>	3.9	0.34	6.11	5.8
		0.81	8.40	7.9
		1.63	1.40	1.3
	6.0	0.46	5.34	5.0
		0.81	2.86	2.7
		1.14	6.17	5.8
	6.9	0.50	3.94	3.7
		0.98	3.94	3.7
		1.21	5.72	5.4
	7.5	0.46	2.93	2.8
		0.95	4.83	4.6
		1.22	5.85	5.5
	8.8	0.47	1.59	1.5
		0.96	6.11	5.8
		1.24	5.91	5.6
	10.0	0.93	6.74	6.4
		1.24	5.85	5.5
	12.9	0.93	6.81	6.4
		1.24	5.85	5.5

<sup>a)</sup> mp. 144° <sup>b)</sup> mp. 87.5°

\*  $\text{id}/\text{Cm}^{2/3}t^{1/6}$   $\text{m}^{2/3}t^{1/6} = 1.574$



### 総括

(1) PCNB および DNOC はいずれも交直ポーラログラフ波をしめし、それらの波高は濃度に比例するので定量可能である。

(2) 両化合物の第1波の半波電位よりみた易還元性の程度は、酸性・中性側では DNOC > PCNB、アルカリ性側では PCNB > DNOC であることが認められた。

(3) 両化合物の水銀滴下電極における反応過程はそれぞれのもつニトロ基がアミンに還元される機構であると推定した。

本研究にさいして種々ご高配をいただいた塚品部長 藤井正道博士に謹謝する。

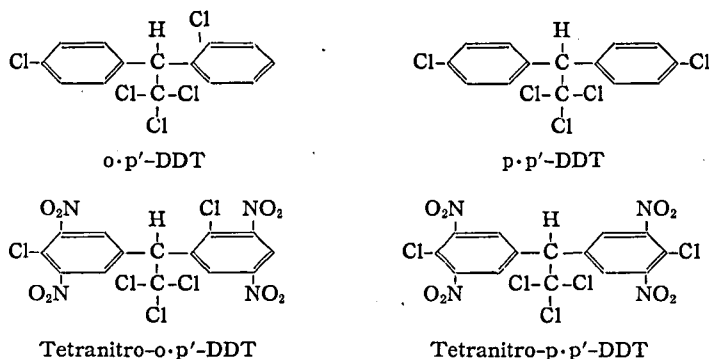
### 文献

- 1) 佐藤 寿: 分析化学, 6, 81(1957); 衛生試験, 75, 52(1957), 76, 35(1958), 77, 39, 44(1959), 78, 21(1960)

### (第22報) DDT およびそれら関連ニトロ化合物の交直ポーラログラフイー

DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane) 原薬は通常殺虫力の強い p-p'-DDT 約 70%, 残りはと主として殺虫力の弱い o-p'-DDT を含んでいる。DDT の直流ポーラログラフイーについては Keller らは 0.01 M 臭化テトラメチルアンモニウム支持電解質を含む 80% エタノール中で o-p'-DDT は -0.94 V (S.C.E), p-p'-DDT は -0.88 V (S.C.E) と報告している<sup>1)</sup>が、しかしこれらの交流ポーラログラフイーならびに Tetranitro-o-p'-DDT, Tetranitro-p-p'-DDT らの交直ポーラログラフイーについてはまだ報告が見当たらない。つぎにそれらの化学構造をしめす。

著者は前記各化合物について交直ポーラログラフイーを行なった結果、いくらか新知見がえられたので、以下それらの概要をのべる。



1. 装置

第 21 報とまったく同じである。

2. 材料

o,p'-DDT (mp. 73.5°), p,p'-DDT (mp. 108°), つぎの両化合物は Schechter らの文献<sup>2)</sup> により合成したもの, Tetranitro-o,p'-DDT (mp. 229°), Tetranitro-p,p'-DDT (mp. 224°).

3. 操作

0.5 M 塩化リチウム液 10 ml + 10 mM 試料エタノール液 5 ml → エタノールで全量を 50 ml (試料濃度, 1 mM の場合) とする, 他の電解液は 0.5 M 塩化リチウム液 10 ml + 0.175 mM 試料エタノール液 10 ml → エタノールで全量を 50 ml (試料濃度, 0.035 mM の場合) とする, それぞれ交流ポーラログラフの場合にはゼラチン液を加えず, 窒素を通さないまま行なったが, 直流ポーラログラフの場合には電解液 5 ml に対してゼラチン液 1 滴を加え, 窒素を飽和させたのち行なった。

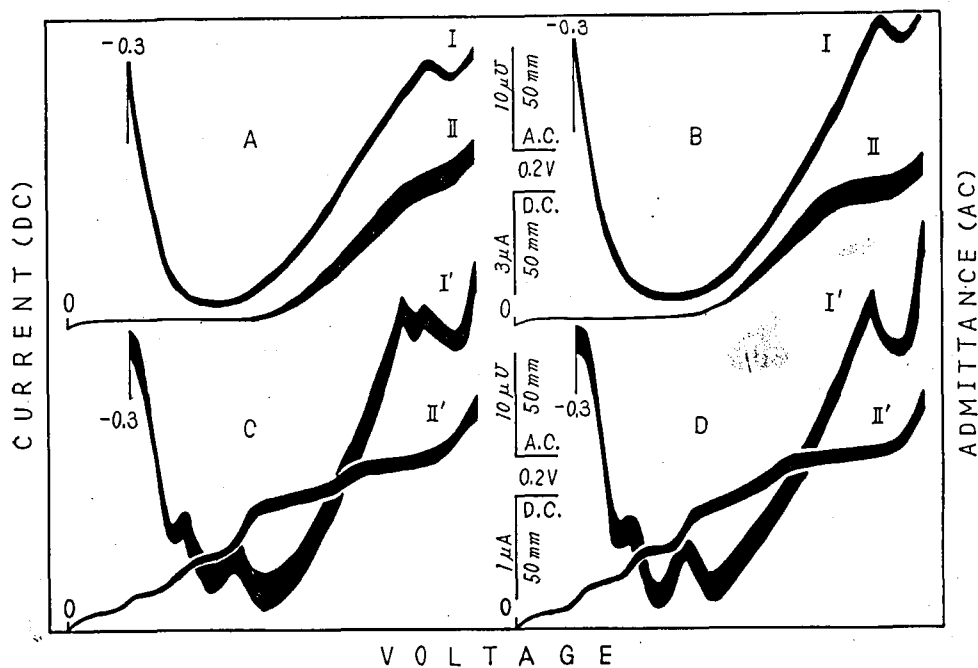


Fig. 1. A.C. & D.C. Polarograms of DDT and their related nitro compounds.

A: o,p'-DDT, B: p,p'-DDT,

I. A.C. Polaro., S., 0.2  $\mu$ V/mm, 0  $\mu$ F,  $\Delta E=15$  mV, 50 c/s,

II. D.C. Polaro., S., 0.06  $\mu$ A/mm, 200  $\mu$ F, pH 7.3, C., 1.0m M.

C: Tetranitro-o,p'-DDT, D: Tetraoltro-p,p'-DDT,

I'. A.C. Polaro., S., 0.2  $\mu$ V/mm, 0  $\mu$ F,  $\Delta E=15$  mV; 50 c/s,

II'. D.C. Polaro., S., 0.02  $\mu$ A/mm, 50  $\mu$ F, pH 7.3, C., 0.035 mM.

## 結果および考察

## 1. 各化合物の交直ポーラログラム

o-p'-DDT, p-p'-DDT, Tetranitro-o-p'-DDT, Tetranitro-p-p'-DDT らの交直ポーラログラムを Fig. 1 にしめす。

o-p'-DDT, p-p'-DDT らはアルカリにより離れやすい有機ハロゲンをもっている。ポーラログラフィーではその有機ハロゲンをはずして代わりに水素を結合させるさいに波を生ずる、この波をハロゲン波といっている。このハロゲン波に基づく明瞭な1段波を両化合物ともしめしている。以上は直流ポーラログラフィ

ーの場合であるが、しかし交流ポーラログラフィーの場合には直流の半波電位付近にピークはみられず、約 -1.8 V の近辺で高いピークを生じている。

Tetranitro-o-p'-DDT, Tetranitro-p-p'-DDT らの直流ポーラログラフィーでは両化合物ともニトロ基に基づく段階的な波をしめし、それらのもっているいわゆるハロゲン波はニトロ基の波に重なって現われているものと考えられる。交流ポーラログラフィーにおいては直流のさい現われていた第1段波は消失し、他のピークは大体直流の半波電位付近に生じている。これらの状態を Table 1 にしめす。

Table 1. A.C. & D.C. Polarographic behaviors of DDT and their related nitro compounds.

Compound	A.	C.	D. C.	
	Peak potential (vs. S.C.E) -V	Wave height/C (Admittance) $\mu\Omega$	$-E_{1/2}$ (vs. S.C.E) V	Electron n
	In 0.1 M LiCl-80% Ethanol.		In 0.1 M LiCl, 0.01% Gelatin -80% Ethanol.	
o-p'-DDT <sup>a)</sup>	1.77	22.50	1.41	2.0
p-p'-DDT <sup>b)</sup>	1.80	27.50	1.30	2.1
Tetranitro-o-p'-DDT <sup>c)</sup>	0.69	182.86	0.26	4.00
	0.83	71.43	0.55	6.36
	1.65	805.71	0.83	8.18
	1.77	771.43	1.29	6.80
Tetranitro-p-p'-DDT <sup>d)</sup>	0.56	182.86	0.29	4.73
	0.85	125.71	0.56	5.81
	1.75	817.14	0.81	6.98
			1.18	9.09

a) mp. 73.5° b) mp. 108° c) mp. 229°

d) mp. 224°

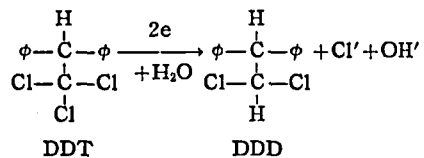
\*  $id/Cm^{2/3} t^{1/6} \quad m^{2/3} t^{1/6} = 1.574$

## 2. 各化合物の定量

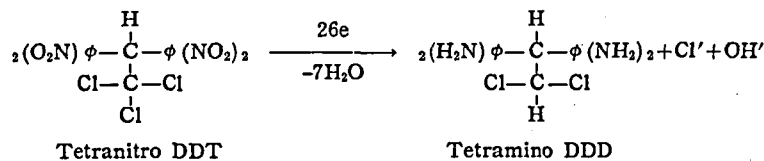
Fig. 1 および Table 1 にしめしたとおり、各波高は濃度に比例するから定量できることを認めた。

## 3. 各化合物の還元機構

Fig. 1 および Table 1 より o-p'-DDT, p-p'-DDT はそれぞれ2電子還元によるハロゲン波であることが認められた。これは Stackelberg ら<sup>3)</sup>、深海ら<sup>4)</sup>の結果と全く一致している。それらの還元機構はつぎのとおりであると考えられている。



Tetranitro-o-p'-DDT, Tetranitro-p-p'-DDT はおのおの4個のニトロ基と1個のハロゲンをもっている。その還元機構は非常に複雑であると考えられる。Fig. 1 および Table 1 より考察すれば、おそらく4個のニトロ基が24電子還元により4個のアミンを生ずると同時にさらに2電子還元によりハロゲンが離れ水素の結合がおこるつぎの反応機構と推定される。



総 括

(1) 各化合物の交直ポーラログラフィーを行なった結果、いずれもハロゲンあるいはニトロ基に基づく明瞭なポーラログラフ波をしめし、それらの波高は濃度に比例するので定量可能である。

(2) *o*·*p*'-DDT および *p*·*p*'-DDT の交直ポーラログラフ的挙動より推察した還元機構は Stakelberg, 深海らのそれに合致していることが認められた。

(3) Tetranitro-*o*·*p*'-DDT および Tetranitro-*p*·*p*'-DDT の還元機構は非常に複雑であるが、それらの交直ポーラログラフィーより、両化合物の水銀滴下電極における反応機構は1個のハロゲンが水素と置換し、4個のニトロ基がすべてアミンに還元される機構であると推定した。

本研究にさいして種々ご高配をいただいた薬品部長藤井正道博士に謹謝する。

文 献

- 1) H. Keller, M. Hochweber, H. v. Halban: *Helv. Chim. Acta*, 29, 761 (1946)
- 2) Schechter, Haller: *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 2129 (1944)
- 3) M. von Stackelberg, W. Stracke: *Z. Electrochem.*, 53, 118 (1949)

4) 深海 浩, 中島 稔: 防虫科学, 18, 6(1953)

Summary

**Polarographic Studies of Some Organic Compounds.** Hisashi SATO

**XXI. A. C. & D.C. Polarography of PCNB and DNOC**

A.C. & D.C. Polarographic behaviors of PCNB (pentachloronitrobenzene) and DNOC (dinitro-*o*-cresol) in 80% ethanol containing 0.2 M lithium chloride or 0.25 M sodium bromide and 0.04 M Britton-Robinson buffer have been investigated.

The wave heights of these compounds were proportional to the concentrations.

The mechanism of reduction at the dropping mercury electrode was deduced by applying the results of A.C. & D.C. polarography.

**XXII. A.C. & D.C. Polarography of DDT and Their Related Nitro Compounds**

A.C. & D.C. Polarographic behaviors of *o*·*p*'-DDT, *p*·*p*'-DDT, Tetranitro-*o*·*p*'-DDT, Tetranitro-*p*·*p*'-DDT in 80% ethanol containing 0.1 M lithium chloride have been investigated.

The wave heights of these compounds were proportional to the concentrations.

The mechanism of reduction at the dropping mercury electrode was deduced by applying the results of A.C. & D.C. polarography.

(昭和38年5月31日受付)

定電位電解法の研究（第6報）

EDTA を用いる銀パラジウム合金の電解分析

辻 楠 雄

銀パラジウム合金の定電位電解分析法については、まだその報告をみていないので、筆者は既報<sup>1-4)</sup>の白金電極を用いる定電位電解分析法の、一連の基礎的研究の一環として、銀とパラジウムのおおのについて、電解定量を試み好結果をえたので、ここに報告する。

実 験 方 法

装置 装置は既報<sup>1)</sup>のものを用いた。

試薬 1) アンモニア水：和光純薬特級。 2) EDTA 試薬：同仁化学製ドータイト 2 Na 塩。 3) ムレキサイド：同仁化学製。

標準液 1) 銀標準液：電気銀 (99.99%) 約 10 g を精密に秤量してのち、硝酸 (1:1) 約 70 ml に溶

解して、加熱濃縮後、水で 1 L に希釈する。 2) パラジウム標準液：純パラジウム約 10 g を精密に秤量してのち、王水約 70 ml に溶解後、濃縮して水で 1 L に希釈する。

実験方法 電解液の調整 水約 100 ml をセルにとり、攪拌しながらアンモニア水 20 ml と EDTA 3g、ムレキサイド 2~3 mg を加えたのち、試料をそれぞれ 10 ml ビベットでとり、水を加えて 200 ml とする。

マグネチックスターラーで充分攪拌しながら、電解装置を所定の電位に限定して、装置を作動させながら、電極を静かに浸漬する。

まづ銀より電解を始める。銀の析出電位は -0.15 V<sup>1)</sup> なので、これよりも -0.05 V (-) 側の -0.20

V に陰極電位を限定して、銀を分離定量する。電着した銀は美しい光沢を有し、電極を覆っている。銀の電着した電極を洗浄乾燥後秤量する。次にこの電極をそのまま電解液に移して、パラジウムの電解を行なう。陰極電位は、パラジウムの析出電位が  $-0.61\text{ V}$  なので、これよりも約  $0.1\text{ V}$  (-) 側の  $-0.70\text{ V}$  に限定して電解を行なえば、パラジウムを電着することができる。銀と同様の方法で秤量する。銀とパラジウム共存時のそれぞれの電流-電位曲線、電圧-電位曲線を Fig. 1 に示す。

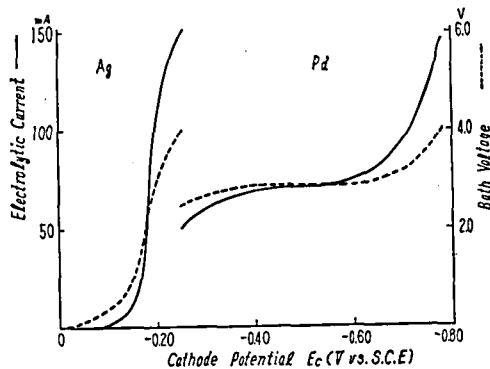


Fig. 1. Electrolysis of silver and palladium

を Fig. 1 に示す。

### 実験結果

1) 温度の影響 電解液中のアンモニアの濃度についてはそれぞれ前に報告<sup>2)</sup>しているので、重要な条件である温度について検討してみた。測定温度は  $8\sim 45^\circ$  の範囲についてその影響をしらべ、その結果を Table 1 に示す。

2) 銀とパラジウムの混合比の変化 両者の比を種々変化させて、おのおのの分離定量を行ない、その結果を Table 2 に示す。

### 考察

筆者の一連の報告で、アンモニア-EDTA を用いて電解液における銀とパラジウムの析出電位は、 $-0.15\text{ V}$  と  $-0.61\text{ V}$  であり、両者が共存していても、そのままの条件で充分電解定量は可能と考えられたが、実験の結果は、銀は粉状に電着し、洗浄の際脱落して、分析上好ましくない状態となり、またパラジウムも充分な定量値を示さなかった。そのために  $2\sim 3\text{ mg}$  のムレキサイドを添加したところ好結果が

Table 1. Electrolytic determination of silver and palladium at the various temperature

Silver taken (mg)	Palladium taken (mg)	Temperature ( $^\circ$ )	Silver		Palladium	
			Found (mg)	Error (mg)	Found (mg)	Error (mg)
98.8	99.6	8.0	96.5	-2.3	97.3	-2.3
"	"	13.0	96.7	-2.1	100.2	+0.6
"	"	18.0	96.6	-2.2	99.8	+0.2
"	"	23.0	98.4	-0.4	99.4	-0.2
"	"	25.5	98.6	-0.2	99.8	+0.2
"	"	30.5	98.3	-0.5	99.4	-0.2
"	"	35.5	95.1	-3.7	101.4	+1.8
"	"	41.0	96.4	-2.4	102.4	+2.8
"	"	45.0	96.0	-2.8	101.9	+2.3

Table 2. Electrolytic determination of silver and palladium in the palladium alloy

Silver taken (mg)	Palladium taken (mg)	Bath voltage		Temperature ( $^\circ$ )	Silver		Palladium	
		Silver (V)	Palladium (V)		Found (mg)	Error (mg)	Found (mg)	Error (mg)
98.8	99.6	2.0~1.2	3.2~2.1	25.5	98.6	-0.2	99.8	+0.2
"	4.9	1.8~1.2	2.6~2.0	"	98.7	-0.1	4.8	+0.1
"	10.0	1.8~1.2	2.5~2.0	"	98.9	+0.1	9.8	-0.2
19.8	99.6	1.6~1.3	3.0~2.0	"	19.8	0	100.0	+0.4
9.9	"	1.5~1.3	3.1~2.1	"	9.8	-0.1	100.0	+0.4
4.9	"	1.4~1.2	3.1~2.0	"	5.0	+0.1	101.1	+0.5

えられた。なおこの際には、それぞれの析出電位には変化がなかった。

温度の影響については、一般に定電位電解分析では、温度と攪拌の回転数に比例する。銀については前の報告<sup>2)</sup>で、9~30°の範囲について、またパラジウムについては室温で満足すべき結果<sup>3)</sup>が得られたが、この実験では、23~30°までの範囲についてのみ、定量できた。それ以外の温度では、電着状態が悪く、粉状になったり、陽極が若干偏心しているときなどは、陰極の内面の一部分が黒くなり、また洗浄の際脱落して、分析上好ましくない結果となった。

### 結 論

銀パラジウムについて、それぞれの電解分析を行なったが、アンモニア-EDTA電解液にムレキサイドを加え、銀については陰極電位を-0.20V、パラジウムについては-0.70Vに限定して電解を行なったところ、定量値は満足すべき結果がえられた。測定温度は25.0~30.0°がもっともよく、また両者の比率を変化させても、好結果がえられた。なお所要時間は銀については約40分、パラジウムについては約1時20分であった。

終わりに本研究に御指導をいただいた薬品部長藤井正道博士に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 藤井正道, 辻 楠雄: 歯材器学会誌, 5, 78 (1961)
- 2) 辻 楠雄: 衛生試験, 70, 7, 11 (1961)
- 3) 辻 楠雄: 歯材器学会誌, 6, 48 (1961)
- 4) 辻 楠雄: 衛生試験, 80, 29 (1962)

### Summary

#### Studies on Controlled Potential Electrolysis. VI. Electrolysis of Silver and Palladium in Disodium Ethylenediaminetetraacetate Solution Kusuo TSUJI

The electrolytic determination of silver and palladium in silver palladium alloy have been studied under the various conditions.

Both metals could be respectively determined in the metal ion mixture containing 2.8% ammonium, 1.5% EDTA and 0.001% murexide at the temperature from 25° to 30°. Silver was first deposited within 40 min. by limiting the cathode potential to -0.20 V vs. S.C.E., and its amount was weighed after washing and drying the cathode.

Then the electrolysis was further continued for 1 hr. and 20 min. with limiting the cathode potential to -0.70 V vs. S.C.E. and the palladium deposited was weighed.

This method can be used for a rapid and quantitative separation of silver and palladium from silver palladium alloy.

(昭和38年5月31日受付)

## p-ジオキサンと酢酸との会合

### (ラマンスペクトルによる研究 第3報\*)

鹿 島 哲

氷酢酸を溶媒とした非水溶液滴定を行なったとき、過塩素酸標準液の溶媒として氷酢酸を使うときは問題がなかったが、p-ジオキサンを溶媒として使ったときは、塩基性試料を含む液に非常に強い酸である過塩素酸を加えているにもかかわらず、滴定の前半では視覚的にも、電位差の変化からいっても、試料液はむしろ塩基性に傾くことが認められたり、その原因の一つとして、標準液の溶媒であるp-ジオキサンの試料溶液の溶媒である酢酸との会合が考えられたので、それらのラマンスペクトルを測定することにした。

#### 実験材料および測定装置

p-ジオキサン 特級試薬を蒸留し、水素形の乾燥

\* 第2報: 衛生試験, 79, 59 (1961)

した Amberlite IRC-50 を加え 24 時間振とうし、その上澄み液に水酸化ナトリウムを加え 24 時間放置してから水層を除き、金属ナトリウムを加え油溶上で空気を断って蒸留した 101° の留分。

氷酢酸 特級試薬に三酸化クロムを加えて蒸留し、その留出液に脱水に充分な無水酢酸を加え空気を断って蒸留した 118° の留分。

過塩素酸 特級試薬, 70%。

0.1 N 過塩素酸標準液 (p-ジオキサン溶媒) 4.3 ml の過塩素酸を 500 ml の p-ジオキサンに水で冷しながら加えた溶液を、約 0.2 g のフタル酸水素カリウムで標定。

フタル酸水素カリウム National Bureau of Standards の酸標定用標準品を 110° で 2 時間以上乾燥。

クリスタルバイオレット指示薬溶液 E. Merck の紫黒色結晶の 0.5% 氷酢酸溶液に、氷酢酸を溶媒とした過塩素酸を加えて青色とした溶液。

ラマンスペクトル自記記録装置 Raman Spectrometer, Perkin-Elmer Model R, 試料管は 20 ml 用のものを使用。

電位差滴定装置 ベックマン pH メーター G 型にカール・フィッシャー滴定装置を組合わせたもの。

### 実験方法

ラマンスペクトルの測定は既報<sup>2)3)</sup>の通りで、*p*-ジオキサン、氷酢酸および *p*-ジオキサンと氷酢酸のモル比が 2:1, 1:1, 1:2 および 1:4 となる混合物をつくり試料とした。

滴定には、カール・フィッシャー滴定装置に三首フラスコをつけ、ガラス電極とカロメル電極を挿入し、その電位差を pH メーターで測定した。試料は氷酢酸 25 ml に溶かし、指示薬溶液 1 滴を加えた。

### 実験結果

*p*-ジオキサン<sup>4)</sup>と酢酸<sup>5)</sup>のラマンスペクトルは文献と大差のないものがえられた (Table 1)。ここで用いた酢酸は純粋な液体であるから、分子の形で存在する。*p*-ジオキサンと酢酸との各混合物のラマンスペクトルの強度を、分子比で 1:1 の混合物の強度を基準として他の混合物の強度を補正した上で比較すると (Table 1)、*p*-ジオキサンの 486, 840 および 1220  $\text{cm}^{-1}$  のラマン線、酢酸の 623, 897, 1670, 1730 および 1756  $\text{cm}^{-1}$  のラマン線の強度は 1:1 の混合物のときに一番弱まり、*p*-ジオキサンと酢酸のラマン線が大体重なっている 430, 1016, 1308, および 1440  $\text{cm}^{-1}$  付近のラマン線でも同じような強度の変化がみられた。

ラマンスペクトルを Fig. 1 に、電位差滴定曲線を Fig. 2 に示す。

### 考察

*p*-ジオキサン、酢酸およびそれらの混合物のラマンスペクトルの強度の変化から、*p*-ジオキサンと酢酸は 1 分子対 1 分子で会合しているものが多いと考えられる。酢酸とピリジンとの結合<sup>6)7)</sup>や酢酸自体の会合について多くの報告<sup>8)9)</sup>があり、酢酸<sup>5)</sup>および

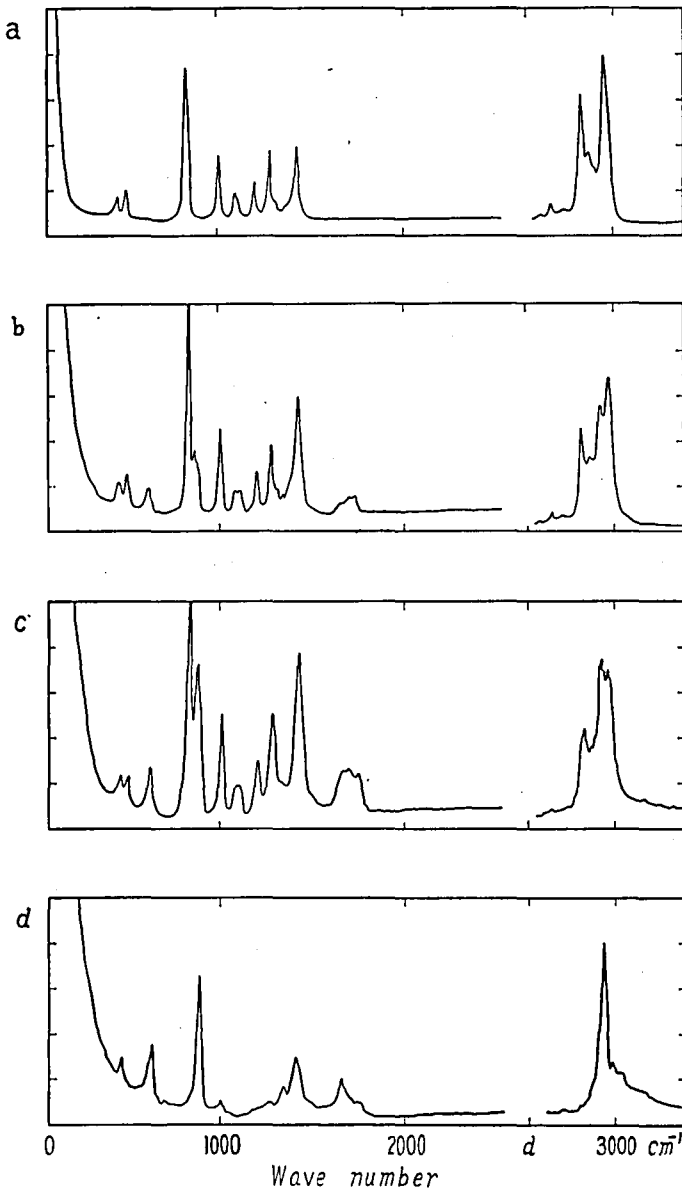


Fig. 1. Raman spectra of liquid of *p*-dioxane, acetic acid and their mixtures (about 50°)

- a: *p*-dioxane
- b: mixture of *p*-dioxane and acetic acid (1:1, molecular ratio)
- c: ibid. (1:2)
- d: anhydrous acetic acid

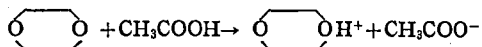


p-ジオキサン<sup>4)</sup>の各ラマン線の帰属についても検討されているが、酢酸 2 量体を示す 623, 897 および 1670 cm<sup>-1</sup> のラマン線の減少が、1:1 混合物のとき最も著しいことのみを指摘するに止める。

電位差滴定曲線から、過塩素酸の p-ジオキサン溶液を加えたとき、その電位の変化からいつて滴定の初期に塩基性にずれたことになるが、液間電位の変動の大きさが測定できないから確かな証明にはならない。しかし、指示薬の色も滴定の初めに塩基性色へずれてから元の色に戻りさらに酸性色へ変わって行くことと併せて考えれば、滴定初期に試料液が塩基性にずれることは確実であろう。(Fig. 2)

以上のことから、塩基性試料を含む氷酢酸溶液を、過塩素酸の p-ジオキサン溶液で滴定するとき滴定の前半で試料液が逆に塩基性に傾くのは、過塩素酸に比

して大量存在する p-ジオキサン塩基性によって CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> イオンが生ずるものと考えられよう。



### 結 論

p-ジオキサン、酢酸およびそれらの混合物のラマンスペクトルを測定した結果、p-ジオキサンと酢酸とは 1 分子ずつで会合しているものが多いことがわかった。

したがって、塩基性試料の氷酢酸溶液を過塩素酸の p-ジオキサン溶液で滴定するとき、滴定の初期に試料溶液が塩基性に傾くのは、p-ジオキサンの塩基性によるものと考えられよう。

ご援助下さった刈米所長、長沢、川城両部長に謝意を表します。

Table 1. Raman spectra of liquid of p-dioxane, acetic acid and their mixtures

p-Dioxane		2D+A*		D + A		D+2A		D+4A		Acetic acid	
wave number	relative intensity	wave number	relative intensity	wave number	relative intensity	wave number	relative intensity	wave number	relative intensity	wave number	relative intensity
430	60	434	40 (36)	438	25	442	38 (42)	440	28	448	46
486	90	486	60 (45)	488	36	492	42 (63)	486	23	—	—
—	—	607	18 (27)	615	25	613	63 (47)	620	70	623	120
840	540	841	350(260)	843	220	843	260(390)	845	165	—	—
—	—	872	80(120)	880	70	898	140(105)	900	200	897	300
1016	235	1014	155(140)	1012	100	1012	110(120)	1010	72	1014	26
1111	90	1098	53	1094	39	1105	33	1095	13	—	—
1124	75	1117	40	1114	39	—	—	1120	15	—	—
1220	100	1213	86 (65)	1213	51	1212	60 (90)	1210	38	—	—
1308	235	1304	155(140)	1304	97	1304	116(128)	1304	74	1290	28
1330	60	—	43	1335	28	1335	47	1304	37	—	—
—	—	—	—	1360	22	—	—	1365	40	1370	62
1393	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1446	245	1436	200(180)	1436	147	1438	178(196)	1440	126	1434	130
—	—	1675	16 (24)	1670	11	1669	44 (33)	1670	48	1670	105
—	—	1717	30 (45)	1730	19	1708	46 (35)	1695	37	1730	48
—	—	1742	30 (45)	1750	20	1744	41 (31)	1750	28	1756	28
2720	40	2730	10	2725	14	2720	5	2730	9	—	—
2859	285	2853	130	2855	112	2859	95	2857	66	—	—
2889	155	2888	80	2878	76	2895	75	2895	58	—	—
—	—	2944	110	2943	134	2942	170	2944	193	2946	370
2966	380	2970	180	2972	167	2969	158	2967	115	2995	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3018	80

\* 2D+A : mixture of p-dioxane and acetic acid (2 : 1, molecular ratio)

( ) : corrected value for comparison

wave number : cm<sup>-1</sup>

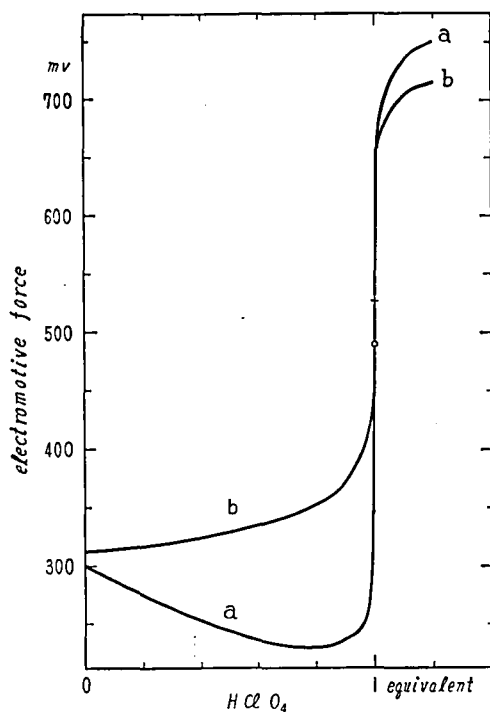


Fig. 2. Potentiometric titration curves of potassium hydrogen phthalate in anhydrous acetic acid.

- a: titrated with perchloric acid in *p*-dioxane  
 b: titrated with perchloric acid in anhydrous acetic acid

### 文 献

- 1) Tetsu Kashima: *Chem. Pharm. Bull.*, 6, 229

(1958)

- 2) 鹿島 哲: 化学の領域, 12, 954(1958)  
 3) 鹿島 哲, 川村次良: 衛生試験, 78, 5(1960)  
 4) E.F. Malherbe, H.J. Bernstein: *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 4408(1952)  
 5) Landolt-Börnstein, 6 Aufl., I Band, 2. Teil, Molekeln I, p. 239(1951), Springer, Berlin  
 6) B.R. Lakshmanan: *J. Indian Inst. Sci.*, 36A, 97(1954); *C.A.*, 48, 9196 f  
 7) R. Mierzecki: *Bull. acad. polon. sci., Classe III* 3, 259(1955); *C.A.*, 49, 15485 b  
 8) Ph. Traynard: *Bull. soc. chim. France.*, 1947, 316  
 9) S. Féneant: *Compt. rend.*, 235, 240(1952)

### Summary

#### The Molecular Association of *p*-Dioxane and Acetic Acid Studies with Raman Spectroscopy. III. Tetsu KASHIMA

Raman spectra of pure liquid of *p*-dioxane, acetic acid and their mixtures (molecular ratio 2:1, 1:1, 1:2 and 1:4), have been recorded with the automatic recording apparatus made by the Perkin-Elmer Corp. Among the intensities of Raman spectra of the mixtures of solvent, that of equimolar solution is relatively the weakest, so the association ratio of *p*-dioxane and acetic acid would be one molecule to one in pure liquid state.

Then the basicity of *p*-dioxane would be observed at the beginning of titration of basic sample in anhydrous acetic acid, if it is titrated with perchloric acid in *p*-dioxane.

(昭和38年5月31日受付)

### 氷酢酸・トルエン混合溶媒を用いるカイニン酸の非水溶液滴定

(非水溶液滴定の研究 第17報\*)

鹿 島 哲

氷酢酸を溶媒として、カイニン酸を過塩素酸の氷酢酸溶液で滴定するとき、溶液中の水分を除くために加えた無水酢酸が残留しているときは、その無水酢酸のため試料がアセチル化されるためか精確な定量ができないことが知られたため、その再検討をすることにした。また、カイニン酸の塩基性が弱いため氷酢酸を

溶媒としては滴定感度が低いので、氷酢酸に非プロトン溶媒であるトルエンを加えたとき、どの程度測定感度を向上させることができるかを試験してみることにした。

#### 実験材料および測定装置

氷酢酸: J.P. VII (1961), p. 779 の非水滴定用氷酢酸。

\* 第16報: 衛生試験, 78, 15(1960)

無水酢酸：特級試薬を分留した 139~140° の留分。  
 トルエン：特級試薬を分留した 110~111° の留分。  
 0.1 N 過塩素酸：J.P.VII, p. 809 による。ただし加える無水酢酸は 20 ml とする。

塩化メチルロザニリン (クリスタルバイオレット)：紫黒色結晶，E. Merck 製。

塩化メチルロザニリン試液：J.P. VII, p. 774 に 0.1 N 過塩素酸を加えて青色溶液としたもの。

カイニン酸 (L- $\alpha$ -2-carboxy-3-carbomethyl-4-isopropenyl-pyrrolidine)：局方適品。

銀・塩化銀電極<sup>2)</sup>：塩化カリウムを飽和以上に加えた氷酢酸中に銀・塩化銀電極を挿入したもので、その容器として試験管を使い先端にガラスファイバーをつけ、それを塩橋としたもの。

電位差滴定装置：ベックマン pH メーター，G 型にガラス電極と銀・塩化銀電極をつけ、カール・フィ

ッシャー滴定装置を利用したもの。

実験方法および結果

23~25° の恒温室中で電位差滴定装置を使って測定した。試料は約 0.25 g を溶媒 25 ml に溶かした。試料を混合溶媒に溶かすときは、まず氷酢酸に溶かしてから他の溶媒を加えた。

試料の溶媒として氷酢酸と無水酢酸との混合溶媒を使うと、定量値が低く出たが、無水酢酸の量が減少するにつれて定量値が上昇し、その量が 2 滴になったときは正確に定量できた。(Table 1)

氷酢酸とトルエンとの混合溶媒を試料の溶媒とすると、氷酢酸のみを溶媒とした場合より測定感度が向上した (Table 1, Fig. 1)。指示薬の変色も鋭敏になり、緑色となる点を終点とすればよかった。

Table 1. Determination of  $\alpha$ -kainic acid in some sorts of solvent

Solvent	Taken g	Found %	Sensitivity %
Acetic acid	0.2313	99.2	0.1
	0.2317	99.4	
	0.2405	99.2	
	0.2521	99.4	
	0.2564	99.1	
Acetic acid + Toluene (2:3, v/v)	0.2219	99.5	0.07
	0.2250	99.6	
	0.2350	99.5	
Acetic acid + A.A.* (4:1)	0.2343	20	
+ A.A. (49:1)	0.2363	70	
+ A.A. (499:1)	0.2278	98.4	
+ A.A. (2drops)	0.2359	99.5	

\* A.A. : Acetic anhydride

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{Volume of HClO}_4, \text{ causing the change of e.m.f. of 5mv}}{\text{Total volume of HClO}_4} \quad (\text{at the end point})$$

考 察

溶媒中に無水酢酸が残留していると定量値が低く出ることが再確認されたわけであるが、その原因はカイニン酸の NH 基がアセチル化されて、その塩基性が減少するためと考えられよう。なお、同様な現象が認められた<sup>1)</sup> 塩酸イソプロテレノールおよび酒石酸水素エピレナミンも氷酢酸中で塩基性を示すのは、NH 基および CH<sub>3</sub>NH 基であることから類推できよう。

したがって、これらの試料を滴定するときには、無

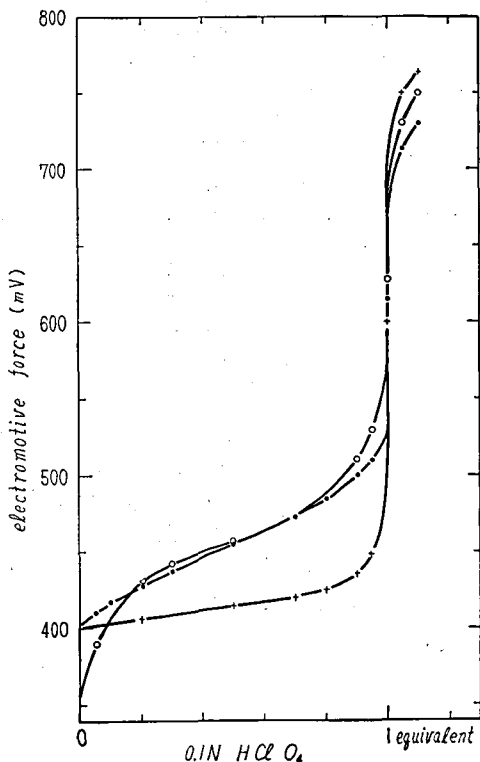


Fig. 1. Potentiometric titration curves of  $\alpha$ -kainic acid by glass-silver-silver chloride electrodes in anhydrous acetic acid

- $\alpha$ -kainic acid in mixture of anhydrous acetic acid and toluene
- $\alpha$ -kainic acid in anhydrous acetic acid
- △— potassium hydrogen phthalate

氷酢酸が残留しないような注意が必要である。つまり、氷酢酸の脱水をするとき加える無氷酢酸はできるだけ理論値に近くし、よい分留管を使用して、定沸点となって留出して来る部分を使う必要があり、0.1N 過塩素酸に含まれる水分を除くときも理論値に近い無氷酢酸を加える必要がある。厳密なことをいえば、カール・フィッシャー法によって溶媒中の水分を測定して理論値を出して、その量の無氷酢酸を加えればよいわけである。

試料がアセチル化されるなどの障害が生じないときは、むしろ無氷酢酸と酢酸との混合溶媒の方が弱塩基性試料の測定感度の向上に役立つことが知られている<sup>9)</sup>。しかし、その方法が適用できないときは、氷酢酸をできるだけ完全に脱水するか<sup>9)</sup>、氷酢酸に非プロトン溶媒を加えたものを使用することが行なわれているが、それらの溶媒には無氷酢酸にみられる脱水作用がないことが欠点である。今回、氷酢酸とトルエンとの混合溶媒を使用して見たが好結果がえられ、トルエンの量は40%まで下げてもその効果はほとんど減少しなかった。

非水溶液滴定を普通の電位差法で行なうとき、いつも問題になるのは液間電位の変動であるが<sup>7)</sup>、氷酢酸を溶媒とした飽和塩化カリウム溶液を用いた銀・塩化銀電極を使って見たところ、溶媒が氷酢酸のときはもちろん氷酢酸・トルエン混合溶媒を使ったときでも安定な測定ができたから、氷酢酸を主溶媒とする滴定には、氷酢酸を溶媒とする基準電極(参照電極)が好ましいといえよう。

### 総 括

氷酢酸を溶媒としたカイニン酸の滴定では、溶媒中

に無氷酢酸が存在すると定量値が低くでるし、氷酢酸の脱水が完全でないと測定感度が低下するので、氷酢酸とトルエンとの混合溶媒を使ったところ良い結果がえられた。ガラス電極に飽和塩化カリウムの氷酢酸溶液を使った銀・塩化銀電極を組合わせて電位差滴定を行ない安定な測定を行なうことができた。

カイニン酸を恵与して下さった藤沢薬品工業株式会社に謝意を表します。また、ご援助下さった刈米所長、長沢、川城両部長に感謝致します。

### 文 献

- 1) 大阪医薬品協会より薬事審議会、公定書部会へ提出された要望事項 (1961. 12. 15)
- 2) G.J. Janz, H. Taniguchi: *Chem. Revs.*, 53, 397 (1953)
- 3) 鹿島 哲: 分析化学, 11, 835 (1962)
- 4) U. S. P. XVI, p. 1080 (1960)
- 5) A.F. Gremillion: *Anal. Chem.*, 27, 133 (1955)
- 6) 鹿島 哲: 薬誌, 74, 1078 (1954)
- 7) T. Kashima: *Chem. Pharm. Bull.*, 6, 229 (1958)

### Summary

#### Nonaqueous Titration of $\alpha$ -Kainic Acid in Mixture of Anhydrous Acetic Acid and Toluene. Tetsu KASHIMA

$\alpha$ -Kainic acid cannot accurately be determined by nonaqueous titration method, if the solvent, acetic acid, contains acetic anhydride or water. Using anhydrous acetic acid and toluene (2:3, v/v) as solvent, and silver-silver chloride electrode in saturated potassium chloride acetic acid solution, the sample can be determined more accurately and stably than the ordinary method.

(昭和38年5月31日受付)

### 3-acetyl-4-hydroxycoumarin および dehydroacetic acid の pKa について

足 立 透・江 島 昭

3-acetyl-4-hydroxycoumarin (AHC) および dehydroacetic acid (DHA) が抗菌抗カビ作用を有する弱酸性の物質であることはすでに周知の通りであるが、これらは培地の pH が酸性側に傾くに従って抗微生物作用が強まること<sup>1),2),3),4)</sup>から浮田ら<sup>5)</sup>はその非解離型が抗微生物作用を現わしていると考えている。培地中の非解離型の濃度はそれらの見掛けの解離定数  $K'a$  を知れば計算できる。著者らは浮田らの用

いた培地のイオン強度に等しい約 0.15 (塩化カリウム溶液) において 25° における  $pK'a$  を滴定法によって求めた。その結果、AHC 4.26, DHA 5.12 の値を得た。また Debye-Hückel の式からこれらの物質のアニオンの活量係数の対数を概算し、この値を  $pK'a$  の値に加えることによって  $pK_a$  の近似値、AHC 4.40, DHA 5.26 を得た。

DHA の  $pK_a$  については Ostwald<sup>6)</sup> が conduc-

tometric technique により 5.27, J. Walker<sup>6)</sup> は 4.00, 増尾ら<sup>2)</sup> は滴定法により約 5.1 (pK'a), また Berson<sup>7)</sup> も滴定法により 5.30 (pK'a) を与えているがこれらはイオン強度については考慮が払われておらず, 温度も不明である.

AHC の pKa 値は現在までに報告されていない.

実験方法および結果

実験中の気温は 20~23° であった.

試薬 0.1533 M 水酸化ナトリウム 溶液: 野崎, 鹿島の方法<sup>8)</sup> に従って調製した. 標定には N. B. S. のフタル酸水素カリウム標準品を使用した.

0.1502 M 塩酸溶液: 野崎, 鹿島の方法<sup>8)</sup> に従って調製した. 20% 塩酸蒸留時の気圧は 754.2 mmHg で沸点 108.1° であった.

0.1354 M 水酸化カリウム溶液: 野崎, 鹿島の方

法<sup>9)</sup> に従って調製し, さらに陽イオン交換樹脂 (K<sup>+</sup>型) を通して Ba<sup>++</sup> を除いた. 0.1502 M 塩酸溶液を用いて標定した.

0.150 M 塩化カリウム溶液: 使用した塩化カリウム結晶中の臭化物の含量はフルオレッセインナトリウムを用いる Pinching<sup>9)</sup> の定量法により 16 ppm であった.

緩衝液: 野崎, 鹿島の方法<sup>8)</sup> により 0.05 M フタル酸塩緩衝液 pH 4.01 (25°), 0.025 M リン酸塩緩衝液 pH 6.86 (25°) および 0.01 M ホウ砂緩衝液 pH 9.18 (25°) を作製した.

3-acetyl-4-hydroxycoumarin: 浮田らの方法<sup>10)</sup> に従って合成した. mp. 134°

dehydroacetic acid: 台糖ファイザー製 DHA-Na の水溶液を塩酸性として析出する結晶をアルコール水より再結晶した. mp. 110°

Table 1. The activity coefficient of H<sup>+</sup> (-log γ<sub>H<sup>+</sup></sub>) in the solution of 0.150 M KCl added with 0.1502 M HCl

No.	0.150M KCl added ml.	0.1502M HCl added ml.	Total volume of solution ml.	HCl M, C <sub>H<sup>+</sup></sub>	log C <sub>H<sup>+</sup></sub>	-log C <sub>H<sup>+</sup></sub>	pH measured	-log γ <sub>H<sup>+</sup></sub>
1	10.008	0.100	10.108	1.486 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.1727	2.8273	2.90	0.0727
2	10.008	0.150	10.158	2.218 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.3459	2.6541	2.73	0.0759
3	10.008	0.200	10.208	2.943 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.4687	2.5313	2.60	0.0687
4	10.008	0.300	10.308	4.371 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.6406	2.3594	2.44	0.0806
5	10.008	0.500	10.508	7.147 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.8541	2.1459	2.23	0.0841
6	10.008	0.700	10.708	9.819 × 10 <sup>-3</sup>	̄3.9921	2.0079	2.09	0.0821
7	10.008	1.000	11.008	13.644 × 10 <sup>-3</sup>	̄2.1348	1.8652	1.95	0.0848
8	10.008	1.500	11.508	19.577 × 10 <sup>-3</sup>	̄2.2918	1.7082	1.79	0.0818

Table 2. The pKa of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin, 1.035 × 10<sup>-3</sup> M solution at 25° and ion strength 0.15

No.	0.1502M HCl added ml.	pH measured	HCl mole	Total volume of solution ml.	C <sub>HCl</sub> , M	-log C <sub>H<sup>+</sup></sub>	C <sub>H<sup>+</sup></sub> , M
1	0.005	5.42	0.751 × 10 <sup>-6</sup>	10.013	75.00 × 10 <sup>-6</sup>	5.327	4.71 × 10 <sup>-6</sup>
2	0.010	5.10	1.502 × 10 <sup>-6</sup>	10.018	149.93 × 10 <sup>-6</sup>	5.017	9.62 × 10 <sup>-6</sup>
3	0.015	4.89	2.253 × 10 <sup>-6</sup>	10.023	224.78 × 10 <sup>-6</sup>	4.807	15.50 × 10 <sup>-6</sup>
4	0.020	4.72	3.004 × 10 <sup>-6</sup>	10.028	299.56 × 10 <sup>-6</sup>	4.637	23.07 × 10 <sup>-6</sup>
5	0.025	4.59	3.755 × 10 <sup>-6</sup>	10.033	374.26 × 10 <sup>-6</sup>	4.507	31.11 × 10 <sup>-6</sup>

No.	C <sub>total</sub> , M	C <sub>A<sup>-</sup></sub> , M	C <sub>HA</sub> , M	C <sub>HA</sub> /C <sub>A<sup>-</sup></sub>	log C <sub>HA</sub> /C <sub>A<sup>-</sup></sub>	pK'a	pKa
1	1034.4 × 10 <sup>-6</sup>	964.1 × 10 <sup>-6</sup>	70.3 × 10 <sup>-6</sup>	0.0729	-1.1373	4.28	4.42
2	1033.9 × 10 <sup>-6</sup>	893.6 × 10 <sup>-6</sup>	140.3 × 10 <sup>-6</sup>	0.1570	-0.8041	4.29	4.43
3	1033.4 × 10 <sup>-6</sup>	824.2 × 10 <sup>-6</sup>	209.2 × 10 <sup>-6</sup>	0.2538	-0.5955	4.29	4.43
4	1032.9 × 10 <sup>-6</sup>	756.4 × 10 <sup>-6</sup>	276.5 × 10 <sup>-6</sup>	0.3655	-0.4371	4.28	4.42
5	1032.4 × 10 <sup>-6</sup>	686.2 × 10 <sup>-6</sup>	343.2 × 10 <sup>-6</sup>	0.4979	-0.3028	4.29	4.43

C<sub>total</sub>: a total concentration of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin, C<sub>A<sup>-</sup></sub> and C<sub>HA</sub>: a concentration of dissociated and of non-dissociated form of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin.

器具 pH meter: potentiometer 部分は Beckman G 型を用い、ガラス電極は macro 用の Beckman 1190~80, 飽和カロメル電極は野崎式<sup>11)</sup>のものを使用した。また試薬の標定には東亜電波 HM-5 型を用いた。

恒温滴定容器: スチロール樹脂製で内筒の内径 3 cm, 高さ 11 cm, 外筒の内径 4.2 cm, 高さ 12 cm, 厚さ, 内筒 3 mm, 外筒 5 mm の二重筒からなり、外筒と内筒の間に 25° の水を通させる。内筒内に試料溶液を加え、magnetic stirrer を用いてかきまぜる。

マイクロメーターシリンジ: Burroughs Wellcome (London) 製 'AGLA' brand および室町化学製 'ALFA' を用いた。容量は両者とも 0.5 ml, 精度,  $\pm 0.05 \mu\text{l}/0.01 \text{ ml}$ , 両者の差は著者作製の 0.1502 M 塩酸溶液を 0.1533 M 水酸化ナトリウム溶液で電位差滴定することにより求め、0.1 ml について 0.5  $\mu\text{l}$  であった。

0.150 M 塩化カリウム溶液に 0.1502 M 塩酸溶液の 25° における水素イオンの活量係数 ( $\gamma_{\text{H}^+}$ ) の測定

上記の 25° 恒温滴定容器に 0.150 M 塩化カリウム溶液 10.008 ml をとり、magnetic stirrer でかきまぜながらマイクロメーターシリンジより 0.1502 M 塩酸溶液を Table 1 の第 3 欄に示したような量に加えて行き、その都度 pH を読む。

$$\text{pH} = -\log \text{A}_{\text{H}^+} = -\log \text{C}_{\text{H}^+} \gamma_{\text{H}^+} \quad (1)$$

$$\therefore -\log \gamma_{\text{H}^+} = \text{pH} - (-\log \text{C}_{\text{H}^+}) \quad (2)$$

但し  $\text{A}_{\text{H}^+}$  は水素イオンの活量、 $\text{C}_{\text{H}^+}$  は水素イオンのモル濃度、 $\gamma_{\text{H}^+}$  は水素イオンの活量係数。上式により  $-\log \gamma_{\text{H}^+}$  を求めると Table 1 のような結果が得られた。

Table 1 の No. 1, 2 および 3 を除外して  $-\log \gamma_{\text{H}^+}$  の平均をとると 0.083 を得る。したがって  $\gamma_{\text{H}^+}$  は 0.826 となる。

AHC の pKa 値 (25°, イオン強度 0.15)

i. AHC  $1.035 \times 10^{-3} \text{ M}$  AHC 21.13 mg ( $1.035 \times 10^{-4} \text{ mole}$ ) を秤量し、マイクロメーターシリンジを用いて 0.1354 M 水酸化カリウム溶液 0.7644 ml ( $1.035 \times 10^{-4} \text{ mole}$ ) を加えて溶かし、さらに 0.150 M 塩化カリウム溶液を加えて 100 ml とする ( $1.035 \times 10^{-3} \text{ M}$ )。この液 10.008 ml を 25° の恒温滴定容器に移し、magnetic stirrer でかきまぜながらマイクロメーターシリンジから 0.1502 M 塩酸溶液を少量ずつ加えて行き、pH を読む (Table 2)。

いま C をモル濃度、 $\gamma$  を活量係数とすると酸の非解離型の活量係数  $\gamma_{\text{HA}}$  はほぼ 1 に等しいから pKa

は (3) 式のように表わすことができる。

$$\text{pKa} = \text{pH} - \log \frac{\text{C}_{\text{A}^-}}{\text{C}_{\text{HA}}} - \log \gamma_{\text{A}^-} \quad (3)$$

$$\text{pK}'\text{a} = \text{pH} - \log \frac{\text{C}_{\text{A}^-}}{\text{C}_{\text{HA}}} \quad (4)$$

得られる pH およびその pH における溶液中の酸の解離型および非解離型のモル濃度の値を (4) 式に代入して pK'a を得、さらに Debye-Hückel の式から  $\log \gamma_{\text{A}^-}$  を概算してこれらを (3) 式に代入することによって pKa の近似値を得た。

Debye-Hückel<sup>12)</sup> によれば 25° における電解質の希薄溶液の活量係数は次式によって与えられる、

$$\log \gamma = \frac{-0.509 Z^2 \sqrt{\mu}}{1 + 3.3 \cdot 10^7 a \sqrt{\mu}} \quad (5)$$

ここで Z は AHC のイオン価で 1 とする、 $\mu$  はイオン強度 (0.15), a はイオンの平均半径で  $3 \times 10^{-8} \text{ cm}$  とすれば

$$-\log \gamma_{\text{A}^-} = \frac{0.509 \sqrt{0.150}}{1 + \sqrt{0.150}} = 0.140$$

を得る。以上のように計算して得られる値を (3) 式に代入すれば Table 2 の pKa の値が得られる。pKa の平均値は 4.43, pK'a の平均値は 4.29 である。なお操作は 2 回繰返し行なった。

ii. AHC  $5.175 \times 10^{-4} \text{ M}$  AHC  $5.175 \times 10^{-4} \text{ M}$  溶液を作り、i の場合と全く同様に pKa の平均値 4.37, pK'a の平均値 4.23 を得たが i の場合と 0.06 の差を生じた。

DHA の pKa 値 (25°, イオン強度 0.15)

i. DHA  $9.99 \times 10^{-3} \text{ M}$  DHA  $9.99 \times 10^{-3} \text{ M}$  溶液を作り、DHA の場合と同様に操作する。この結果 pKa の平均値 5.26, pK'a の平均値 5.12 を得た。ただし  $-\log \gamma_{\text{A}^-}$  は AHC と同じく 0.140 とした。

ii. DHA  $1.006 \times 10^{-3} \text{ M}$  pKa の平均値 5.26, pK'a の平均値 5.12 を得た。

## 考 案

液間電位をほぼ一定に保つために著者らは野崎式飽和カロメル電極<sup>11)</sup>を使用したところ、測定 pH の値は再現性が良好で 2 回の繰返し実験においてほとんど同一の pH 値を得ることができた。

AHC  $1.035 \times 10^{-3} \text{ M}$  溶液の場合に、加える 0.1502 M 塩酸の量が 0.0294 ml 以上では AHC の結晶が析出したため  $\text{C}_{\text{HA}}/\text{C}_{\text{A}^-} = 1$  以下の値しか出せなかったため測定 pH はやや誤差が大きいと思われるが各滴定値より得られるそれぞれの pK'a の値の間の差は僅少であるので信用できると思う。しかしながら AHC 濃度を 1/2 に減じた場合の pKa の値とは 0.06

の差がみられ、この点については問題が残っている。

本研究は前国立衛生試験所ビタミン化学部長野崎泰彦博士の御指導を仰ぐところ多大でありました。また同所ビタミン化学部室長谷村顕雄博士の御鞭撻を戴きました。両氏に対し厚く御礼申し上げます。

### 文 献

- 1) 相磯, その他: 腐敗研究所, 4, 4(1951)
- 2) 増尾, 岡林: 塩野義研究所年報, No. 3, 104 (1953)
- 3) 野本, 並木, 並木: 農化, 28, 727(1954)
- 4) 浮田, 江島: 薬誌, 82, 1625(1962)
- 5) W. Ostwald: *Z. Physik. Chem.*, 3, 401(1889)
- 6) J.N. Collie: *J. Chem. Soc.*, 77, 971(1900)
- 7) J.A. Berson: *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 5174 (1952)
- 8) 緒方, 野崎共編: 化学実験操作法続編(II), 214 ~218 (1961), 南江堂, 東京
- 9) G.D. Pinching, R.G. Bates: *Research paper*, 37, 1749(1946)
- 10) T. Ukita, S. Nojima, M. Matsumoto: *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 5143(1950)

- 11) 緒方, 野崎共編: 化学実験操作法続編(II), 315, 316 の追補, Fig. 2 (1961), 南江堂, 東京
- 12) P. Debye, E. Hückel: *Physik. Z.*, 24, 185, 334(1923)

### Summary

**On the pKa Value of 3-Acetyl-4-hydroxycoumarin and Dehydroacetic Acid** Toru ADACHI and Akira EJIMA

The ionization constants of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin (AHC) and dehydroacetic acid (DHA) which were antibacterial or fungicidal compounds containing the tricarbonyl methane group were determined in the aqueous solution of ion strength 0.15 at 25° by potentiometric titration. The apparent pK values of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin and dehydroacetic acid were determined as 4.26 and 5.12 respectively. According to the equation of Debye-Hückel, the logarithmic activity coefficient could be calculate as  $-\log \gamma_{\text{AHC}} \approx \log \gamma_{\text{DHA}} \approx 0.140$ . Then pK values of 3-acetyl-4-hydroxycoumarin and dehydroacetic acid were approximately calculated as 4.40 and 5.26 respectively.

(昭和38年5月31日受付)

## 麻薬類の薄層クロマトグラフィー（第1報）

### あへん製剤中のアルカロイドの検出

高橋 一徳・水町 彰吾・朝比奈 晴世

最近薄層クロマトグラフィー (TLC) は広い分野で用いられるようになり、あへんアルカロイドやその誘導体にもまた応用されている<sup>1), 2), 3), 4), 5)</sup>。

従来アヘントコン散とアヘン散はエメチン含有の有無で区別され、エメチンの検出はサラン粉による呈色反応<sup>6)</sup>、ろ紙クロマト法<sup>7)</sup> によっているが、あへんのおもなアルカロイドに比べて低含量のエメチンの確認は鋭敏度などの点で検討の余地がある。また日本薬局方ではオピオト注、オビスコ注に含まれるアトロピン、スコポラミンの確認に、両者が同じ呈色を示すフリーマン反応を用いており、鑑別の目的に沿わない。著者らは TLC の鋭敏性、迅速性をこれまで困難の多かったこれらの鑑定に適用し役立つことを見いだした。

### 実験方法

(1) プレーートの作製法 シリカゲル G (Merck) 10g を 100 ml の共せんプラスチックにとり、水

20 ml を加えて約1分間強く振り混ぜ、アプリケーション (Camag 社, B 型) を用いて 0.3 mm の厚さの層を作る。室温で約 10 分間放置後 105° で1時間乾燥し、貯蔵箱に1日保存したものを使用する。このシリカゲルの量はプレート8枚 (5 cm × 20 cm) に相当する。プレートの両端は層が薄くなる傾向があるので使用前約 3 mm ずつけずりとして用いる。

(2) 試料の塗布 試料溶液はガラス毛细管を用いてプレートの下端から 2 cm の位置にスポットする。試料と同時に対照を必ず用いる。

(3) 展開および展開溶媒 展開そうは直径 7 cm, 高さ 21 cm の円筒ガラス容器 (矢沢, 100-9) を用いて、上昇法で 10 cm 展開する。展開そう内はあらかじめ展開溶媒約 25 ml を入れ、十分飽和させておく。展開溶媒にはつぎの I ~ VI を用いたが展開時間はいずれも 30 分以内であった。

I. methanol

II. acetone

III. chloroform

IV. chloroform : acetone : methanol = 5 : 4 : 1

V. chloroform : ethanol : methanol = 8 : 1 : 1

VI. chloroform : acetone : dimethylformamide  
= 5 : 4 : 1

(4) 発色法 塩化白金ヨウ化カリウム液を噴霧する。溶媒 VI を用いるときは 90° で約 5 分間加熱し、ジメチルホルムアミドを全く揮散させたのち噴霧しなければならない。

(5) 試料の調製、(a) トコン末、あへんは 0.1g、アヘン散、アヘントコン散では あへん 0.1g に相当する量を取り、それぞれ 100 ml の共せんフラスコに入れ、エーテル 20 ml、ついでアンモニア試液 0.5 ml を加えて毎回強く振り混ぜ、一夜放置後ろ過する。ろ液を水浴上で蒸発し、残留物をメタノール 1 ml に溶かし TLC の試料とする。アヘンチンキはそのまま用いる。

(a) オビスコ注、オピアト注は日局の確認試験(2) に従って得たベンゼン液を水浴上で蒸発し、残留物を少量のメタノールに溶かし TLC の試料とする。

(c) 純粋なモルヒネ、コデイン、テバイン、ノスカピン、パバペリン、エメチン、アトロピン、スコポラミンをそれぞれメタノールに溶かし対照として用

いる。

### 実験結果および考察

1. 種々のアルカロイドの Rf 値および溶媒の選択 実験方法 (5) - (c) による種々のアルカロイドを前記展開溶媒 I ~ VI で展開して得られた Rf 値をつぎに示す。

alkaloid \ developer	I	II	III	IV	V	VI
	1 morphine	0.23	0.06	0.00	0.11	0.34
2 codeine	0.27	0.09	0.00	0.22	0.68	0.32
3 thebaine	0.27	0.11	0.00	0.42	0.79	0.61
4 noscapine	0.80	0.95	0.07	0.97	0.99	0.98
5 papaverine	0.83	0.91	0.13	0.94	0.99	0.94
6 emetine	0.24	0.07	0.00	0.31	0.76	0.52
7 atropine	0.09	0.02	0.00	0.05	0.15	0.05
8 scopolamine	0.60	0.34	0.00	0.48	0.70	0.74

Teichert. K ら<sup>3)</sup> はアルカロイドの分離にアルカリ処理を施したシリカゲルプレートか、またはアルカリ性の溶媒を用いる必要があると報告している。われわれはあへんアルカロイドからのエメチン、アトロピン、スコポラミンの分離に溶媒 IV とアルカリ性溶媒

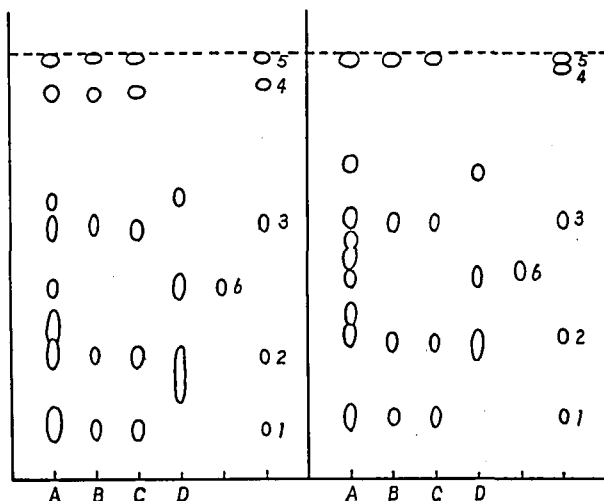


Fig. 1. Thin-layer chromatogram of opium preparations

a. Developer : IV, Time : 23min.

b. Developer : VI, Time : 26 min.

A : Dover's powder; B : powdered opium;

C : opium; D : powdered ipecac

1 : morphine; 2 : codeine; 3 : thebaine;

4 : papaverine; 5 : noscapine; 6 : emetine

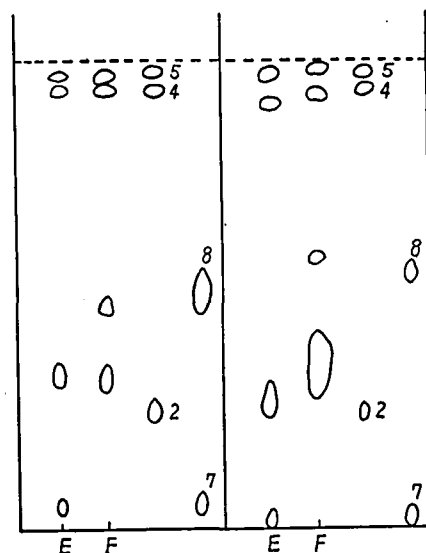


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of opiat injection and opisco injection

a. Developer : IV, Time : 26 min.

b. Developer : VI, Time : 26 min.

E : opiat injection; F : opisco injection

7 : atropine; 8 : scopolamine (see

Fig. 1)



VI がすぐれていることを知ったのでこれらを用いて試料を展開した。

2. アルカロイド抽出法の検討 アヘンチンキについて TLC を試みた結果、あへんアルカロイドの分離が悪かった。これは 35v/v% エタノールに抽出されるモルヒネとコデインとの含量比が大きく、また多量に抽出されるあへん中の樹脂成分に妨げられるためと思われる。すなわちアヘンチンキにエタノールを加え、エタノールの濃度を高め、樹脂成分を沈殿させ、沈殿を遠心分離した上澄液はアヘンチンキより分離がよくなる。しかし 95% エタノール抽出エキスと同じようにモルヒネとコデインが分離しないのでモルヒネ、樹脂成分が抽出されにくく、かつトコン末中のエメチンが抽出されやすいエーテルを抽出剤として選んだところ好結果を得た。

3. アヘン散とアヘントコン散との鑑別 トコンの成分エメチンがあへんアルカロイドからよく分離する溶媒 IV, VI を用い、実験方法 (5) - (a) により得たアヘン散、アヘントコン散からの抽出試料を展開した。クロマトグラムは Fig. 1-a, b に示すとおりで、これら製剤の鑑別も可能であった。

4. オピスコ注とオピアト注との鑑別 実験方法 (5) - (b) により得たオピスコ注、オピアト注からの抽出試料はそれぞれスコボラミン、アトロピンのほかにコデイン、ノスカピン、パバベリンを含む。これらアルカロイドの分離にすぐれている溶媒 IV, VI を用いて展開して得たクロマトグラムは Fig. 2-a, b のとおりでとくに裁判上の鑑定に利用できるすぐれた方法であることがわかった。

## む す び

従来困難であったアヘン散とアヘントコン散との区別を、鋭敏な TLC の利用と、エメチンをよく抽出し、モルヒネを抽出しにくい溶媒エーテルの抽出エキ

スを試料にすることによって、あへんアルカロイドからのエメチンの明らかな分離が可能となり、容易に両者を鑑別することができた。またオピアト注とオピスコ注に含まれるアトロピンとスコボラミンの区別が、日局法、ろ紙クロマト法では困難であったが、TLC によれば容易である。あへん製剤への TLC の応用は短時間で明らかな結果が得られるのでとくに鑑定に役立てることができる。

## 文 献

- 1) M. L. Borke, E. R. Kirch: *J. Am. Pharm. Assoc.*, 42, 627 (1953)
- 2) G. Machata: *Mikrochim. Acta*, 47, 79 (1960)
- 3) K. Teichert, E. Mutschler, H. Rochelmeyer: *Deutsch. Apotheker Ztg.*, No. 18, 283 (1960)
- 4) K. Teichert, E. Mutschler, H. Rochelmeyer: *ibid.*, 477 (1960)
- 5) D. Waldi, K. Schackerz, F. Munter: *J. chromatography*, 6, 61 (1961)
- 6) 第7改正日本薬局方
- 7) 朝比奈晴世, 志内賢彦, 中村良: *衛生試験*, 74, 65 (1956)

## Summary

**Thin-Layer Chromatographic Study on Narcotic Drugs. I. Detection of Alkaloids in Opium Preparations.** Kazunori TAKAHASHI, Shōgo MIZUMACHI and Haruyo ASAHINA

We have studied with a good result the application of thin-layer chromatography to the identification of several opium preparations, such as powdered opium, Dover's powder, Opiat and Opisco injections, which was difficult by the ordinary procedure. In the case of former two preparations, it is required to combine a shaking-out procedure with ether.

(昭和38年5月31日受付)

## 尿中麻薬の検出について(第2報)

大野昌子・朝比奈晴世

麻薬中毒者を収容保護し、治療更生の道を講ずるため、中毒者の認定が必要である。このため禁断症状の発現をみた中毒者の尿を試料としてモルヒネおよびその誘導体の検出を試み、さらに飲食物が検出に及ぼす影響についても検討を加えた。

### 試料および実験方法

(1) 試料 禁断症状の発現をみた麻薬中毒者の尿 A~F

試料	注射後採尿までの時間 時間	麻薬使用状況
A	63	塩酸ジアセチルモルヒネ(ヘロイン)を注射
B	19	"
C	27	"
D	不明	"
E	28	"
F	30	ヘロイン1日約20包、1回5包ずつ注射(1包30~40mg)

### (2) 予試験

尿中のモルヒネおよびその誘導体の検出 尿中にモルヒネあるいはその誘導体が含まれていれば、つぎの方法でモルヒネはそのまま、誘導体は加水分解されモルヒネとして検出される。

検出法 試料尿に1/10量の塩酸を加え水浴上で30分間加熱し、冷後塩化ナトリウムで塩析したのち10%水酸化ナトリウムを加えてアルカリ性とし、等量ずつのクロロホルムを用い3回振り混ぜクロロホルム可溶物を除く。水層を希塩酸で中和し、さらにアンモニア試液でアルカリ性とし、等量ずつのクロロホルムと3回振り混ぜる。このクロロホルム液を水浴上で蒸発し、残留物に希塩酸1滴を加え再び水浴上で蒸発乾固したのち残留物を少量の水に溶かし、これを試料としてろ紙クロマトグラフィーにより検出を行なう。

ろ紙クロマトグラフィー 第1報参照<sup>1)</sup>。

対照として塩酸モルヒネを同時に展開し、Rf値の比較、短波長紫外線照射による吸収の有無、発色剤による呈色によってモルヒネ含有の有無を検する。

抽出操作として、第1報では塩酸で加水分解した尿をアンモニアアルカリ性としクロロホルムを用いる方法を検討したが、この場合得られるクロロホルム抽出

物は、ろ紙クロマトグラフィーによりモルヒネに基づくもの以外に多くの物質の認められるが多かったので、妨害物を除去するため水酸化ナトリウムアルカリ性におけるクロロホルム抽出操作を加え、モルヒネ抽出法を改良した。

### (3) モルヒネおよびその誘導体の確認

予試験でモルヒネが検出された試料尿について生体内に投与されたヘロインが尿中に排せつされるときの型を知るため、イオン交換樹脂に対する性質を利用し分離、確認を行なった。

イオン交換樹脂柱の調製 Amberlite IRA 411 Cl型, OH型<sup>2)</sup>。

試料尿の前処理 酸性の尿はそのまま、アルカリ性の尿は希塩酸を加えてpH約6.8に調整する。

分離法 試料尿50mlをCl型樹脂柱に、ついでOH型樹脂柱に通し、さらに水50mlを順次通して洗い洗液は除く。流速はすべて1ml/1min。通過尿を試料aとする。

### 溶出法

(i) Cl型樹脂柱 4N塩酸50mlで溶出し、溶出液を試料bとする。ついで樹脂をガラス管から取り出し、塩酸メタノール(44:500)20mlを加え、水浴上で50°に30分間加温後ろ過し、ろ液を蒸発して得た残留物を試料cとする。奥井<sup>3)</sup>によれば、尿中のモルヒネグルクロナイドはこのCl型樹脂に吸着し、温塩酸メタノールで抽出される。

(ii) OH型樹脂柱 N/2塩酸50mlで溶出し、溶出液を試料dとする。

抽出法 試料a(50ml)をガラス製蒸発皿に入れ、1/10量の塩酸(5ml)を加えて水浴上で約10mlになるまで濃縮する。冷後濃縮液を分液漏斗に移し、塩化ナトリウムで塩析、10%水酸化ナトリウム液でアルカリ性とし、クロロホルム15mlずつで3回抽出する。クロロホルム蒸発残留物に希塩酸2滴を加えて蒸発乾固したのち水2滴に溶かし、ろ紙クロマトグラフィーの試料a-1とする。水層を希塩酸で中和し、アンモニア試液でアルカリ性にしたのちクロロホルム20ml、15ml、15mlずつで抽出する。クロロホルム蒸発残留物をa-1と同様希塩酸で処理後水に溶かし試料a-2とする。

試料b(50ml)をガラス製蒸発皿に入れ、水浴上

で約 10 ml になるまで濃縮し、以下試料 a と同様にして抽出し、試料 a-1, a-2 に対応する抽出物をそれぞれ b-1, b-2 とする。

試料 d (50 ml) をガラス製蒸発皿に入れ、1/20 量の塩酸 (2.5 ml) を加え水浴上で約 10 ml まで濃縮後、試料 a と同様にして抽出し試料 a-1, a-2 に対応する抽出物をそれぞれ d-1, d-2 とする。

確認法 ろ紙クロマトグラフィー (2) 参照) により試料を展開、確認する。

以上の方法によれば、モルヒネ誘導体はモルヒネとして確認されるはずである。ヘロインが尿中に排せつされるときの型を知るためには、モルヒネが検出されたフラクションについて溶出液の pH を 6.8 とし、濃縮したのち前記抽出操作を行ない (ただしクロロホルム蒸発残留物を塩酸と加熱しない)、モルヒネあるいはその誘導体を確認する。溶出液の pH の調整には水酸化ナトリウム試液を用いる。

### 実験結果

#### (1) 試料の尿量および pH

試料の pH を測定後、密せんにして冷所に保存。

Table 1.

試料	尿量	pH	試料	尿量	pH
A	55 ml	8.60	D	全量不明	8.20
B	20	7.22	E	52	7.40
C	75	6.20	F	300	6.90

pH はガラス電極 pH メーターで測定

#### (2) モルヒネおよびその誘導体の検出

試料 A~F 5 ml ずつをとり予試験を行なった。ろ紙クロマトグラフィーの結果を Table 2~4 に示す。

Table 2.

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
A	6	0.03 (青色) 0.11 (青色) 0.18 (青色) 0.25 (青色) 0.33 (紫→かっ色) 0.43 (紫青色)
B	3	0.15 (暗青色) 0.22 (青色) 0.31 (暗青色)
C	3	0.18 (暗青色) 0.25 (青色) 0.33 (暗青色)
D	1	0.24 (暗青色)
E	4	0.12 (紫青色) 0.19 (暗青色) 0.27 (暗青色) 0.35 (暗青色)
F	4	0.04 (青色) 0.15 (暗青色) 0.21 (暗青色) 0.33 (暗青色)

対照 (Table 2~8) 塩酸モルヒネ 0.34 (暗青色)  
ヘロイン 0.55 (青色)

Table 2 には加水分解した尿をアンモニアアルカリ性とし、クロロホルムで抽出した結果を示した。

試料からはいずれもヘロインと思われるスポットは検出されなかった。また A 中の Rf 0.33 のスポットは発色剤噴霧前に紅色を呈し、呈色もモルヒネと異なる。試料 B, C, E, F における Rf 0.31, 0.33, 0.35, 0.33 の各スポットは、Rf 値と呈色ではモルヒネに類似しているが、短波長紫外線の照射で吸収を示さないか、または呈色の強さに比べ吸収が弱い。これら 4 試料 5 ml ずつについて予試験を繰り返して行った。

Table 3. 水酸化ナトリウムアルカリ性におけるクロロホルム抽出物の Rf 値

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
B	3	0.15 (暗青色) 0.22 (青色) 0.31 (暗青色)
C	3	0.18 (暗青色) 0.25 (青色) 0.33 (暗青色)
E	4	0.10 (青色) 0.16 (暗青色) 0.23 (暗青色) 0.36 (暗青色)
F	4	0.05 (青色) 0.14 (暗青色) 0.23 (暗青色) 0.36 (暗青色)

Table 4. アンモニアアルカリ性におけるクロロホルム抽出物の Rf 値

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
B, C, E	0	—
F	1	0.35*

\* 僅かに暗青色を呈する。

試料 F の場合のほか、モルヒネ類似の物質は、いずれも水酸化ナトリウムのアルカリ性でクロロホルムに抽出されるモルヒネ以外の物質であった。

#### (3) モルヒネおよびその誘導体の確認

試料 C, F はそれぞれ 50 ml ずつ、E は 40 ml をとり、(3) の方法に従って確認を試みた。試料 C における a-1 を C-a-1 で示し、以下これに準じ、ろ紙クロマトグラフィーの結果を Table 5~8 に示す。

Table 5. 通過尿からの抽出物 (1)

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
C-a-1	3	0.18 (紫青色) 0.25 (青色) 0.33 (暗青色)
E-a-1	4	0.12 (青色) 0.20 (暗青色) 0.27 (暗青色) 0.36 (暗青色)
F-a-1	5	0.05 (紫色) 0.14 (紫→かっ色) 0.24 (紫→かっ色) 0.39 (紫青色) 0.74 (紫→かっ色)

Table 6. 通過尿からの抽出物 (2)

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
C-a-2, E-a-2	0	—
F-a-2	3	0.06(紫色) 0.15(紫色) 0.35(暗青色)

Table 7. 試料 -b-1, -b-2, -c, -d-1 の場合

試料	スポット数	試料	スポット数
C-b-1, b-2, c, d-1	0	F-b-1, b-2, c, d-1	0
E-b-1, b-2, c, d-1	0		

Table 8. 試料 -d-2 の場合

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
C-d-2, E-d-2	0	—
F-d-2	1	0.37 (暗青色)

F-d-2 から検出された Rf 0.37 の物質がモルヒネであることを確かめるため、試料 F 50 ml に塩酸 5 ml を加え、水浴上で約 10 ml に濃縮した液を 10% 水酸化ナトリウム液で pH 6.8 に調整したのち (3) の方法に準じ、OH 型樹脂柱から N/2 塩酸でモルヒネを溶出し、確認することができた。

また別に試料 F 50 ml を (3) の方法で分離し、試料 d に相当するフラクションをとり、pH 約 6.8 として濃縮後抽出して得たアンモニアアルカリ性におけるクロロホルム抽出物は (塩酸と加熱しない)、ろ紙クロマトグラフィーでスポット 1 つを与えるが、短波長紫外線吸収なく、発色剤による呈色も著しく弱く、溶出物を加水分解することによって初めてモルヒネが著明に検出される。

以上の実験結果によれば、6 例の麻薬中毒者の尿から麻薬が検出されるのは 1 例にすぎず、この場合も結合型モルヒネとして排せつされている。またモルヒネグルクロナイドが Amberlite IRA 411, Cl 型に吸着されることが報告されているが<sup>9)</sup>、試料 F では OH 型に吸着される結合型モルヒネが証明された。また予試験として水酸化ナトリウムアルカリ性でクロロホルム抽出を行なう操作を加えることにより妨害物の多くを除くことができ、従来方法でモルヒネと思われた 4 例中 3 例がモルヒネ陰性となった。

麻薬中毒者では麻薬投与時の条件が一定でないの、各例に見られるように麻薬に由来しないと思われる、たとえば薬物や飲食物による影響が考えられるので、つぎの実験を行なった。

## (4) 飲食物が麻薬の検出に及ぼす影響

麻薬類はいずれも塩化白金ヨウ化カリウム液、ホルマリン硫酸試液で呈色するが、日常の飲食物でもこれらの試液で同様の呈色反応を示すものがある。たとえば即席ラーメン (明星、スープ付) のスープは、ろ紙上のスポットテストで塩化白金ヨウ化カリウム液に紫青色、薄層板上 (Silica Gel G) ではホルマリン硫酸試液にらん青色を示す。われわれはこの即席ラーメンを食した正常人の尿中に排せつされるこれら発色剤に陽性の物質が、モルヒネあるいはその誘導体の検出に及ぼす影響を検討した。

方法 即席ラーメンを食した正常人の尿 50 ml ずつをとり、予試験の方法に従って発色剤に陽性の物質の検出を行なった (Table 9~11)。

Table 9.

試料	尿量	pH	採尿までの時間	試料	尿量	pH	採尿までの時間
1	325 ml	6.49	2.5 時間	3	145 ml	6.70	1.5 時間
2	175	7.09	2.3	4	220	7.48	3.2

Table 10. 水酸化ナトリウムアルカリ性におけるクロロホルム抽出物の Rf 値

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
1	7	0.07(紫青色) 0.13(暗青色) 0.18(青色) 0.25(暗青色) 0.37(青色) 0.57(暗紫青色) 0.65(暗青色)
2	7	0.02(紫色) 0.09(暗青色) 0.17(紫青色) 0.29(暗青色) 0.37(紫青色) 0.43(青色) 0.59(暗青色)
3	5	0.02(紫青色) 0.10(暗青色) 0.26(紫青色) 0.31(紫青色) 0.59(暗青色)
4	8	0.02(紫青色) 0.11(暗青色) 0.17(紫青色) 0.22(紫青色) 0.30(紫青色) 0.37(紫青色) 0.43(青色) 0.59(暗青色)

Table 11. アンモニアアルカリ性におけるクロロホルム抽出物の Rf 値

試料	スポット数	Rf 値 (呈色)	試料	スポット数	Rf 値 (呈色)
1	1	0.57(紫青色)	3	1	0.59(紫青色)
2	1	0.56(紫青色)	4	1	0.50(紫青色)

対照 (Table 10~11) 塩酸モルヒネ 0.36(暗青色)  
ヘロイン 0.60(青色)

これら各例中にはモルヒネ、ヘロインと同等の Rf 値を示す物質があり、従来の方法によるときはモルヒネ、ヘロインと誤り判定されるおそれがある。

## 考 察

従来の尿中麻薬の検出法によれば、中毒者の尿でもろ紙クロマトグラフィーで

- (1) 全くスポットが得られない
- (2) モルヒネと全く Rf 値の異なるスポット1つまたは多数を得る
- (3) モルヒネと Rf 値の等しいもの以外に1つまたは多くのスポットを得る
- (4) モルヒネと Rf 値は等しいが、呈色が異なるスポットを得る

などの結果が得られる。われわれはモルヒネおよびその誘導体の検出を妨げ、鑑別に誤りを生ずるおそれのある物質を除去する方法を見いだした。現段階では予試験で麻薬が検出されたと思われる場合、イオン交換樹脂に対する性質を利用し、確認を行なう必要がある。中毒者の尿中の麻薬は微量であることが多いので、試料の採取量にも注意が必要である。

著者らは中毒者尿6例について実際に麻薬の検出を試みた。これらの試料は中毒者であることを確認するため禁断症状の発現を待ち、発作後の第一尿を用いた。しかし1日に600mgものヘロインを使用していた中毒者の場合に結合型モルヒネが認められたにすぎなかった。中毒者の尿中に必ずしも常に麻薬が排せつされないので、尿中の微量の麻薬も存在すれば必ず検出し得ても、中毒者の認定法として用いるには検討の余地があると思う。

中毒者尿を御提供下さった関東信越地区麻薬取締官事務所の諸氏に感謝する。なお本研究は一部厚生科学研究費によって行なった。

## 文 献

- 1) 朝比奈, 大野: 衛生試報, 79, 111(1961)
- 2) 朝比奈, 大野: 衛生試報, 77, 139(1959)
- 3) 奥井: 昭和36年度厚生科学研究報告, 麻薬中毒者の尿および血液の鑑別に関する研究, p. 15 (1962)

## Summary

### Detection of Narcotic Drugs in Biological Fluid. II. Masako Ono and Haruyo Asahina

When the urine of the addicts was examined for narcotics by the solvent extraction method and the paper chromatographic method using as usual, we had the following paper chromatographic results:

- 1) no spot was obtained
- 2) only one or many spots having the different Rf value from morphine were detected
- 3) a spot having the same Rf value as morphine and some other spots were detected
- 4) a spot having the same Rf value as morphine but different from morphine in color reaction with potassium iodoplatinate was detected

We succeeded in the removal of substances having a bad effect on the detection of morphine or conjugated morphine in the urine. For the identification of narcotics in the addict's urine, the use of anionic exchanger Amberlite IRA 411 is necessary.

We carried out the detection of narcotics with the six urine samples obtained from the addicts. Our experiment showed that conjugated morphine was demonstrated in the urine, when 600 mg of diacetylmorphine hydrochloride was injected in a day. No morphine or conjugated morphine was detected in other five cases.

We established the detectable method for the very small amount of narcotics in the urine, but the narcotics are not always contained in the addict's urine that the use of this as the addict-finding method leaves room for any investigation.

(昭和38年5月31日受付)

インシュリンの薬化学的研究 (第 30 報)\*  
等電点沈殿法による精製カツオおよびマグロ・インシュ  
リンの N- 末端アミノ酸と化学構造について

西 崎 笹 夫

著者らは第 15 報<sup>1)</sup> によって精製した魚類・インシュリンの N- 末端アミノ酸は、カツオ・インシュリンの場合<sup>2)</sup> には Gly, Ala および Leu または Ileu を、ビンナガマグロ・インシュリンの場合<sup>3)</sup> には Gly, Val\*\* および Ileu または Ileu を検出し、C-末端アミノ酸は両者について Arg, Lys および Asp (NH<sub>2</sub>)\*\* を検出した<sup>4)</sup>。

本報においては、これらのインシュリンの N- 末端アミノ酸について比色分析を行なって定量した (実験 1)。

また Leu と Ileu とについては、濾紙クロマトグラフィーのみでは明らかに区別し得ないので、微生物学的検定法を適用した (実験 2)。

著者は前報<sup>5), 6)</sup> において魚類・インシュリンの等電点が哺乳動物・インシュリンのそれより塩基性を示すことを述べ、さらに魚類・インシュリンの過ギ酸酸化物について 3 種のペプチド鎖を認めたが、今回はカツオおよびマグロのインシュリン分子を構成するペプチド鎖の特性を明らかにするため、Harris<sup>7)</sup> らの方法にはば準じてカツオおよびマグロのインシュリンの過ギ酸酸化物の濾紙電気泳動を行なった (実験 3)。

なお以上の実験結果から魚類・インシュリンの化学構造についても論ずる。

### 実 験 の 部

#### 実験 1. カツオおよびマグロ・インシュリンの N-末端アミノ酸の定量

構造の明らかにされたウシ・結晶インシュリンを対照として用い、以下の実験を行なった。

##### i) 実験試料:

ウシ・結晶インシュリン: 24.5 u/mg

カツオ\*\*\*・インシュリン: 20.8 u/mg

マグロ\*\*\*\*・インシュリン: 20.3 u/mg

以上の試料からの DNP- インシュリンの調製は前報<sup>8)</sup> に準じた。

ii) 定量操作: DNP- ウシ, DNP- カツオおよび DNP- マグロ・インシュリンをそれぞれ 1 回の実験について 5.0 mg (DNP- インシュリン中の単体インシュリンを 80% と仮定し<sup>9)</sup>, 魚類・インシュリンの分子量を哺乳動物のそれと同じく 6,000 と想定するとき, 0.67 μmole に相当) をとり, 5.7 N- 塩酸を加えてガラス閉管中で 135° で加水分解した。なお加水分解時間は各試料について 5 時間または 7 時間とし, 加水分解液中のエーテル可溶性区分について第 25 報<sup>9)</sup> で述べたと同じ方法で濾紙クロマトグラフィーを行なった。クロマトグラム上の各 DNP- アミノ酸の黄色バンドを 1% 炭酸水素ナトリウム溶液を用いて溶出し, 360 mμ における吸光度を測定して, 各 DNP- アミノ酸の分子吸光係数<sup>10)</sup> からそれらの μmole 数 (x) を次式によって算出した。

$$x (\mu \text{mole}) = \frac{E}{\epsilon_m / 10^5} \times V / 1,000$$

E: 分光光度計の読み;  $-\log T$

$\epsilon_m$ : DNP- アミノ酸の分子吸光係数

V: バンドの溶出に用いた溶媒の体積 (ml)

iii) 定量値の補正および実験結果: 前述の定量値に対して, 各 DNP-アミノ酸約 1 μmole ずつをとり, 試料の場合と同じ条件での回収率を求めて (Table 1.\* 参照), 補正した。各インシュリン 1 mole 当りの N-末端アミノ酸の mole 数を Table 1 に示す。

#### 実験 2. 微生物学的検定法による DNP-Leu と DNP-Ileu との判別

\* 第 29 報は西崎笹夫: 衛生試験, 77, 219(1959)

本報の大部分は昭和 35 年 12 月, 日本薬学会関東支部例会において講演した。またその一部は竹中祐典技官によって, Produits Pharmaceutiques, 17, 421(1962) に紹介された。アミノ酸の略号は第 25 報<sup>9)</sup> に準じた。

\*\* 昭和 37 年 9 月, 日本薬学会関東支部例会<sup>14)</sup> において, 第 26 報<sup>3)</sup> で報告したマグロ・インシュリンの N- 末端アミノ酸のうち Phe を Val に, また第 29 報<sup>4)</sup> において述べた C- 末端アミノ酸の Thr は構成アミノ酸にそれを認めないので除くことに訂正した。

\*\*\* *Katsuwonus vagans*.

\*\*\*\* 主としてビンナガマグロ; *Thynnus alauqua* で, キハダマグロ; *Neothunnus macropterus* の 1 部を含む。

Table 1. N-terminal amino acid residue content\* (mole/mole) of bovine, bonito fish and tunny fish insulins, by dinitrophenylation.

Species of insulin	Time of hydrolysis** (hr)	DNP-Ileu	DNP-Phe	DNP-Val	DNP-Ala	DNP-Gly
Bovine	5	—	1.05	—	—	1.10
	7	—	1.08	—	—	1.07
Bonito fish	5	0.41	—	—	0.42	0.84
	7	0.43	—	—	0.42	0.95
Tunny fish	5	0.34	—	0.49	—	0.95
	7	0.36	—	0.42	—	0.81

\* These values were corrected by the recovery co-efficient shown in the following: DNP-Ileu; 0.51, 0.34 DNP-Phe; 0.55, 0.39 DNP-Val; 0.55, 0.39 DNP-Ala; 0.46, 0.28 DNP-Gly; 0.22, 0.09

\*\* Hydrolyzed at 135°, in a sealed glass tube, with 5.7 N-HCl

i) 試料の調整: DNP-カツオ, DNP- マグロ・インシュリンそれぞれ 50 mg をとり, それらの塩酸加水分解物のうちエーテル可溶性 DNP- 化合物について実験 1 と同じ方法によって浮紙クロマトグラフィーを行なった. DNP-Leu または DNP-Ileu のバンドを 1% 炭酸水素ナトリウム溶液を用いて溶出し, 溶出液を塩酸性としたのちエーテルを用いて抽出し, 抽出液からエーテルを減圧留去した. 残留物にアンモニア水 (28%) 2 ml を加え, ガラス閉管中で 8 時間, 100° の水浴上で反応させた液について, 再び浮紙クロマトグラフィーを行ない, 無色の遊離アミノ酸 (Rf: 0.3, 1 部をニソヒドリンで発色させて検出) バンドのみを熱水で溶出した. これをさらに精製するため, ブタノール: 酢酸: 水 = 4: 1: 5 の溶媒を用

いて浮紙クロマトグラフィーを行ない, Rf: 0.7 近付のバンドを溶出し, 蒸発乾固したものを微生物学的検定法の試料とした. 本試料中には, 菌の発育を阻止するおそれのある DNP- 化合物はほとんど含まない.

ii) 菌株: *Lactobacillus arabinosus* 17-5

iii) 基礎培地: Dunn の培地組成<sup>11)</sup> に水を加えて 90 ml とし, 45 ml ずつに 2 分する. Leu の定量を目的とする系列に DL-Ileu 10 mg を, Ileu の定量を目的とする系列に L-Leu 5 mg を加え, 全量を 50 ml とした.

iv) 操作: 前記基礎培地を硬質試験管に 2 ml ずつ分注し, 標準系列溶液および試料溶液を加え, さらに水を加えて個々の試験管の液量を 4 ml とした. 綿せんを付して 123°, 15 ポンド/inch<sup>2</sup> で 5 分間滅菌し, 冷後 *Lactobacillus arabinosus* 17-5 の 20 倍希釈液 1 滴ずつを各試験管に接種し, 37° で 22 時間培養後 610 m $\mu$  で濁度を測定した. Fig. 1 にその検量曲線を示す.

v) 実験結果: Fig. 1 に示した検量曲線において, カツオ・インシュリンについては L-Leu の場合は吸光度が 0.011, 0.010 で陰性, DL-Ileu のそれは 0.264, 0.258 で平均約 12  $\mu$ g の DL-Ileu に相当する量を得た. またマグロ・インシュリンについては L-Leu の場合は吸光度が 0.010, 0.011 で陰性, DL-Ileu のそれは 0.220, 0.200 で平均約 10  $\mu$ g の DL-Ileu に相当する量を得た. したがって著者らが前報<sup>2), 3)</sup> で Leu または Ileu であると述べたが, 今回の微生物学的方法によって Ileu であることを確かめた.

実験 3. カツオおよびマグロ・インシュリンの過ギ酸酸化物の浮紙電気泳動法による検討

i) 過ギ酸の調整: 市販特級ギ酸 (85% 以上) 9 容に特級過酸化水素水 (30%) 1 容を加え, 密せんしてよく混和し, 60 分間放置後のものを用いた.

ii) 過ギ酸酸化操作: 試料 0.4~0.5 mg をとり,

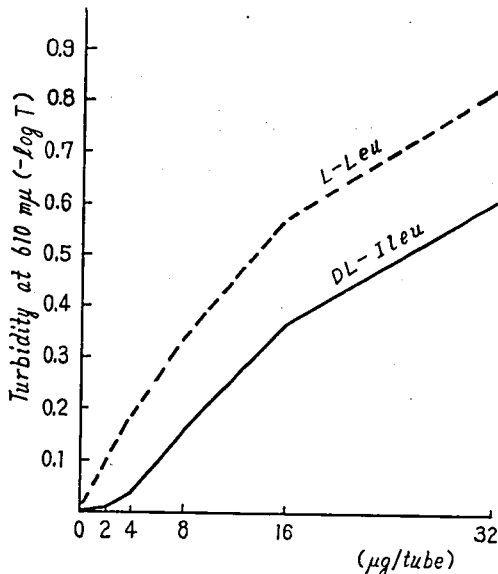


Fig. 1. Calibration curves for determination of leucine and isoleucine by microbioassay.

過ギ酸 0.02 ml を加えて 20 分室温に放置したのち水 0.02 ml を加えて反応を中止した。

iii) 過ギ酸酸化物の濾紙電気泳動: 東洋濾紙 No. 51 を用い、20% ギ酸 (pH 1.3) を泳動溶媒として、前述の過ギ酸酸化物を直接原線につけ、300V/40cm、5時間泳動を行なった。

iv) 発色法: 種々の発色試薬のうち、つぎに示すチロジン試薬<sup>12)</sup> がもっとも適当であった。すなわち、1%  $\alpha$ -ニトロソ- $\beta$ -ナフトール・95% アルコール溶液を噴霧して風乾したのち、10% 硝酸を噴霧して 110° に 5 分間保つとき、チロジンを含むペプチドは紅色を呈した。その泳動図を Fig. 2 に示す。

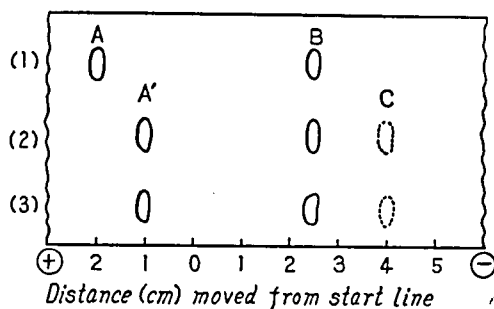


Fig. 2. Electrophoretic patterns of oxidized bovine(1), bonito fish(2) and tunny fish(3) insulins. Solvent: 20% of formic acid solution Voltage: 300 volt/40 cm Time: 5 hr.

v) 実験結果: Fig. 2 からウツ・結晶インシュリンの場合は A, B の 2 本のペプチド鎖を認め Harris<sup>7)</sup> の報告とよく一致した。一方、カツオおよびマグロ・インシュリンの場合はウツの場合の B 鎖と一致するバンドのほか、ウツの場合の A 鎖よりも泳動速度の遅いバンド (A'), および微に B 鎖よりもさらに泳動速度のはやいバンド (C) を検出した。

#### 考察とむすび

著者はカツオおよびマグロ・インシュリンについて N-末端アミノ酸を定量的に分析した。

これら魚類のインシュリンの分子量を哺乳動物のインシュリンのその 2 倍と仮定するとき、カツオ・インシュリン (20.8u/mg) の N-末端アミノ酸として Gly 2 分子, Ala 1 分子および Ileu 1 分子を得、またマグロ・インシュリン (20.3u/mg) では同様に Gly 2 分子, Val 1 分子および Ileu 0.7 分子を得た (Table 1)。

なお C-末端アミノ酸については、カツオおよびマグロ・インシュリンはともに Asp (NH<sub>2</sub>), Lys および Arg をすでに認めている<sup>9)</sup>。

以上の知見からカツオ、マグロのインシュリンの N-末端アミノ酸に対応する C-末端アミノ酸の組合わせをウツ・結晶インシュリンを対照とするとき Table 2 に示すように想像される。

Table 2. Assumed chemical structures of fish insulins.

Species of insulins	N-terminal amino acids	C-terminal amino acids
Bovine	Gly — S — S —   S   Phe — S —	Asp(NH <sub>2</sub> )   S   Ala
Bonito fish	I Gly — S — S —   S   Ileu — S —	Asp(NH <sub>2</sub> )   S   Arg or Lys
	II Gly — S — S —   S   A'a — S —	Asp(NH <sub>2</sub> )   S   Lys or Arg
Tunny fish	I Gly — S — S —   S   Ileu — S —	Asp(NH <sub>2</sub> )   S   Arg or Lys
	II Gly — S — S —   S   Val — S —	Asp(NH <sub>2</sub> )   S   Lys or Arg

以上の組合わせのうち、カツオ・インシュリンについては I 式と II 式との比率について製造番号の異なるカツオ・インシュリン試料を用いて検討した結果、いずれも近似的に 1:1 にかなりよく一致する。これに対してマグロ類・インシュリンの場合は I 式が II 式の 50~80% を示すことが多い<sup>13)</sup>。したがってカツオおよびマグロ・インシュリンは、I 式および II 式が単独に共存するものか、または I 式と II 式がある種の結合をなし、数本のペプチド鎖の集まりが 1 個のインシュリン分子を構成するものとも考えられる。

なお過ギ酸酸化物の濾紙電気泳動実験の結果、カツオおよびマグロ・インシュリンの B 鎖はウツ・インシュリンのそれと泳動速度がきわめてよく似るが、カツオおよびマグロ・インシュリンの A 鎖はウツ・インシュリンのそれよりも明らかに塩基性が強いことを示している。著者は以前にカツオ、マグロのインシュリンの等電点が哺乳動物・インシュリンのそれより塩



基性を示すことを述べたが<sup>9)</sup>、今回の実験によって意外にもその原因が主に末端アミノ酸が合致するA鎖に依存することを認めた(実験4)。また魚類・インシュリンの場合のみにしばしば認められる(C)は、インシュリンの生理活性を示さない塩基性のペプチドである<sup>14)</sup>。

山本、小滝<sup>15)</sup>らはカツオ・インシュリンについてCM-セルローズクロマトグラフィーを行ない、N-末端アミノ酸の1種にLeuを認めているが、著者の今回の微生物学的検定法の結果からIleuと思われる。また彼らが検出してないC-末端アミノ酸としてのArg<sup>9)</sup>は、著者の実験では確実であると思う。

以上の実験結果から、カツオ・インシュリンとマグロ・インシュリンとの間には、N-末端アミノ酸の種類とそれらの比率において差異のあることを認めた。

最近Wilson<sup>16)</sup>も、魚類のインシュリンについての報告があり、カツオ、マグロおよびカジキマグロ・インシュリンの混合試料について、N-末端アミノ酸としてGly, Ala, Leu および Val を検出しているが、Alaはカツオ、Valはマグロ類・インシュリンのN-末端に存在するものと解釈することによって、Leu以外は著者の得た結果とよく一致する。

終わりに臨み、本研究に当り終始御指導と御鞭撻とさらに原稿の御校閲を賜わった生物化学部長長沢佳熊博士に深謝する。またN-末端アミノ酸の定量に際し、種々有益な御助言を賜った大阪大学たん白質研究所教授成田耕造博士に感謝する。さらに本実験に終始御協力載いた生物化学部竹中祐典技官および微生物学的検定法について御助力を戴いたビタミン化学部江島昭技官に厚く御礼申し上げる。

## 文 献

- 1) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 衛生試報, 74, 171(1956)
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: *ibid.*, 77, 197(1959)
- 3) 長沢佳熊, 西崎笹夫: *ibid.*, 77, 203(1959)
- 4) 西崎笹夫: *ibid.*, 77, 219(1959)
- 5) 西崎笹夫: *ibid.*, 77, 437(1959)
- 6) 西崎笹夫: *ibid.*, 77, 431(1959)
- 7) J.I. Harris, F. Sanger and M.A. Naughton: *Arch. Biochem. Biophys.*, 65, 427(1956)
- 8) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 衛生試報, 76, 323(1958)

- 9) R.R. Porter, F. Sanger: *Biochem J.*, 42, 287(1948)
- 10) 佐竹一夫, 奥山典生: 化学の領域, 増刊 No.34, p. 86(1958) 南江堂版
- 11) M.S. Dunn, M.N. Camien and S. Shankman: *J. Biol. Chem.*, 163, 577(1946)
- 12) R. Acher and J. Chauvet: *Biochim. Biophys. Acta.*, 12, 487(1953)
- 13) 西崎笹夫: 未発表
- 14) 西崎笹夫: 昭和37年9月, 日本薬学会関東支部例会において講演発表
- 15) M. Yamamoto, A. Kotaki, T. Okuyama and K. Satake: *J. Biochem.*, 48, 84(1960)
- 16) S. Wilson and G.H. Dixon: *Nature.*, 191, 876(1961)

## Summary

Pharmaceutical and Chemical Studies on Insulin. XXX. On N-Terminal Amino Acids and Chemical Structures of Bonito Fish and Tunny fish Insulins Purified by Precipitation at Isoelectric Point. Sasao NISHIZAKI

N-Terminal amino acid residues of bonito fish (20.8u/mg) and tunny fish (20.3u/mg) insulins were determined by dinitrophenylation, quantitatively.

It could be found that bonito fish insulin has two mole of glycine, one mole of alanine and one mole of isoleucine, whereas, tunny fish insulin has two mole of glycine, one mole of valine and approximately 0.7 mole of isoleucine as N-terminal. (Exp. 1)

In above experiments, N-terminal isoleucine was identified by microbioassay using *Lactobacillus arabinosus* 17-5. (Exp. 2)

It is suggested that two types (I and II) of insulin were existed in bonito fish and tunny fish insulins, and the author assumed their chemical structures.

And differences in chemical properties from mammalian insulin were found in A-chain from the result of paper electrophoretic patterns of these insulins oxidized with performic acid. (Exp. 3)

The only difference between bonito fish and tunny fish insulin was found in the N-terminal, alanine in the former and valine in the latter.

(昭和38年5月31日受付)

## インシュリンの薬化学的研究 (第 31 報)\*

## Crystal TA の N- および C- 末端アミノ酸について

西 崎 笹 夫

著者らは市販カツオおよびマグロ類・インシュリンから数種の結晶性たん白質を単離したが<sup>1)~3)</sup>, マグロ類・インシュリンから得た3種の結晶 (Cryst. TA, Cryst. TB および Cryst. TC) はいずれもインシュリンの生理作用をほとんど認めなかった。それらのうち Cryst. TA については若干の生理的および物理化学的性質を報告し<sup>2), 4), 5)</sup>, さらにその N- 末端アミノ酸を定性的に分析した<sup>6)</sup>。

今回著者は Cryst. TA について, DNP- 法によって N- 末端アミノ酸を (実験 1), ヒドラジン分解法によって C- 末端アミノ酸を (実験 2) 定量的に分析した結果を報告する。

## 実 験 の 部

## 実験 1. Cryst. TA の N- 末端アミノ酸の定量

DNP-Cryst. TA 5.0 mg をとり, 第 30 報<sup>7)</sup> で述べたとまったく同じ条件と操作に従って N- 末端アミノ酸を定量した。その実験結果を Table 1 に示す。ただし, この結晶性たん白質が, インシュリンと何らかの関連性があるものと予想し, 仮りに分子量の同じ 6,000 と仮定して各 N- 末端アミノ酸のモル数を算出した。

Table 1. N-terminal amino acid residue content\* (mole/mole) of Cryst. TA by dinitrophenylation.

DNP-Ileu	DNP-Val	DNP-Gly	DNP-Ser	DNP-Asp
0.15	0.23	0.32	trace	trace

\* These values were corrected by the recovery co-efficient cited from Table 1 in the previous paper<sup>7)</sup>.

## 実験 2. Cryst. TA の C- 末端アミノ酸の定量

著者は第 29 報<sup>8)</sup> においてヒドラジン分解法によってインシュリンの C- 末端アミノ酸を分析した際, その濾紙クロマトグラム上のスポットはテイリングしやすく, そのほか若干の C- 末端アミノ酸以外の DNP- 化合物と思われるスポットをしばしば検出することがあった。そこで今回は赤堀ら<sup>9)</sup> によって改良

されたヒドラジン分解法を適用し, 濾紙クロマトグラフィは二次展開を行なった。

1) ヒドラジン分解操作 Cryst. TA 2.76 mg に無水ヒドラジン 0.2 ml を加え, 100° に 6 時間保ったのち, 硫酸デシケーター中で 24 時間減圧にして, 未反応のヒドラジンを除去した。この反応物全量に水 1 ml を加え, さらにベンズアルデヒド 0.2 ml を加えて共せん付き遠沈管中で 2 時間よく振り混ぜたのち, 上澄液を定量的に分取し, 炭酸水素ナトリウム溶液を加えてアルカリ性とし, DNFB を含むエタノール溶液 2 ml を加えて 2 時間 DNP- 化反応を行なった。反応後水 20 ml を加え, さらに 2 N- 塩酸を加えて酸性とし, 酢酸エチル 20 ml を用いて 2 回抽出し, 抽出液に 2 倍量のエーテルを加え, さらに 2%

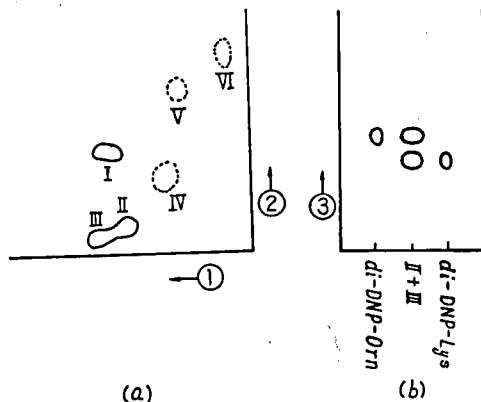


Fig. 1. (a) The paperchromatogram of DNP-compounds in the hydrazinolysate of Cryst. TA (hydrazinolysed for 6 hr) (b) The paper chromatogram of II and III spots isolated from (a)

I : Dinitrophenol II : di-DNP-Orn III : di-DNP-Lys IV : DNP-Gly V : DNP-Ser VI : DNP-Asp

Developer ① n-Butanol saturated with 10% ammonia water

② 1.5 M-phosphate buffer (pH 6.0)

③ n-Butanol : isoamylalcohol : ethanol : pH 5.05 of buffer (consists of potassium biphthalate and sodium hydroxide)

[30 : 30 : 11 : 45]

炭酸水素ナトリウム溶液 50 ml を用いて抽出し、抽出液を酸性としたのち、酢酸エチル 15 ml を用いて 2 回抽出した。酢酸エチルを減圧で留出したものを沪紙クロマトグラフィーの試料とした。

ii) 沪紙クロマトグラフィー 東洋沪紙 No.51 の角型 (40×40 cm) を用い、1 次元はアンモニア水を飽和したブタノールを、2 次元は 1.5 M-リン酸緩衝液 (pH 6.0) を用いて上昇展開し、スポットの定量は第 30 報<sup>7)</sup> に述べた方法に準じた。その沪紙クロマトグラムを Fig. 1 (a) に示す。また di-DNP-Orn と di-DNP-Lys のスポットを再確認するため、比色定量に用いた液を塩酸酸性とし、エーテルを用いて抽出し、抽出液を第 29 報<sup>7)</sup> の方法によって再クロマトグラフィーを行なった。その沪紙クロマトグラムを Fig. 1 (b) に示す。

### iii) ヒドラジン分解の補正および実験結果

単体の Lys, Arg それぞれ約 1 μmol をとり、前述のヒドラジン分解法とまったく同じ操作によって得られた DNP-アミノ酸を定量して回収率を求めて (Table 2,\* 参照) 補正を行なった。その実験結果を Table 2 に示す。

Table 2. C-terminal amino acid residue content\* (mole/mole) of Cryst TA, by hydrazinolysis.

di-DNP-Lys	di-DNP-Orn	DNP-Gly	DNP-Ser	DNP-Asp
0.62	0.38	trace	trace	trace

\* These values were corrected by the recovery co-efficient shown in following. Lys: 0.25 Arg: 0.21 (as di-DNP-Orn)

### 考察とむすび

Cryst. TA の N- および C- 末端アミノ酸を定量的に分析した。

N- 末端アミノ酸については、Ileu, Val および Gly を認め、それらの定量値をマグロ・インシュリン (第 30 報参照) のそれと比較するとき、1/2~1/3 に当たる。また第 27 報において報告した Ser と Asp は定量の結果、きわめて微量であることを知った。

C- 末端アミノ酸については、Arg (di-DNP-Orn として検出) と Lys を認め、その定量値は N- 末端のそれより明らかに大きい。またこれらのほか C- 末端に Asp (NH<sub>2</sub>) が存在しないとはいえない。なお N- 末端における Val/Ileu=1.5, C- 末端における Lys/Arg=1.6 で、両者の比率がほぼ一致することは、第 30 報<sup>7)</sup> の結果と関連して考えるとき、マグロ・イン

シュリンの化学構造が N- 末端アミノ酸として Val を有する鎖の C- 末端アミノに酸 Lys が、また N- 末端アミノ酸として Ileu を有する鎖の C- 末端アミノ酸に Arg が存在するのであろう。要するに Cryst. TA は生理的には不活性であるが、その N- 末端および C- 末端アミノ酸は、C- 末端に Asp (NH<sub>2</sub>) が存在するものと仮定すればマグロ・インシュリンと一致しているとも想像できることは興味深い。ただし N- 末端アミノ酸の定量値がマグロ・インシュリンのそれよりも小さい値を示すことが明らかな相違点である。

終わりに臨み、本研究に終始御指導と御鞭達を賜わった生物化学部長長沢佳熊博士に深謝する。また本研究の一部は大阪大学蛋白質研究所教授成田耕造博士のもとで行なった。種々有益な御助言を戴いた同教授に謹謝の意を表す。

### 文 献

- 1) 長沢佳熊, 西崎笹夫, 平岡 孝, 深沢真司: 衛生試報, 75, 95 (1957)
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: *ibid*, 76, 213 (1958)
- 3) 長沢佳熊, 西崎笹夫, 竹中祐典, 本間輝武, 平岡 孝: *ibid*, 76, 217 (1958)
- 4) 長沢佳熊, 西崎笹夫, 佐藤 浩, 白井浄二: *ibid*, 76, 321 (1958)
- 5) 西崎笹夫: *ibid*, 77, 435 (1959)
- 6) 長沢佳熊, 西崎笹夫: *ibid*, 77, 209 (1959)
- 7) 西崎笹夫: *ibid*, 81, 30 (1963)
- 8) 西崎笹夫: *ibid*, 77, 219 (1959)
- 9) 水島, 赤堀編: 蛋白質化学, IV, p. 253 (1956), 共立出版

### Summary

Pharmaceutical and Chemical Studies on Insulin. XXXI. On N- and C-Terminal Amino Acids of Cryst. TA. Sasao NISHIZAKI

N- and C-terminal amino acid residues of Cryst. TA were determined by dinitrophenylation and by hydrazinolysis quantitatively, and the results were following.

0.15 mole of isoleucine, 0.23 mole of valine, 0.32 mole of glycine and trace of serine and aspartic acid were found as N-terminal amino acids, and 0.62 mole lysine, 0.38 mole of arginine and trace of glycine, serine and aspartic acid were found as C-terminal.

(昭和38年5月31日受付)

## 卵 胞 ホ ル モ ン の 研 究 (第 13 報)\*

## ク リ ー ム 中 の エ ス ト ロ ン の 比 色 定 量 法

長 沢 佳 熊 ・ 越 村 栄 之 助 ・ 木 村 俊 夫

化粧品に使用を許可されている卵胞ホルモンおよび合成発情物質はエストロン、エストラジオール、エストラジオールのエステル、エチニルエストラジオール、ジエチルステルベストールおよびヘキセストールで、その含量はクリームでは 1g 中に 50 $\mu$ g 以下、液状の製品では 20 $\mu$ g 以下と規定されている。著者ら<sup>1)</sup>は前に幼若ラットの子宮重量法によるクリーム中の卵胞ホルモンの定量法を報告したが、今回はエストロンの化学的定量法について報告する。

ホルモンの種類の確認は第 8 報<sup>2)</sup>で述べた Bush<sup>3)</sup>の方法により、標準品の Rf 値と比較して行なった。クリーム中のエストロンを定量するには日局の安息香酸エストラジオール注射液の定量法<sup>4)</sup>を改変した方法で抽出、精製した。さらに Brown<sup>5)</sup>の方法により、ヒドロキノン Kober 試液を用いて吸光度を測定し、Allen<sup>6)</sup>の補正式を用いて補正值 (E) を求めた。試料およびエストロン標準品を用いて同時に操作し、2-2 用量検定法<sup>7)</sup>により計算を行なった。その抽出、精製による回収率は約 73% であった。

## 第 1 図

クリーム (約 1g)  
 | クロロホルム 15 ml と煮沸、冷後通過、クロ  
 | ロホルム 5 ml で洗う  
 クロロホルム溶液  
 | クロロホルムを留去  
 残 留 物  
 | イソオクタン 20 ml に溶かす  
 イソオクタン溶液  
 | 70% エタノール 10 ml ずつで 4 回抽出  
 エタノール溶液  
 | エタノールを留去、水を加えて 20 ml とする  
 水 溶 液  
 | ベンゼン 10 ml ずつで 4 回抽出  
 ベンゼン溶液  
 | 5% 炭酸ナトリウム液 5 ml, 水 5 ml で洗い、  
 | ベンゼンを留去  
 残 留 物

## 実 験 の 部

試料 密ろう 16.0, 流動パラフィン 50.0, ホウ砂 1.0, 水 33.0 を乳化したコールドクリームでヒノキ新薬株式会社から提供されたものに、エストロン標準品を加えた。

## 1. クリームからエストロンの抽出および精製

エストロンであることを確認したのち、第 1 図の方法で行なった。

残留物をエタノールに溶かし、その一定量を取り試料とする。

2. 発色操作 試料を試験管にとり、エタノールを留去し、ヒドロキノン Kober 試液 2 ml を加え 100° で 20 分間加熱、加熱を始めてから 5 分後に一度ふりまぜる。5 分間氷冷し、水 0.25 ml を加えさらに 5 分間 100° で加熱、氷冷後 30% 硫酸 5 ml を加え振り混ぜる。分光光度計を用いて、波長 515 m $\mu$  におけるエストロン呈色物の吸光度 (E<sub>515m $\mu$</sub> ) および 480 m $\mu$ , 550 m $\mu$  における吸光度 (E<sub>480 m $\mu$</sub> , E<sub>550 m $\mu$</sub> ) を測定し、Allen の補正式で E を求めた。

3. エストロンの定量範囲 エストロン標準品 1.25~35 $\mu$ g について測定したところ、エストロン 1.25~20 $\mu$ g の間で用量と吸光度とが直線関係を示した。

4. クリームについての呈色試験 試料クリーム約 1g をとり第 1 図の方法で得た残留物について発色させ吸光度を測定した結果 (第 1 表) 呈色しない。

第 1 表

クリーム量 (g)	E <sub>480m<math>\mu</math></sub>	E <sub>515m<math>\mu</math></sub>	E <sub>550m<math>\mu</math></sub>	E
0.05	0.035	0.030	0.020	0.002
0.1	0.045	0.038	0.028	0.001
0.2	0.058	0.050	0.038	0.002

5. クリーム中のエストロンの定量 1g 中にエストロン標準品 50 $\mu$ g を含有するクリーム 1g を用い、第 1 図の方法により得た残留物をエタノール 2 ml に溶かしてその一定量を取り、その想定力価を 75%

\* 第 12 報は長沢佳熊, 越村栄之助: 衛生試験, 77,313(1959)  
 本報告の一部は第 17 回日本薬学会 (昭38.4.9) にて発表。

第 2 表

番 号	標 準 品 お よ び 試 料	E 480 m $\mu$	E 515 m $\mu$	E 550 m $\mu$	E
S <sub>1</sub>	エストロン標準品 1.875 $\mu$ g	0.042	0.062	0.010	0.036
S <sub>2</sub>	” 3.75 ”	0.072	0.112	0.025	0.064
S <sub>3</sub>	” 7.5 ”	0.110	0.195	0.030	0.125
T <sub>1</sub>	ク リ ー ム 0.05 g	0.068	0.088	0.040	0.034
T <sub>2</sub>	” 0.1 ”	0.092	0.134	0.047	0.064
T <sub>3</sub>	” 0.2 ”	0.150	0.230	0.068	0.121

としてエストロン標準品をとり、これらを同時に発色させ、その吸光度を測定した結果を第 2 表に示す。

第 2 表から S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> を用いて 2-2 用量検定を行なうとつぎのようになる： $E = (T_3 - T_2 + S_3 - S_2) / 2 = 59$ ,  $F = (T_2 + T_3 - S_2 - S_3) / 2 = -2$ ,  $b = 59 / 0.3010 = 196$ ,  $M = -2^2 / 196 = -0.0102$ ,  $R = \text{antilog } M = 0.9769$ , 回収率  $= 0.9769 \times 75\% = 73\%$  S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> を用いて検定を行なったときの回収率も約 73% であった。

### む す び

クリーム中のエストロンをクロロホルムを用いて抽出し、イソオクタンと 70% エタノール、水とベンゼンなどにより精製する。ヒドロキノン Kober 試液で発色させ、分光光度計で吸光度を測定し、Allen の補正式を用いて補正する。本法によりクリーム中のエストロンの定量ができる。

### 文 献

- 1) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 衛生試験報, 73, 17 (1955)

- 2) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 衛生試験報, 73, 11 (1955)
- 3) I. E. Bush: *Biochem. J.*, 50, 370 (1952)
- 4) 第 7 改正日本薬局方 (第 1 部), p. 42 (昭 36)
- 5) J. B. Brown: *J. Endocrinol.*, 8, 196 (1952)
- 6) W. M. Allen: *Endocrinol.*, 10, 71 (1950)
- 7) 長沢佳熊: 薬学大全書補遺 10, p. 145 (昭 28), 立川図書

### Summary

Studies on Follicular Hormones. XIII. Quantitative Analysis of Estrone in Cream by Colorimetric Method Kakuma NAGASAWA, Einosuke KOSHIMURA and Toshio KIMURA

Estrone in cream is extracted with chloroform and is purified using isooctane-70% ethanol and water-benzene. The optical densities of hydroquinone-Kober color products are determined by a spectrophotometer. Allen's correction equation is applied to these values. This colorimetric method is useful for an assay of estrone in cream.

(昭和 38 年 5 月 31 日 受付)

## 薬剤耐性因子の伝達におよぼす培地の影響

岩原 繁雄・小島 満子

著者らは混合培養による耐性伝達にさいして、どのような条件で培養された菌を混合に使用するかということが伝達頻度に大きな影響をおよぼすことを重視し、菌の培養時間との関連性についてはすでに報告した<sup>1)</sup>。本報においては種々の培地で培養した菌を混合に用いたばあい、同一条件で培養された菌を種々の培地中で混合したばあい、および抗生物質の存在下で混合培養を行なったばあいの耐性伝達性について報告する。

### 実験材料および方法

菌株：*Shigella flexneri* 2b 103 (donor) および *Escherichia coli* 25 (recipient)。

前者は Chloramphenicol (CM), Tetracycline (TC), Streptomycin (SM), Sulfonamide (SA), のすべてに対して耐性。後者はこれらの薬剤のすべてに対して感性。

培地：Table 1 に示す7種の培地を用いた。

Table 1. 実験に使用した培地

1. Brain heart infusion (Difco)
2. Heart infusion broth (Difco)
3. Nutrient broth (Difco)
4. ブイヨン (ポリペプトン 1%, 極東エールリッヒ肉エキス 1%, 食塩 0.3%)
5. 酵母エキスブイヨン (ブイヨン+オリエンタル酵母エキス 0.5%)
6. 心ペプトンブイヨン (ブイヨン中のポリペプトンの代わりに心ペプトンブイヨンを用いたもの)
7. 肝ブイヨン (ウサギ肝浸出液, ポリペプトン 1%, 食塩 0.5%)

混合培養および耐性菌の選択法：既報<sup>2)</sup>の方法によった。

### 実験結果

1) 上にのべた7種の培地で donor および recipient を 37°, 20 分混合培養した。結果は Table 2 のとおりで、耐性伝達頻度をもっとも高かったのは心ペプトンブイヨンで、逆に肝ブイヨンおよび Brain heart infusion のばあい耐性伝達頻度はいちぢるしく低かった。その他の培地についてはほぼ同程度の伝達が

みられた。

Brain heart infusion 培養菌が伝達頻度が低いことの原因が donor, recipient いずれの側にあるかを明らかにするため、ブイヨン培養菌と組み合わせて混合培養を行なったが、いずれか一方の菌がとくに影響が大きいという結果はえられなかった。また donor (*Shi. flex.* 2b 103) の増殖については Brain heart infusion, 肝ブイヨン, 酵母エキスブイヨンのばあいに良好であった。recipient (*E. coli* 25) の増殖については一般に培地による差が少なかったが、この3種の培地と心ペプトンブイヨンのばあいに良好であった。

Table 2. 7種の培地での培養菌をそのまま混合培養したばあい(37°, 20)

	耐性伝達頻度		混合培養終了時の生菌数 / ml	
	donor 1個あたり	recipient 1個あたり	donor ( <i>Sh. flex.</i> 2b 103)	recipient ( <i>E. coli</i> 25)
1	$1.3 \times 10^{-6}$	$1.1 \times 10^{-6}$	$4.7 \times 10^8$	$5.3 \times 10^8$
2	$3.5 \times 10^{-5}$	$1.7 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^8$	$2.3 \times 10^8$
3	$3.4 \times 10^{-5}$	$7.0 \times 10^{-6}$	$4.7 \times 10^7$	$2.3 \times 10^8$
4	$3.4 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-5}$	$9.0 \times 10^7$	$3.1 \times 10^8$
5	$4.0 \times 10^{-5}$	$1.6 \times 10^{-5}$	$2.5 \times 10^8$	$6.2 \times 10^8$
6	$1.0 \times 10^{-4}$	$2.4 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^8$	$5.1 \times 10^8$
7	$3.0 \times 10^{-7}$	$1.5 \times 10^{-7}$	$2.7 \times 10^8$	$5.3 \times 10^8$

2) donor および recipient をブイヨンを用いて別々に 37°, 18 時間静置培養したもの 1 ml ずつを上へのべた培地 8 ml に加え、37°, 20 分振とう混合培養した (Table 3)。このばあいには7種の培地についての耐性伝達頻度にいちぢるしい差はみられなかった。

Table 3. ブイヨン培養菌を7種の培地に加えて混合培養したばあい(37°, 20)

培地	耐性化 recipient 数 / ml
1	$2.1 \times 10^3$
2	$2.9 \times 10^3$
3	$5.1 \times 10^3$
4	$3.9 \times 10^3$
5	$4.0 \times 10^3$
6	$7.1 \times 10^3$
7	$2.9 \times 10^3$

た。

3) 肝ブイオン培養菌を用いたばあい耐性伝達が不良であることの原因を明らかにするため二三の実験を行なった。

実験 1) の培地ではウサギ肝浸出液を用いたがこれを牛肝に代えたばあいにも同様の成績がえられた。

つぎに肝ブイオンまたはブイオン中で種々の時間振とう培養した菌を混合し耐性伝達頻度を求めた結果、60 分培養菌については著明な差はみられなかったが、28<sup>o</sup> 分培養菌を混合したばあいには肝ブイオン培養菌はブイオン培養菌にくらべて耐性伝達頻度がいちぢるしく低かった (Table 4)。

Table 4. 各種培養時間の菌を混合培養したばあい (37<sup>o</sup>, 20 分)

培地	混合培養に用いた菌の振とう培養時間		
	60分	120分	280分
ブイオン	$9.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^3$	$7.1 \times 10^4$
肝ブイオン	$4.0 \times 10^2$	$6.8 \times 10^2$	$1.4 \times 10^3$

表中数字は耐性化 recipient 数/ml

4) CM, TC または SM 存在での耐性伝達。

ブイオンを用いて 37<sup>o</sup>, 18 時間静置培養した donor および recipient を種々の濃度の CM, TC または SM を加えたブイオン中で振とう混合培養したばあいの耐性伝達頻度は Table 5 のごとくで、CM 200 μg/ml あるいは TC 200 μg/ml という高濃度の薬剤の存在下でもかなりの程度に耐性伝達がみられた。

このばあい選択培地として CM 10 μg/ml を用いた

Table 5. 抗生物質存在下における耐性伝達

選択培地→ 混培時間 抗生物質の 濃度↓	CM10μg/ml (ドリガルス キー)	CM200μg/ml (ドリガルスキー)	
	30分	30分	90分
0	$4.4 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$	—
20μg/ml	$2.6 \times 10^4$	$3.1 \times 10^3$	—
CM 50μg/ml	$1.8 \times 10^4$	$9.0 \times 10^2$	—
200μg/ml	$1.0 \times 10^4$	$2.0 \times 10^1$	$7.8 \times 10^2$
0	$8.5 \times 10^4$	$9.4 \times 10^3$	$1.5 \times 10^5$
TC 200μg/ml	$1.4 \times 10^3$	<20	$1.5 \times 10^3$
0	$3.9 \times 10^5$	—	—
10μg/ml	$2.2 \times 10^5$	—	—
SM 20μg/ml	$1.2 \times 10^5$	—	—
50μg/ml	<20	—	—
100μg/ml	<20	—	—

表中数字は耐性化 recipient 数 /ml

ばあいの方が CM 200 μg/ml のばあいよりも多数の耐性菌が検出された。しかし SM のばあいには 50 μg/ml 以上の濃度では耐性伝達のみとめられなかった。なお SM 50 μg/ml 以上の濃度では recipient (E. coli) が短時間で死滅するという結果がえられた。

### 考察およびまとめ

種々の培地で培養した菌を、そのまま混合培養したばあいには、肝ブイオンおよび Brain heart infusion がとくに伝達頻度が低かった。しかしブイオン培養菌をこの 7 種の培地中で混合培養したとき培地による差が少なかったことからみて、肝ブイオンや Brain heart infusion そのものが耐性伝達抑制作用を有しないことは明らかである。一方これらの培地は donor に対してもまた recipient に対しても菌の増殖の面からはすぐれた培地であって、他の培地にくらべ菌濃度が短時間で最高に達するという結果がえられた。また肝ブイオンで短時間 (60 分) 振とう培養した菌では耐性伝達がよく行なわれるが、長時間 (280 分) 培養菌では伝達能が悪いことから考え、これらの培地では菌体が比較的短時間で老化し耐性伝達性を失うものと考えられる。このさい donor または recipient いずれか一方における変化がとくに耐性伝達に大きな影響をおよぼすという現象はみとめられなかった。

CM 200 μg/ml または TC 200 μg/ml といった高濃度に抗生物質を加えたばあいにもかなりの頻度に耐性伝達のみられたことは興味ある現象で、治療の目的で抗生物質を投与中の腸管内でも耐性伝達が行なわれる可能性を示すものであろう。われわれがすでに報告<sup>3)</sup>したように、CM 耐性の発現にはある程度の時間を必要とし、また CM の存在によって phenotypic expression が抑制されるので、混合培養時に加える CM の濃度が高ければ高いほど、また選択培地中の CM 濃度が高いほど、検出される耐性菌数が少ないのは当然であるが、菌と菌との接合が抗生物質の存在によって抑制されるかどうかという点は今後に残された問題である。

### 文 献

- 1) 岩原繁雄, 秋葉朝一郎: 医学と生物学, 60, 45 (1961)
- 2) 秋葉朝一郎, 岩原繁雄: 日本医事新報, 1886, 3 (1960)
- 3) 岩原繁雄, 秋葉朝一郎: 医学と生物学, 62, 17 (1962)

### Summary

**The Influence of Culture Media on the Drug-resistance Transfer of Bacteria** Shigeo IWAHARA and Michiko KOBATAKE

Seven culture media were used in the experiment of drug-resistance transfer of bacteria.

The efficiency of drug-resistance transfer varied greatly according to the media used. When mixed culture was made under the presence of high concentration of antibiotics (200g/ml of chloramphenicol or 200g/ml of tetracycline), resistance transfer was observed.

(昭和38年5月31日受付)



## 赤外吸収スペクトル測定における二、三の工夫

大場 琢磨・河端 五郎

赤外吸収スペクトル測定に際して、われわれが日常使用して便利なサンプリングをここに二、三紹介する。

1. KBr 錠剤法により微量の試料を測定するときには集光装置（主に赤外顕微鏡と呼ばれているもの）を用いる方法<sup>1)</sup>と集光装置を用いないで金属板による方法<sup>2)</sup>とがある。前者は非常に高価であり、後者は試料がはみ出して損失が多いなどの欠点がある。

筆者らは昭和 37 年まで、錠剤の直径 20 mm の光研型錠剤成型器を使用していたので、試料 2~3 mg に対して KBr 粉末 700 mg を必要としていた。この場合微量の試料で測定できる方法を考案した。すなわち光源からの光束が試料にあたる時、その中心の有効部分に試料を集めることを試みて好結果をえた。その方法はたとえば試料としてイソニコチン酸ヒドラジドメタンスルホン酸ナトリウム (INHS) 0.2 mg を用いた場合、500 mg の KBr 粉末のみを成型器に入

れ、その中心に長方形（約 4×10 mm）の穴を明け（Fig. 1 参照）その穴の中に残りの KBr 粉末 200 mg と試料 0.2 mg をよくまぜたものを入れ、平ら

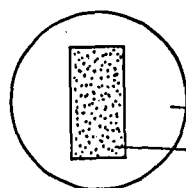


Fig. 1.

にならしたのち常法により加圧成型する。このようにしてえた錠剤は Fig. 1 のようなものとなり、これを測定してえたスペクトルは Fig. 2 の B で示した。Fig. 2 の A は同じ試料 3 mg を 700 mg の KBr 粉末と均一にまぜて作った錠剤を測定してえたスペクトルであるが、この両者を比較すると試料は  $\frac{1}{6}$  以下であるのに対してスペクトルの強さは  $\frac{1}{2}$  以上であるという好結果をえた。筆者はこの方法を集中法と名づけた。

昭和 38 年になり直径 10 mm の成型器を購入した

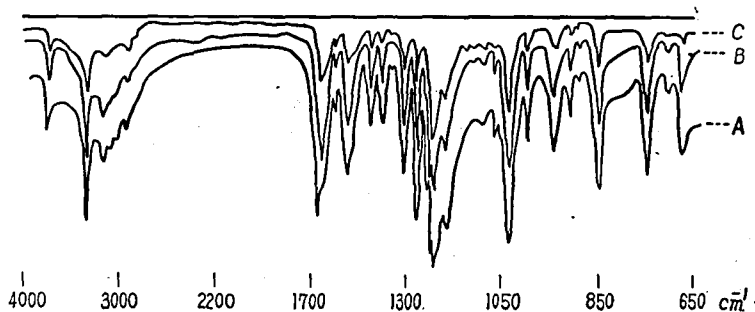


Fig. 2. イソニコチン酸ヒドラジドメタンスルホン酸ナトリウムの赤外吸収スペクトル

A—3 mg 普通法, B—0.2 mg 集中法, C—0.05 mg 集中法

ので、これを使用し同様の試みを行なった。普通試料 1 mg に KBr 粉末 200 mg をまぜて成型するが集中法では 150 mg の KBr 粉末をまず入れ、長方形（約 3×6 mm）の穴をつくり、ここに試料と KBr 粉末 50 mg をまぜて入れ、平らにならしてから常法により加圧成型を行なった。Fig. 2 の C はこの新しい成型器を用い試料 0.05 mg を用いたスペクトルである。

INHS の  $1038\text{ cm}^{-1}$  の吸収 (S=O の対称伸縮振

Table 1. 普通法と集中法の吸光度の比較

方 法	試 料 (INHS) mg	KBr の 全量 mg	$1038\text{ cm}^{-1}$ の吸光度
普通法	3.0	700	0.75
集中法	0.2	"	0.44
普通法	0.2	200	0.31
"	0.05	"	0.10
集中法	0.1	"	0.30
"	"	"	0.20
(上記錠剤を $90^\circ$ 回転したとき)	"	"	0.20
"	0.05	"	0.22

Takuma OBA and Gorō KAWABATA: Some Convenient Sampling Techniques on Infrared Spectrometry

動)における吸光度をベース・ライン法により測定した結果を Table 1 に示した。ベース・ラインは  $1400\text{ cm}^{-1}$  と  $930\text{ cm}^{-1}$  の吸収位置を結んだ直線を用いた。

同様な試みをデハイドロ酢酸、安息香酸およびアルドリンを試料として行ない、それぞれ  $0.05\text{ mg}$  までは十分に検知できることを確認した。

田村ら<sup>3)</sup>は微量試料の KBr 錠剤法で、感度 (gain) をあげ、駆動速度を遅くし吸光度を大としているが、あまり gain をあげると noise の増大をきたし悪い結果となった。また直径  $2\text{ mm}$  の穴をあけているが、この状態では透過率は 15% 位となり暗い光で測定しているという欠点がある。

2. 微量の試料を Nujol 法で測定する場合には乳鉢でまぜると、損失が多いので好ましくない。このようなとき、筆者らは試料を岩塩板上にのせ、ガラスの毛細管にクロロホルムなどの溶媒を入れ、その少量を試料に加えて溶解させる。この溶媒を蒸発させたのち、別のガラス毛細管から流動パラフィンを少量これに加え、他の岩塩板をのせてすり合せて測定する。この方法の利点は試料が溶媒により一度溶かされているため微粉末状となって適当に拡がっているため、Nujol によって、透明度のよい状態とすることができる。またフラスコの器壁に付着した微量の試料もこの

方法を応用して測定が可能である。

3. 水溶性の樹脂(たとえばポリビニルアルコール)を測定するとき、普通その水溶液を塩化銀または KR S の板にぬって乾燥後測定する。このような特殊な板がないときには、可撓性のある合成樹脂板にその水溶液をぬり乾燥後その可撓性を利用して被膜をはく離することが可能である。

4. 合成樹脂などの溶剤に溶けている試料は直接岩塩板にうすくぬりつけ、これをヘヤードライヤーを利用して熱風を送り、溶媒を十分に揮散させたのち、この岩塩板をそのまま光路において測定する。測定終了後岩塩板上の樹脂は MEK などを用いて簡単にふきとることができる。

(昭和 38 年 6 月, 分析化学討論会にて発表)

## 文 献

- 1) M. Sparagana, W. B. Mason; *Anal. Chem.*, **34**, 242 (1962)
- 2) 坪井正道, 相沢一行, 田所宏行, 遠家清明: 化学の領域, 増刊 43 号, 赤外線吸収スペクトル第 12 集, 31 (1961)
- 3) 田村善蔵, 二宮美保子, 鈴木文子, 知久政男: 分析化学, **12**, 372 (1963)

(昭和 38 年 5 月 5 日 31 受付)

## 解熱鎮痛剤中のフェナセチンの定量法の改良

辻 章 夫・中 村 晃 忠

医薬品製造指針に記載されているフェナセチンの定量法について<sup>1)</sup>検討したところ、かなりデータにバラツキがあり、満足すべき結果が得られなかった。バラツキの原因はフェナセチンの加水分解物である。p-フェネチジンのジアゾ化速度が遅いため<sup>2)</sup>と推定された。そこでジアゾ化反応を促進完結させるために臭化カリウム溶液を添加することによって所期の目的を達した。過剰の亜硝酸を分解するための操作を加えなかったが、改良法においては、検量線はよい再現性を示し、呈色は 2 時間以内で安定であった。ジアゾ化の時間は  $5 \pm 2$  分の間で呈色に変化を与えなかった。本法によれば、通常の解熱鎮痛剤に処方されている医薬品のうち、アセトアニリド、パラアセトアミノフェノールを除いて、他の混入は定量を妨害しない。検討した

混入物は、イソプロピルアンチピリン、カフェイン、アロパルピタール、アミノピリン、スルピリン、dl 塩酸メチルエフェドリン、塩酸チアミン、塩酸ジフェンヒドラミン、アリルイソプロピルアセチル尿素、アセチルサリチリ酸、ノスカピン、エトキシベンズアミドである。また、フェナセチン、パラアセトアミノフェノールの共存がなければ、この方法はアセトアニリドにも準用できる。ただし、測定波長は  $486\text{ m}\mu$  である。

### 改良法

#### 1) 検量線の作成

フェナセチン  $150\text{ mg}$  をとり、希硫酸  $20\text{ ml}$  を加えて還流冷却器を付し、直火で約 1 時間半煮沸し、加水分解する。冷後、 $200\text{ ml}$  をメスフラスコに移し、

水を加えて 200 ml とし，この 10 ml をとり 100 ml に希釈し，この溶液 1, 2, 3, 4, 5 ml を 50 ml のメスフラスコにとり，臭化カリウム液 (1→4) 5 ml を加え，水を 4, 3, 2, 1, 0 ml 加え，希塩酸 0.5 ml を加え，氷水中で充分冷却し，1% 亜硝酸ナトリウム液 0.5 ml を加えて，5 分間氷水中にふりまぜ，次に緩衝液\* 10 ml を加え，1% *β*-ナフトール・アセトン液 0.5 ml を加えて，15 分間放置し，アセトン 20 ml および水を加えて 50 ml とする。水を対照として波長 470 m $\mu$  における吸光度を測定し，検量線をかく。

\* 緩衝液：炭酸水素ナトリウム 5 g および水酸化ナトリウム 1 g を水に溶解して 100 ml とする。

#### 2) 定量法

フェナセチン約 100 mg に対応する試料を三角フラスコに精密に量り，クロロホルム 20 ml を加えて溶解させ，逕過して逕液を分液ロートにとり，三角フラスコ，逕紙，ロートをクロロホルム 10 ml ずつで

2 回洗い，洗液を逕液に合し，このクロロホルム層を 2 N 塩酸 20 ml ずつで 2 回抽出し，塩酸層を合せ，クロロホルム 10 ml ずつで 2 回抽出し，抽出液を前記のクロロホルム層に合し，水浴上，クロロホルムを留去する。残留物に希硫酸 20 ml を加え，直火で 1 時間半還流冷却器を付し，煮沸加水分解し，冷後，必要があれば逕過し，200 ml のメスフラスコに移し，水を加えて 200 ml とする。この液 10 ml をとり，100 ml に希釈し，この液 5 ml を 50 ml のメスフラスコにとり，以下検量線の作成に準じて操作し，検量線より含量を求める。

#### 文 献

- 1) 医薬品製造指針，p. 157，日本公定書協会 (1962)
- 2) 船久保英一：有機化合物確認法 下巻，p. 68 (1954)，養賢堂 東京

(昭和38年5月31日受付)

### 第七改正日本薬局方パラアミノサリチル酸カルシウム，パラアミノサリチル酸ナトリウムおよびその製剤の定量法について

辻 章 夫・中 村 晃 忠

第七改正日本薬局方収載のパラアミノサリチル酸類の定量法は種々の点で不完全であるので，水酢酸・塩酸の混液によってトリブrom体の沈殿の生成を抑え，臭化カリウム液を加えることによって，終末点における青色のもどりをとりのぞくことに成功した。この方法によると，終末点の判定は極めて容易になり，定量値もほぼ 100% に近づき，バラツキも小さくなった。また，英国薬局方，米国薬局方の定量法とも比較した。

#### 改良法

パラアミノサリチル酸ナトリウムを 105° で 5 時間乾燥し，その約 0.2 g を精密に秤り，100 ml のメスフラスコに入れ，水を加えて正確に 100 ml とする。この液 20 ml を正確に量り，ヨウ素ビンに入れ，正確に 0.1 N 臭素液 25 ml，臭化カリウム液 (1→4) 20 ml を加え，つぎに塩酸 4 ml，水酢酸 10 ml の混液をすみやかに加え，直ちに密栓して 10 分間放置する。これにヨウ化カリウム試液 6 ml を注意して加

え，おだやかにふりまぜ，5 分後，0.1 N チオ硫酸ナトリウム液で滴定する。(指示薬: デンプン試液 2 ml) 終末点は最初に青色の消失した点とする。同様の方法で空試験を行ない補正する。パラアミノサリチル酸カルシウムその他については，これに準ずる。

表1. 臭化カリウム液の量および放置時間の定量値への影響 (%)

KBr soln. 放置 時間 (min)	soln. (ml)			
	0	8	16	24
5	98.5 ( $\pm 0.1$ )	99.1 ( $\pm 0.2$ )	99.7 ( $\pm 0.1$ )	99.9 ( $\pm 0.2$ )
10	98.1 ( $\pm 0.3$ )	99.2 ( $\pm 0.2$ )	100.1 ( $\pm 0.3$ )	100.0 ( $\pm 0.1$ )
20	97.6 ( $\pm 0.3$ )	98.7 ( $\pm 0.2$ )	99.5 ( $\pm 0.2$ )	100.3 ( $\pm 0.1$ )
30	96.9 ( $\pm 0.3$ )	98.7 ( $\pm 0.3$ )	99.5 ( $\pm 0.1$ )	100.0 ( $\pm 0.2$ )

表 2. 製剤への応用

		定量値 (%)	局方規格 (%)
PAS-Ca	A	60.2 ± 0.1	58.4~62.0
	B	58.9 ± 0.1	
PAS-Na	C	100.5 ± 0.2	>99.0
	D	100.1 ± 0.2	
PAS-Ca 錠	E	101.7 ± 0.3	95.0~105.0
PAS-Ca 顆粒	F	96.3 ± 0.2	95.0~105.0
注射用 PAS-Na	G	100.4 ± 0.0	>99.0

表 3. B.P法, U.S.P法, J.P.VII法  
および改良法の比較

	指示薬	方法	定量値 (%)
B. P.	Starch Iodide Paper	臭素滴定 (N/2)	99.5/±0.8*1
U.S.P.	Starch Iodide Paste	ジアゾ滴定 (M/10)	100.2/±0.5*2
J.P.VII	澱粉試液	臭素滴定 (N/10)	114.7 ± 1.3*3
改良法	"	"	100.1 ± 0.2

\*1. \*2. 外部指示薬のために終点の判定に慣れを要する。

\*3. 終点を決めにくいので最初に青色の消えた点を終点とした。

試料は PAS-Na を使用

(昭和38年 5月31日 受付)

## 日本薬局方プロテイン銀定量法の検討

齋藤 恵美子

日本薬局方プロテイン銀の定量を行なったところ銀含量の規格値 7.5~8.5% よりつねに小さい実験値が得られた。この点について、銀の含量が 8.5% になるような試料を調製したものをを用い、つぎに示す 4 種の方法にしたがって、それぞれ定量した結果を報告する。

### 試験方法

1. 第七改正日本薬局方 (J.P. VII) 定量法 (J.P. VI も同じ)
2. 第七改正日本薬局方 (J.P. VII) の一部改良法  
本品約 2g を精密に量り、ろつぼにとり、硫酸 2 ml を加え、はじめ小火炎で加熱したのち、電気炉で約 600°, 30~40 分加熱する。冷後水 10ml を加え、よくかきまぜ水浴上で蒸発乾固し、硫酸 1 ml を加え加熱する。この操作を 3~4 回くり返し、ほとんど白色化したのち、硝酸 10 ml に溶解する。以下 J.P. VII 「プロテイン銀」の定量法を準用する。
3. 第五改正日本薬局方 (J.P. V) 定量法
4. そ解法

本品約 15g を精密に量り、200 ml の三角フラスコにとり、硝酸 30 ml を加えふりまぜ、硫酸 25 ml を注意して加え小火炎で加熱し、徐々に火炎を強める。必要ならばさらに硝酸 5 ml をくり返し加え、液が澄明になるまで加熱する。冷後水 50 ml を加え、

水浴上で 30 分間ときどき振りまぜ加熱し、尿素 0.2g を加えよく振りまぜたのち、過マンガン酸カリウム試液を液が持続する紫色を呈するまで滴下する。冷後、過酸化水素試液 (3%) で脱色し、0.1N テオシアン酸アンモニウム液で滴定する。(指示薬: 硫酸第二鉄アンモニウム試液 5 ml)

### 試験成績 (%)

	1	2	3	4	平均値
1. J. P. VII	6.45	6.50	6.37	6.54	6.47
2. J. P. VII の一部改良法	8.20	8.14	8.16	8.18	8.17
3. J. P. V 法	7.35	7.42	7.20	7.46	7.36
4. そ解法	8.48	8.48	8.49	8.49	8.49

### 考察

日本薬局方プロテイン銀の定量法を検討した結果、J.P. VII および J.P. V の定量法は、いずれも調製理論値より低い値を得た。これはプロテイン銀の製造に用いるたん白質中の塩素化合物が影響していると考えられる。J.P. VII の場合は、原料たん白質中にイオウおよび塩素化合物の存在が考えられるので、銀の定量値は低くなるものと思われる。J.P. V の場合は、硫酸および過マンガン酸カリウムで有機物を酸化したのち、硫酸第一鉄溶液で脱色する。この際塩化銀

の白色沈殿物をもとめる，したがって定量値も低い，この点硫酸と硝酸による溶解法はイオウおよび塩素イオンがのぞかれ，また滴定は容易で定量値にバラツキも比較的少ない．なおたん白質中の塩素については，製造原料として用いたアルブミンについて灰化して塩素イオンの定量を行なったところ約 1% あった．J. P. VII および各国公定書には，純度試験に塩化物の規定がないが，プロテイン銀の薬効の上からも，塩化

物の規定が必要と考えられるので，この点については検討中である．

本実験に際し，御指導を賜った山本医薬品部長，ならびに柴崎室長に厚く感謝し，また試料を提供していただいた東洋化学工業株式会社に謝意を表します．  
(昭和38年 5月31日 受付)

## 製剤中のグルクロン酸の定量

中島 辰己・吉村 淳・西本 喜重

グルクロン酸の定量については種々報告されているが<sup>1)</sup>，これらを製剤に応用した際，種々の障害を生じて必ずしも満足すべき結果がえられるとは限らない．石館ら<sup>2)</sup>はイオン交換樹脂を用いて体液中のグルクロン酸を分離し，定量を試みている．著者らは製剤中に少量配合されているグルクロン酸を定量するため，比較的感度の高いナフトレゾルシン法<sup>3),4)</sup>を用い呈色妨害物を除去するためにイオン交換樹脂を使用した．この方法により従来非常に困難であった糖類の配合されたグルクロン酸の定量を容易に行なうことができた．

### 実験結果

胃腸薬などの成分として比較的多量に配合されている炭酸水素ナトリウムの存在は，イオン交換樹脂で試料溶液の分離を試みる際，酸性液を溶出剤に用いると，炭酸ガスが発生して樹脂柱が切断され不都合である．この際試料溶液をあらかじめ強酸型の陽イオン交換樹脂で処理し，炭酸ガスを追い出すことにより，この影響を除きえた．ついで試料溶液を陰イオン交換樹脂アンバライト IRA 401 に吸着させ 1N 塩酸で溶出を試みたが製剤に応用した場合は原因不明の呈色妨害物が同時に溶出されて定量を困難にしたので，1N 塩化アンモニウム溶液を溶出剤に用いて妨害物を除くことができた．ビタミンCも同一フラクションに溶出される可能性が考えられるので，ビタミンCを混じてナフトレゾルシンで発色させ，グルクロン酸単独の場合と比較試験を行なったがほとんど影響はなかった．1N 塩化アンモニウム溶液でグルクロン酸を溶出する際若干の tailing が認められる (Fig. 1)．標準溶液と比較定量すれば実用上ほとんど差しつかえがないが，今後更に改良すべき点と思われる．ナフトレゾルシンによ

る呈色は反応時間 30 分，60 分，90 分により吸光度は 0.464, 0.480, 0.490 と若干の上昇が認められるが，測定時間の短縮のため反応時間を 30 分とした．呈色は 3 時間経過しても 580 m $\mu$  における吸光度は変化しなかった．Table 1 は市販のあるグルクロン酸製剤の処方である．これにしたがい模擬製剤を作り回収試験を行なったところ，ほぼ満足すべき結果を得た．

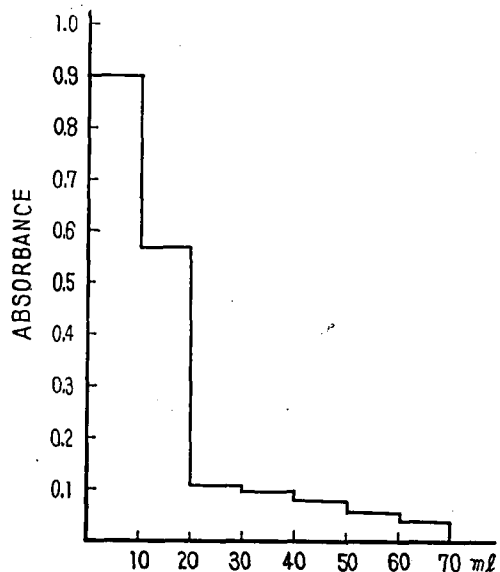


Fig. 1. グルクロン酸の 1N NH<sub>4</sub>Cl による溶出曲線

Table 1. 回収試験に用いた処方

グルクロン酸	0.025 g	ビオジアスターゼ	0.100
炭酸水素ナトリウム	2.287	レーメントール	0.002

沈降炭酸カルシウム	0.479	リパーゼ	0.100
ケイ皮	0.068	ロートエキス散	0.275
炭酸マグネシウム	0.600	パントテン酸カルシウム	0.030
ヤクチ	0.019	タウリン	0.010
シクシヤ	0.005	クエン酸カルシウム	0.003
ポリパーゼ	0.012	V. B <sub>1</sub>	0.003
フェカリジン	0.004	V. B <sub>2</sub>	0.002
ジアスターゼ	0.128	V. C	0.020
センブリ	0.005		

Table 2. 製剤中グルクロン酸の回収試験

試料グルクロン酸	回収グルクロン酸	回収率
20.0 mg	20.5 mg	102.5%
30.0 mg	31.0 mg	103.3%

**試薬** アンバライトXE-100: 市販品約 50 ml にメタノール性塩酸〔メタノール(試薬一級) 100ml に塩酸(試薬特級) 10 ml を加えたもの〕200 ml を加え、水浴上で30分加熱還流ののち、着色した上澄液を傾斜して除き、更に同様にメタノール性塩酸を加え、この操作を3回繰り返す、次に樹脂を適当なカラムに詰め、水、1N 塩化ナトリウム水、水、1N 水酸化ナトリウム液、水、1N 塩化ナトリウム水、水、1N 塩酸、水の順で各 500 ml ずつ流す。

アンバライト IRA-401: 市販品を粉砕し、100 mesh のもの約 50 ml をメタノール性塩酸で上記と同様に処理し、適当なカラムに詰め、水、1N 塩化アンモニウム液、水、1N 水酸化ナトリウム液、水、1N 塩化アンモニウム液、水、1N 塩酸、水の順で各 500 ml ずつ流す。

1%ナフトレゾルシン溶液: ナフトレゾルシン(メルク製分析用) 0.1g に水 10 ml を加え、よく振りまぜ、濾過して不溶物を除く。用時調製する。

1N 水酸化ナトリウム液: 局方品

1N 塩酸: 局方品

1N 塩化アンモニウム液: 塩化アンモニウム(局方品) 53.5g を水に溶かして 1L とする。

グルクロン酸標準液: グルクロン mp 174° 30 mg を水に溶解して 100 ml とし、その 10 ml を取り、50 ml に希釈して標準液とする。

トルエン: 試薬特級

エタノール: 99% 試薬特級

硫酸: 試薬特級

無水硫酸ナトリウム: 試薬特級

測定装置 日立分光光度計 EPU-2A 型

定量方法 試料(グルクロン酸約 30 mg に対応す

る量) を内容 100 ml の三角フラスコに秤り取り、水 40 ml を加え、5分間振り混ぜたのち、あらかじめ水で湿した濾紙で 100 ml のメスフラスコ中に濾過し、不溶物を水 10 ml で5回洗浄する。洗液を濾液に合わせ、水を加えて 100 ml とする。この 10 ml を 50 ml の三角フラスコ中に取り、アンバライト XE-100 4 ml を加え、5分間振り混ぜ、発生する炭酸ガスを完全に追い出したのち、50 ml のメスフラスコ中にガラスウールで濾過し、10 ml, 5 ml, 5 ml, 5 ml の水で洗い込み、水を加えて 50 ml とし、検液とする。別に分離用カラムとしてアンバライト IRA-401 5 ml を内径約 7~8 mm のカラムに詰め、1N 塩化アンモニウム液 100 ml, 水 200 ml, 1N 水酸化ナトリウム液 200 ml の順で通過させたのち、フェノールレッド試験紙で塩基性を呈しなくなるまで水洗する。このカラムを2本用意し、一方のカラムに標準液を、他方に検液を各 5 ml 加えて吸着させ、水 300 ml を加えて洗浄する。50 ml のメスフラスコを受器として 1N 塩化アンモニウム液で溶出するフラクション 50 ml を集め、よく振り混ぜたのち、各 5 ml, および 1N 塩化アンモニウム 5 ml をそれぞれ共栓試験管に取り、1% ナフトレゾルシン溶液 2 ml, 硫酸 2 ml, を加えてよく振り混ぜ、沸騰水浴中で、30分加熱反応させ、冷後エタノール 10 ml を加えて析出物を溶かし、更にトルエン 10 ml を加えて振り混ぜる。トルエン層を分取し、無水硫酸ナトリウム 1g を加えて時々振り混ぜ、30分後に濾過し、対照液には 1N 塩化アンモニウム液のみを処理したトルエン層を用い、580 m $\mu$  の吸光度を測定する。

#### 計算

$$G\% = 30 \times \frac{E'}{E} \times \frac{100}{S} \times 1.102$$

G% : グルクロン酸の%

E : 標準液の吸光度

E' : 試料液の吸光度

S : 試料の重量 (mg)

本実験に用いた試薬の一部はロート製薬の御厚意によった。感謝の意を表します。

#### 文献

- 1) 坂口武一: 医薬品の定量分析, p. 283(1959)
- 2) M. Ishidate and M. Watanabe: *Chem. Pharm. Bull.*, 7, 685(1959)
- 3) G. B. Mangham: *J. Biol. Chem.*, 126, 576(1938)
- 4) W. H. Fishman and S. Green: *J. Biol. Chem.*, 215, 527(1955)

(昭和38年5月31日受付)

## ネオビタミンA混在時のビタミンA定量法の選択\*

小川 俊太郎・小林 正

各国薬局方に収められているビタミンA (A, 単にAとしたときはAアルコールを示す) 定量法はいずれも Morton-Stubbs<sup>1)</sup> の三点補正を併用する紫外外部吸収スペクトル法であって USP XVI<sup>2)</sup>, BP<sup>3)</sup>, JP VII<sup>4)</sup> および DAB<sup>5)</sup> は試料不けん化物のイソプロパノール

溶液について 310, 325 および 334 m $\mu$  の吸光度を測定し, 補正係数を計算し, 試料の E 325 m $\mu$   $\times$  f  $\times$  換算係数 (F) より試料 1 g のAの国際単位量 (I. U.) を算出する方法を採用している. しかしFおよびfの計算式には Table 1. に示すような差異がある. した

Table 1. 各国薬局方の F および f

薬 局 方	F	f の 計 算 式
USP XVI, BP	1830	$6.815 - 2.555 \times E_{310}/E_{325} - 4.260 \times E_{334}/E_{325}$
JP VII	1900	$7 - 2.625 \times E_{310}/E_{325} - 4.375 \times E_{334}/E_{325}$
DAB	1830	〃

がって同一試料についてのA定量値が薬局方によって異なり非常に不便である. そもそも Morton, Stubbs法が薬局方に採用されたのは USP XIV (1950) が最初であり, この方法は現在の JP VII 法と同一であった. これは純Aの  $E_{1cm}^{1\%}$  (325 m $\mu$ ) が 1750 (イソプロパノール) であること, および  $E_{310}/E_{325}$ ,  $E_{334}/E_{325}$  がいずれも  $1/7$  であることを基礎にしたものである. しかしその後Aが純化された結果 all-trans A の  $E_{1cm}^{1\%}$  (325 m $\mu$ ) は 1820 であり,  $E_{310}/E_{325} = E_{334}/E_{325}$  は  $1/7$  ではなくて  $5.815/6.815$  である, という事実が明らかになったために 1958 年 USP XV の第2追補において改正が加えられ, 1960 年に現行の XVI へ正式に採用されたのである. また BP も 1960 年の追補で USP になった. これに対し JP VII が USP XVI 公布 (1960) 後の 1961 年に公布されながらあえて旧法の USP XIV 法を採用したのは (1) USP XIV 法より XVI 法に急に変わるとAの定量値は約 6% の過少評価をすることとなり, 市場が混乱するとA製造業者の強い要望があったこと, (2) USP XVI 法は all-trans A の恒数を基礎にした方法なので試料が all-trans A のみのときには正しい値を得るが, 肝油や製剤などしばしば 10~40% の neoA (13-cisA) を混有する試料では吸光値が過補正になる, との二つの理由によると聞いている. ただしわが国では (2) について実験的な裏付けは行なわれていない. なお DAB (1959) が USP XVI 法と JP VII 法との中間案を採

用している理由は不明で現在問い合わせ中というが, おそらく JP VII と同じような理由によるものと思う. 以上のような考察のもとにわれわれは純粋な all-trans A と neo A の適量を混合した試料を作成して定量し, どの方法が生物学的効力値に近い値を与えるかについて調べた.

## 実験材料

(1) 純 all-trans A アセテート結晶 国立衛生試験所ビタミンA油標準品の製造原料と同一の理研ビタミン油 KK の製品を使用.

(2) 純 neo A 結晶 住友化学 KK の製品を使用.

その他の試薬については JP VII を参照.

## 実験方法

純 all-trans A アセテート結晶を USP XVI 法にしたがってけん化し, 不けん化物のイソプロパノール溶液を作って定量 (all-trans A については USP XVI 法が正しい値を与えることに異論はない) して得た値より all-trans A が 2  $\mu$ g/ml (6.67 I. U./ml) となるように調製する. 別に純 neo A 結晶をイソプロパノールに溶かして 2  $\mu$ g/ml の溶液を作る. 両者を適量ずつ混合した検液について 310, 325, 334 m $\mu$ , の吸光度を測定し, USP XVI, JPVII, および DAB にしたがって定量を値算出する.

## 実験結果

過去の文献では neo A が全 A の 40% (重量) を

\* 本研究の要旨は第 83 回脂溶性ビタミン総合研究委員会にて報告, 詳細は雑誌ビタミンに投稿中. Shuntaro OGAWA and Tadashi KOBAYASHI: Comparison of Various Methods of Vitamin A Determination in the presence of Neovitamin A

Table 2. all-trans A+neo A 検液の A 定量値および f

all-trans A : neoA (重量比)	理論的 生物効力値 (%)	USP XVI 法		JP VII 法		DAB 法	
		定量値 (%)	f	定量値 (%)	f	定量法 (%)	f
10 : 0	100.0	100.8 (100.0)	1.008	107.5	1.035	103.4	1.035
9 : 1	97.5	98.4 (99.4)	0.990	105.1	1.018	101.2	1.018
8 : 2	95.1	96.2 (98.4)	0.978	102.6	1.004	98.8	1.004
7 : 9	92.6	92.1	0.942	98.4	0.968	94.6	0.968
6 : 4	90.1	90.1	0.926	96.0	0.951	92.5	0.951
5 : 5	87.3	86.8	0.903	92.7	0.928	89.2	0.928
0 : 10	75.3	72.5	0.805	78.4	0.830	75.5	0.830

注 1) 測定値は3回の平均による。

2) 定量値は all-transA を 100% としたときでの % 表わす。

3) USP XVI 法の定量値の ( ) 内の値は USP の  $0.970 \leq f \leq 1.030$  は  $f=1$  とするという規定を適用した値である。

超すことはないといわれているので all-transA : neo A の重量比が 10 : 0 ~ 5 : 5 になるように調製した検液および neo A のみの溶液について定量値および f 値を求めたところ Table 2 に示す通りの結果を得た。

Table 2 で得た定量値と neoA の生物学的効力値

Table 3. all-trans A+neo A 検液の定量値と理論的効力値との差

all-trans A : neo A	USP XVI 法 (%)	JP VII 法 (%)	DAB 法 (%)
10 : 0	+0.8 (0.0)	+7.5	+3.4
9 : 1	+0.9 (+1.9)	+7.6	+3.7
8 : 2	+1.2 (+3.3)	+7.5	+3.7
7 : 3	-0.5	+5.8	+2.0
6 : 4	0.0	+5.9	+2.4
5 : 5	-0.9	+5.0	+1.5
0 : 10	-2.8	+3.1	+0.2

注 USP XVI 法の ( ) 内の値は USP の  $0.970 \leq f \leq 1.030$  は  $f=1$  とするという規定を適用した値である。

を Ames にしたがって all-trans A の 75.3% として計算した理論的な生物学的効力値との過不足値を求めたところ Table 3 に示す通りであった。

### 結 論

Table 2, 3 の結果より考えて all-trans A のみのときはもちろん, all-trans A に neo A が混在しているときでも理論的な生物学的効力値にもっとも近似した値を与えた点で USP XVI 法が最適の定量法である。

本実験に対して試料を提供された理研ビタミン油株式会社および住友化学工業株式会社に深謝する。

### 文 献

- 1) R. A. Morton, A. L. Stubbs : *Analyst*, 71, 348 (1946)
- 2) The United States of Pharmacopeia, XVI, p. 938 (1960)
- 3) British Pharmacopeia, 1958, Addendum, 1960, p. 74
- 4) 厚生省 : 第7改正日本薬局方, 第1部, p. 204 (1961)
- 5) Deutsches Arzneibuch 6. Ausgabe, 1926, 3. Nachtrag, Kommentar, p. 59 (1959)

(昭和38年5月31日受入)



## クロロフェノール類中のPCPの分析

河合 聡・近藤 常功・時枝 妙子

近年ペンタクロロフェノール (PCP) のナトリウム塩 (PCP-Na) が除草剤として多量に使用され、魚貝類に対する毒性から社会問題にもなっている。その分析方法として全塩素法、中和法<sup>1,2)</sup>、銅塩法<sup>10)</sup>、クロラニルに酸化した後テトラパーゼ<sup>16)</sup>、やジフェニルパラフェニレンジアミン<sup>18)</sup> で発色させる方法、あるいは 2% NaOH で振り 40% 酢酸を加えて発色させる方法<sup>17)</sup>、ニトロ化法<sup>11)</sup>、メチレンブルー法<sup>9,10)</sup>、サフランニ-O 法<sup>9)</sup>、ポーラログラフ法<sup>12)</sup>、紫外線吸収法<sup>14)</sup> 等実に多くの報告があるが、これらの方法ではいずれもクロロフェノール類中の PCP を区別することはできない。著者らは赤外線吸収スペクトル法<sup>2,3)</sup>、ガスクロマトグラフ法<sup>15)</sup>、4-アミノアンチピリン (4-A A) 法<sup>2,4-8)</sup>、イオン交換クロマト法<sup>13)</sup> を中心にクロロフェノール類中の PCP の分析を検討し若干の結果を得たので報告する。

## 1) 赤外線吸収スペクトル法

赤外線吸収スペクトル法は極めて特異性の高いすぐれた方法である。その特性吸収 (Fig. 1) の  $764\text{ cm}^{-1}$

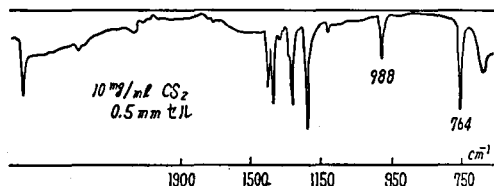


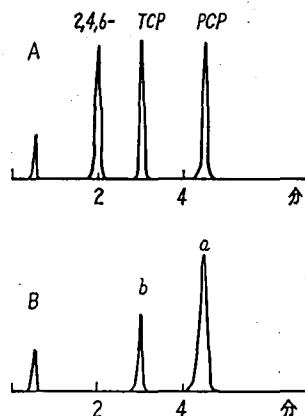
Fig. 1. PCPの赤外線吸収スペクトル

は 2,6-ジクロロフェノール ( $763\text{ cm}^{-1}$ )、*m*-クロロフェノール ( $763\text{ cm}^{-1}$  と  $768\text{ cm}^{-1}$ ) によって障害されるが、 $988\text{ cm}^{-1}$  は全く PCP に特有の吸収であり、BHC, DDT, 2,4-D, クロラニル, テトラクロロヒドロキノン, ヘキサクロロベンゼン, *o*-フェニルフェノールなども妨げない。なお PCP を *nujol* で測定したパターンは二硫化炭素の場合と多少異なるから注意を要する。赤外顕微鏡の装置を用いれば約  $10\text{ }\mu\text{g}$  の分析が可能である。PCP  $1\text{ mg}$  を  $100\text{ mg}$  の KBr と混和し直径  $5\text{ mm}$ 、重さ  $18.3\text{ mg}$  の錠剤をつくる。光を通すスリットの面積は  $0.5\text{ mm} \times 2\text{ mm}$  であるから約  $10\text{ }\mu\text{g}$  の PCP に対応する。赤外顕微鏡の装置がなくても田村ら<sup>19)</sup>の金属円板法によれば  $30\text{ }\mu\text{g}$

以下の分析が可能である。

## 2) ガスクロマトグラフ法

島津製作所の GC-1B 型の装置を利用して行なった分析結果は Fig. 2-A のようである。分析条件は次の通りである。カラム: 16% の QF-1 on クロモソルブ W (30~60 メッシュ)  $3\text{ m}$ ; 温度: カラム  $230^\circ$ ,

Fig. 2. ガスクロマトグラム  
A クロロフェノール類  
B 市販クロラニル

検出器  $280^\circ$ , 試料室  $330^\circ$ ; キャリヤーガス: ヘリウム  $60\text{ ml/min}$ ; 検出器: 熱伝導度型, bridge current  $250\text{ mA}$ ; 試料量  $1\text{ mg}$ .  $100\text{ }\mu\text{g}$  程度の分析が可能である。なお Fig. 2-B のように同一条件で市販クロラニルは2つのピークを示し PCP およびテトラクロロフェノール (TCP) を障害する。赤外線吸収スペクトルその他からピーク a はクロラニル, ピーク b は Cl が1個少ないものらしい。

## 3) 4-A A 法

フェノール類の 4-A A による比色分析は E. Emerson<sup>4)</sup> の報告以来多くの研究がなされた<sup>2,4-8)</sup>。この方法を PCP の微量分析に応用した研究が沼田<sup>7)</sup>によってなされ、川原ら<sup>3)</sup>によってほぼ十分に検討された感がある。著者らはこれらの報告を追試しながら 2~3 の点に検討を加え、この 4-A A 法はクロロフェノール類中の PCP の微量分析法としてすぐれた方法で

あることを確認した。発色条件は沼田らと同じく検液 (PCP 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ -0.025% $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 10 ml に 0.2% 4-A A 水溶液 2 ml を加えて振り混ぜ、1分後 10% フェリアン化カリウム水溶液 1 ml を加え、10秒間振り混ぜ、直ちにキシレン 5 ml を加えて充分振り混ぜる。15分間静置後キシレン層の 574 m $\mu$  における吸光度をキシレンを対照として測定する。別に空試験を行ない差し引く。Fig. 3 のように PCP だけが 574

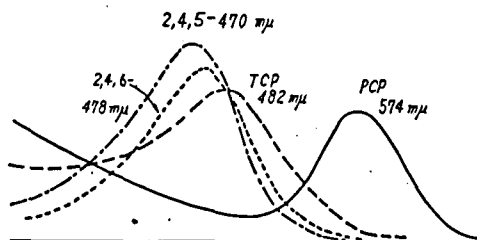


Fig. 3. 4-A A 法によるクロロフェノール類の吸収スペクトル

m $\mu$  に  $\lambda_{\text{max}}$  を有し青色を呈する。他のクロロフェノール類はすべて 460~480 m $\mu$  に  $\lambda_{\text{max}}$  を有し橙赤色である。2,4-D やクロラニルの障害もなく PCP に特異的な分析方法であるが他のクロロフェノール類が多量に混在する場合は 574 m $\mu$  におけるそれらの吸収は多少影響してくる (Table 1)。PCP に対する

Table 1

化合物	$\lambda_{\text{max}}$ m $\mu$	吸光度	at 574 m $\mu$
*PCP	574	0.420	
2,3,4,6-テトラ-CP	482	0.440	0.020
2,4,6-トリ-CP	478	0.488	0.018
2,4,5-トリ-CP	470	0.505	0.014
2,6-ジ-CP	478	0.672	0.021
2,5-ジ-CP	470	0.700	0.016
2,4-ジ-CP	460	0.503	0.014

\*PCP は 50  $\mu\text{g}$ 、その他は 20  $\mu\text{g}$  についての測定値

2,3のクロロフェノール類の影響について実験的に検討したのが Table 2 である。この結果から 50% まで他のクロロフェノール類を混有する場合は、その影響は 10% 程度以下であることがわかる。PCP のすぐれた分析法といわれる 4-A A 法もこの程度の誤差は避けられない。

#### 4) イオン交換クロマト法

以上の各方法のほかに、他のクロロフェノール類から PCP を確実に分離定量する方法としてイオン交換クロマト法がある。すでに Skelly<sup>13)</sup> の報告があるが、これを簡素化、迅速化、微量化し約 0.1 mg まで

Table 2

PCP	TCP	2,4,6-	2,6-	吸光度	PCP の回収率 (%)
*46				**0.388	
46	20			0.410	105.7
46		20		0.413	106.4
46			20	0.415	107.0
46	10	10		0.414	106.7
46	10		10	0.418	107.7
46		10	10	0.417	107.5

\* 単位は  $\mu\text{g}$  \*\* 吸光度はブランクを差し引き補正したものの

の PCP の分析をほとんど定量的に行なうことが可能である<sup>20)</sup>。ことに大量の他のクロロフェノール類中の PCP の分析に適当である。

終りに臨み、本研究に際し種々御援助下さいました大場琢磨氏および島津製作所に深く感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 近本惟好：農薬生産技術，No. 6, 51(1962)
- 2) 川原哲城ら：農薬生産技術，No. 7, 19(1962)
- 3) R. T. Scheddel et al: *Anal. Chem.*, 29, 1553 (1957)
- 4) E. Emerson: *J. Org. Chem.*, 8, 417(1943)
- 5) S. Gottfried et al: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 18, 16(1946)
- 6) M. B. Ettinger et al: *Anal. Chem.*, 23, 1783 (1951)
- 7) 沼田一：衛生化学 4, 94(1956)
- 8) R. J. Lacoste et al: *Anal. Chem.*, 31, 1246 (1959), Elsevier Publishing Co.
- 9) W. T. Haskins: *Anal. Chem.*, 23, 1672(1951)
- 10) G. R. Wallin: *Anal. Chem.*, 22, 1208(1950)
- 11) W. Deichmann et al: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 14, 310(1942)
- 12) 水谷泰久：分析化学, 11, 395(1962)
- 13) N. E. Skelly: *Anal. Chem.*, 33, 271(1961)
- 14) J. B. Laclair: *Anal. Chem.*, 23, 1760(1951)
- 15) A. Barry et al: *Anal. Chem.*, 34, 67(1962)
- 16) Feigl: *Spot Test in Organic Analysis*, 480 (1960) Elsevier Publishing Co.
- 17) D. P. Johnson: *J. Assoc. Offic. Agri. Chem.*, 38, 946(1955)
- 18) J. R. Lane: *J. Agr. Food Chem.*, 6, 667 (1958)
- 19) 田村善蔵ら：分析化学, 12, 372(1963)
- 20) 河合 聡：分析化学投稿中

(昭和38年5月31日受付)

ペンタクロルフェノールおよび関連化合物の  
薄層クロマトグラフィー

鈴木 郁生・加藤 せえ

Pentachlorophenol (PCP) はすぐれた除草剤として用いられている反面, それによる被害も多く, この対策確立のため, PCP の適確な分析が要求されている. 著者らは PCP ならびに, その関連化合物の分離, 定性について薄層クロマトグラフィーを用い検討を行ったので報告する.

実験方法

試料 (a) PCP, (b) 2,3,4,6-tetrachlorophenol, (c) 2,4,5-trichlorophenol, (d) 2,4,6-trichlorophenol, (e) chloranil, (f) 2,4-dichlorophenol, (g) 2,5-dichlorophenol, (h) 2,6 dichlorophenol, (i)  $\gamma$ -BHC, (j) DDT, (k) 2,4-D をそれぞれ 0.1 w/v% のベンゼン溶液として用いた. 各図中には試料の名称のかわりにかっこ内にアルファベットを用いている.

展開操作 吸着剤として silica gel G (Merck 社製, 硫酸カルシウム含有) を用い, 250  $\mu$  の厚さに引き, 110° で 30 分間乾燥したものを, 1~2 cm の間隔に 5  $\mu$ l ずつ (試料 5  $\mu$ g に相当) ミクロピペットでスポットし, 後述の展開溶媒により展開を行なった.

検出法 数種の発色剤<sup>1)</sup> について検討した結果, グロールフェノール誘導体には 1% 過マンガン酸カリウム水溶液が最もよく (Fig. 1, 2, 3)  $\gamma$ -BHC, DDT, および 2,4-D などに対しては 0.5% N, N-dimethyl-*p*-phenylenediamine エタノール液<sup>2)</sup> (塩酸塩を当量のナトリウムを含むエタノールに溶かす) を噴霧後, 紫外線を照射するのが適当であることを知った (Fig 4).

過マンガン酸カリウム水溶液の場合は紫色を黄色に脱色し, N, N-dimethyl-*p*-phenylene-diamine の場合は紫青色を示す. なお PCP はこの両発色剤で, 発色検出されるが, その検出限界は 1% 過マンガン酸カリウム液を発色剤とした場合 0.5  $\mu$ g であった. また PCP は 1  $\mu$ g 以上になると, スポットがだ円形にのびる傾向を示す.

実験結果 PCP は 2,4,5,6-tetrachlorophenol, 2,4,5-または 2,4,6-trichlorophenol, chloranil とはクロロホルムを展開液とすることによって判然と分離し (Fig.1), 2,4-, 2,5-, 2,6-dichlorophenol とはヘキ

サンベンゼン:酢酸エステル (4:2:1) で分離が可能であり (Fig. 2), また PCP と前記すべてのクロルフェノール誘導体との分離は, 二次元法により分離できる. すなわち一次元にベンゼン酢酸エステル (10:1) を用い, 二次元としてクロロホルムを用いる (Fig. 3). PCP と他の殺虫剤, 除草剤  $\gamma$ -BHC, DDT, および 2,4-D との分離はクロロホルム;ヘキサン (3:7) を用いて充分分離される (Fig. 4).

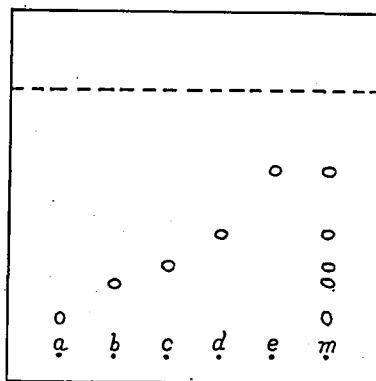


Fig. 1. Example of chromatogram of a, b, c, d, e and mixture of these compounds (Solvent system S<sub>1</sub>) (see table 1).  
----- Solvent front

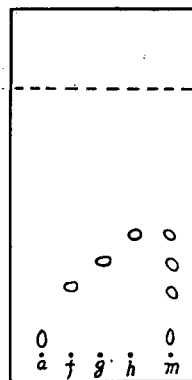


Fig. 2. Example of chromatogram of a, f, g and h, and mixture of these compounds (solvent system S<sub>2</sub>) (see table 1).  
----- Solvent front

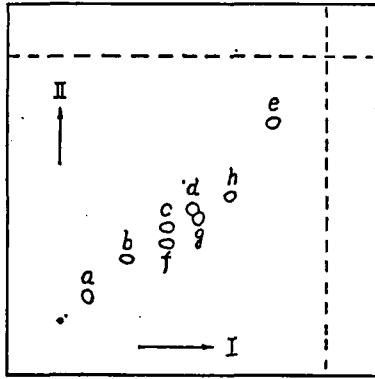


Fig. 3. Two-dimensional chromatogram of mixture of a, b, c, d, e, f, g, and h.  
I : First separation (solvent system S<sub>1</sub>)  
II : Second separation (solvent system S<sub>1</sub>)  
(See table 1).  
----- Solvent front

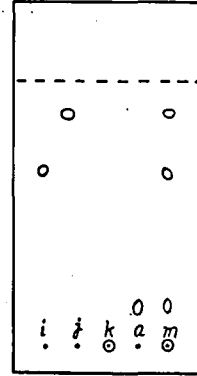


Fig. 4. Chromatogram of i, j, k and a, and mixture of these compounds (solvent system S<sub>5</sub>) (see table 1).  
----- Solvent front

Table 1. R<sub>f</sub> × 100 of PCP and related compounds

Solvent system	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub> and S <sub>1</sub> *	S <sub>4</sub> and S <sub>1</sub> *	S <sub>5</sub>
Time (min)	30	40	30	25, 30	35, 35	30
a. PCP	14	11	8	10	16	8
b. 2, 3, 4, 6-Tetra-chlorophenol	29			23	31	
c. 2, 4, 5-Tri-chlorophenol	33			36	44	
d. 2, 4, 6-Tri-chlorophenol	43			41	50	
e. Chloranil	69			77	88	
f. 2, 4-Dichlorophenol		34	27	30	38	
g. 2, 5-Dichlorophenol		41	35	38	48	
h. 2, 6-Dichlorophenol		50	47	48	61	
i. γ-BHC						64
j. DDT						88
k. 2, 4-D						0

Solvent systems: S<sub>1</sub>=Chloroform S<sub>2</sub>=Hexane: Benzene: Ethyl acetate (6: 4: 1)

S<sub>3</sub>=Hexane: Benzene: Ethyl acetate (4: 2: 1) S<sub>4</sub>=Benzene: Ethyl acetate (10: 1)

S<sub>5</sub>=Chloroform: Hexane (3: 7)

\* Two-dimensional method

考察 PCP の分離, 検出に主眼において, PCP に関連あるクロールフェノール誘導体および, PCP の酸化で容易に作られる chloranil, また PCP と同様によく用いられる殺虫剤, DDT, γ-BHC, 除草剤 2, 4-D などの薄層クロマトグラフィーによる検出, 分離を行なったが, 時間の短いこと, 分離能のすぐれていることなど, 薄層クロマトグラフィーの特色をよく示している。ただし R<sub>f</sub> 値 (Table 1) に関して

は若干のふれが生じ数回の平均をとっている。

文 献

- 1) 坂田 裕, 三上 晃: 科警研報告, 14, 92 (1962)
- 2) 内山 充, 奥井誠一: 食品衛生学雑誌, 3, 277 (1962)
- 3) J. Bäumler, S. Rippstein: *Helv. Chim. Acta*, 94, 1163 (1963)

(昭和38年5月31日受付)

## 昭和 37 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

あへん法 32 条により、昭和 37 年度に収納された「あへん」1,240 検体のモルヒネ含量について報告する。

実験材料 長野、和歌山および岡山の三県の「けし」栽培者によって生産され、収納された「あへん」である。

モルヒネ定量法 第七改正日本薬局方アヘン末定量法を準用した。

試験結果 昭和 37 年度収納あへんのモルヒネ含量は Table 1, 2 のとおりである。

## 考 察

1. 長野のあへんは 2 検体のみで比較の意味は薄らぐが県別モルヒネ含量平均値は、長野、岡山、和歌山の順に低く、前年度の逆である。

2. 検体数の多い和歌山産のあへんは開花時の気候異変のため、病虫害を被りその収納量も前年の 60% の程度に減少し、モルヒネ含量も平均 12.02% で前年

Table 1. Morphine content of Japanese opium

Site of collection	Samples	Average of morphine content (%)	Range of morphine content (%)
Nagano	2	15.27	14.59~ 15.95
Wakayama	Arita 1,034	11.92	5.77~ 16.11
	Hidaka 142	12.70	10.23~ 15.43
Okayama	62	13.32	9.17~ 17.23
Total	1,240	13.53	5.77~ 17.23

より 1.8% 程度低く、10~13% の間に密集している。

3. モルヒネ含量 10~15% の「あへん」が、全体の 95.5% に達し 5~9% が 3.96%、15% 以上が 0.48% で品質は均等化されている。

Table 2. Relation between morphine content and site of collection

Class interval %	Morphine content (%)													Total	
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
Nagano										1	1				2
Wakayama	1		2	5	37	144	333	391	206	49	7	1			1,176
Okayama					4	4	5	12	16	8	8	4	1		62
Total	1	2	5	41	148	338	403	222	58	16	5	1		1,240	

(昭和38年5月31日受付)

## コールドパーマメントウェーブ用 第2剤の処理効果について

市川 重春\*・南城 実・狩野 静雄

コールドパーマは現在、チオグリコール酸塩類を主剤とする第1剤で毛髪ケラチン中のシスチンの-S-S-架橋を還元切断し、つぎに臭素酸カリウムなどの酸化剤を主剤とする第2剤によって毛髪をカールした状態で酸化し、再架橋結合させる二浴式処理法が一般的であるが、最近この二行程処理操作を簡略化するため、第1剤処理のみで空気自動酸化などにより-S-S-架橋の切断と再架橋を同時に行なおうとする一浴式コールドパーマが一部において考えられている。その一例であるカルボン酸（酒石酸）とアルコールを添加して空気酸化を促進させるといわれる一浴式コールドパーマについて、その酸化効果を中心に従来の二浴式と比較し、同時にコールドパーマにおける第2剤処理の効果について検討したので報告する。

### 実験方法および実験結果

#### 1. 試験に使用したコールドパーマ液

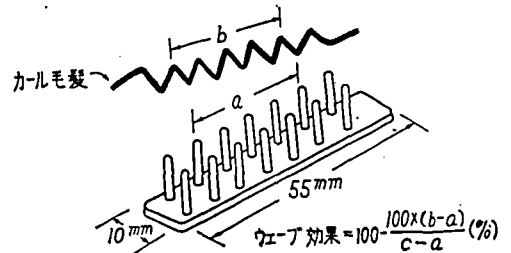
項目 検体	pH(25°)	アルカリ 度	チオグリ コール酸	酒石酸、 アルコールの 添加
A (一浴式用)	9.70	4.45 ml	3.22%	有
B (二浴式用)	9.30	4.11 ml	5.80%	なし

#### 2. 試験に使用した毛髪

コールドパーマその他化学処理を行なったことのない女性頭髪を40~50°の1%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液で5~10分洗ったのち、水洗して湿度75%(20°)に保存したものを、

#### 3. ウェーブ効果の測定および経時変化

Fig. 1 のような測定器具に試験毛髪20本をジグザグ巻にして、Kirbyの方法<sup>1)</sup>にしたがってコールド処理直後のウェーブ効果およびそれを室内に吊して以後30日間の経時変化を求めた。液剤処理条件は、第1剤処理のみのは、30°で15分浸したのち1分流水で水洗し、第2剤処理を共に行なうものは第1剤処理後15分流水で水洗し、つぎに第2剤（臭素酸カリウム溶液、5g/150ml）中に30°で30分浸したのち1分流水で水洗した。



- a; 器具の第1ピンから第5ピン迄の距離  
b; カールした毛髪の5山の長さ  
c; カールした毛髪を直線に延ばした時の長さ

Fig. 1. ウェーブ効果測定器具

結果はFig. 2の通りで、この測定法によるウェーブ効果はコールド処理直後60~70%以上ならば常識的に実用価値があるとされているもので、検体A、B共第2剤処理を省く場合はウェーブ効果は期待できない。

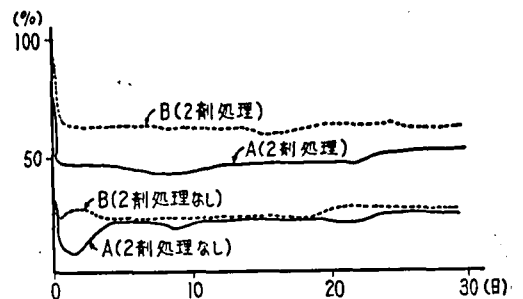


Fig. 2. ウェーブ効果の変化

#### 4. 空気酸化効果について

試験毛髪40~50本を直線に延ばして止め、3と同じ液剤処理条件で、第1剤処理のみのもおよび第2剤処理を併用したものをそのまま風乾して室内に放置する。この処理毛髪を随時数本ずつ取りはずし直径5mmのガラス棒にリング巻して再び第2剤処理を行なって、これにより生ずるウェーブ効果を比較し、その放置日時における空気酸化の促進状況を推測した。結果はFig. 3の通りで、一浴式コールドパーマと称

するものでも、空気酸化は一カ月後においても、全く期待できない。第2剤処理を省いた場合は検体 A, B とも、再度の第2剤処理によってウェーブ効果が生ずる。すなわち酸化不完全の状態でも髪が放置されていることを示した。

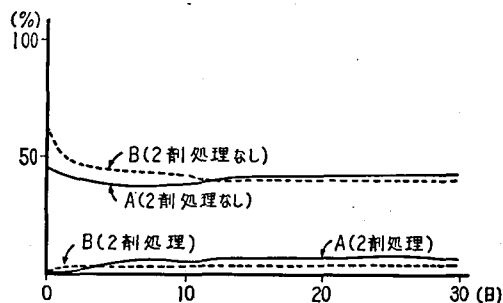


Fig. 3. 空気酸化効果

#### 5. コールドパーマ液反復処理による毛髪の強度の変化

試験毛髪をコールドパーマ用ロット C-2 (中央の直径 9.2 mm) に巻き、3 と同じ液剤処理条件で第1剤処理のみのもの、および第2剤を併用したものを水洗後ロットからはずし、湿度 75% (20°) 中に 24 時間保存して、この毛髪の破断重量を測定する。(東洋測器; Tension Meter UT II 型) この毛髪をさらに一週間ごとに上記方法で反復液剤処理を行ない、その都度破断重量を測定し、変化を比較した。結果は Fig. 4 の通りで、コールドパーマ処理を繰返すにしたがって第2剤処理を省いた場合毛髪強度は著しく低下する。

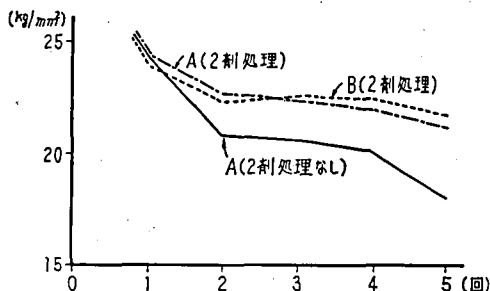


Fig. 4. 毛髪の強度変化

#### 考察

以上の結果からコールドパーマにおける第2剤処理は、そのウェーブ効果においてだけでなく、毛髪の強度保持すなわち傷害防止の点でも省くことのできない必要条件であると考えられる。酒石酸およびアルコールを添加した一浴式コールドパーマ液については以上の結果が示す通り、第2剤処理に匹敵する効果は認められなかった。

本試験について御協力をいただいたアリミノ化学株式会社の磯部氏、三誠化学株式会社の宮武氏に深く感謝致します。

#### 文献

- 1) Donald H. Kirby: Proceedings of the scientific section, 26, 12(1956)

(昭和38年5月31日受付)

## 歯磨中のABSの試験について

市川 重春\*・南城 実・狩野 静雄

市販歯磨中のアルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (ABS) の配合説について、その真偽を確かめるため試験法を検討し、ついで市販品について試験を行った。

まず歯磨の届出処方を検討してみたところ、ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) およびソジウムラウリルサルコシネート (SLS) は配合されているが、ABS は配合されていない。したがって ABS が含有されているとするならば、SDS または SLS と混在している

可能性も考えられる。

これらの陰イオン界面活性剤の試験法としてはメチレンブルー法、パラトルイジン法、1-メチルヘプチルアミン法その他の方法があり、本目的のために検討してみたがいずれも分離確認することは困難であった。しかし各活性剤の赤外吸収スペクトルは各々異なった特性を示すことから赤外吸収スペクトル法について検討してみたところ各活性剤が単独で配合されている場合にはいずれも明らかに確認できる。また混合してい

る場合には ABS: SDS=3:7 まで確認できた。ついで微量の ABS の検出について、SDS, ABS の塩酸加水分解時における分解能の差を利用し、分解物についてペーパークロマトグラフィーを行なったのち、ピナクリプトールイエロー水溶液を噴霧し紫外線下で観察するとき、橙黄色蛍光スポットの Rf 値に差異を生ずることから ABS を確認できるので、微量検出に適するものと認め、赤外吸収スペクトル法と併用して市販品の試験を行なった。

1. 赤外吸収スペクトル法

ABS (P: プロピレン型, D: ドデシル型), SDS, SLS, の水溶液に 25% 塩化バリウム溶液を加え、生じたバリウム塩について Nujol で赤外吸収スペクトルを測定したところ Fig. 1 のように明らかに異なった吸収を示している。ABS におけるプロピレン型とドデシル型には差異を認めない。ついで ABS と SDS の各種の配合比の混合物について赤外吸収スペクトルを測定したところ Fig. 2 に示すように、ABS: SDS=1:1, ABS: SDS=3:7 については明らかに ABS を確認できるが、ABS: SDS=1:9 では確認は困難である。なお SLS については、試験の結果 ABS の存在に影響を与えないので、限度試験は除外した。つぎに活性剤を含まない歯磨基剤に ABS, SD

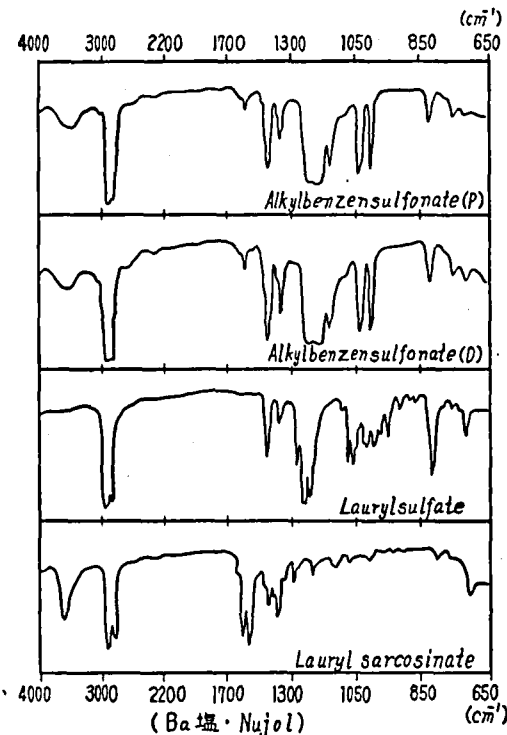


Fig. 1. ABS, SDS, SLS の赤外吸収スペクトル

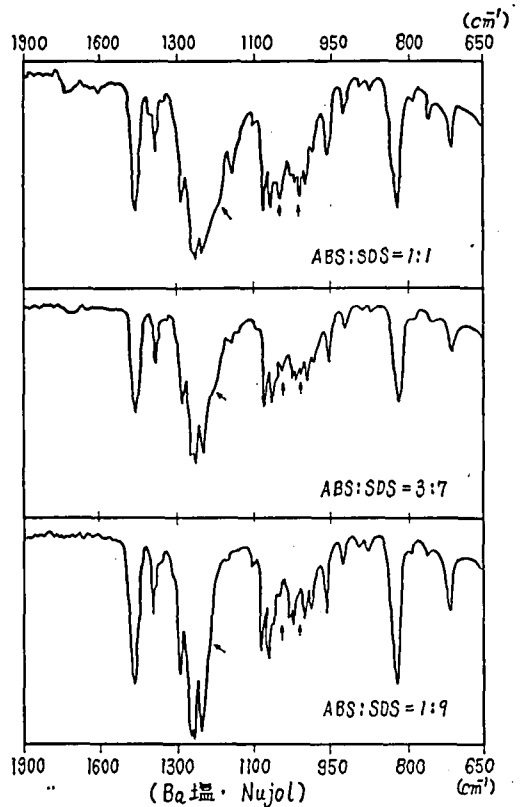


Fig. 2. ABS, SDS の混合物の赤外吸収スペクトル

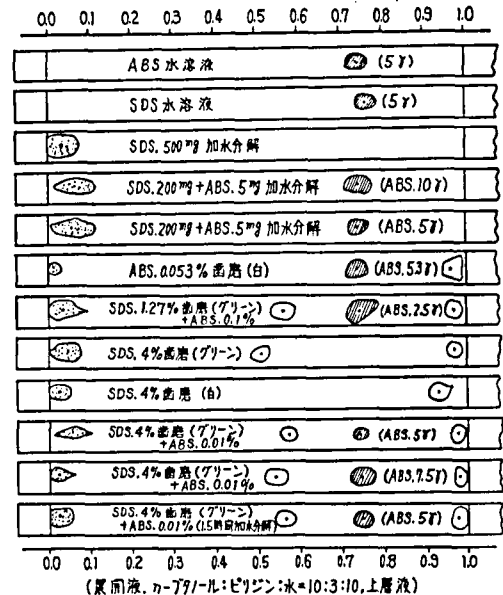


Fig. 3. ABS, SDS のペーパークロマトグラフィー



S を添加した検体を試作し、水およびアセトンを加えたのちアルコールで温浸し、浸液のアルコールを除外し、バリウム塩として同様に赤外吸収スペクトルを測定したところ、結果は全く同様であった。つぎに市販歯磨 18 種 (外国品 4 種) について試験を行なったところいずれも ABS は検出されなかった。

## 2. ペーパークロマトグラフ法

ABS, SDS の水溶液についてペーパークロマトグラフィーを行ない (展開溶媒, n-ブタノール:ピリジン:水=10:3:10 の上層液), 0.1% ピナクリプトールイエロー水溶液を噴霧し紫外線下で観察するとき Fig. 3 に示すように,  $R_f=0.74\sim 0.75$  に橙黄色の螢光を有するスポットを認める。つぎに各水溶液を塩酸で加水分解しペーパークロマトグラフィーを行なうとき SDS は分解してスポットは原点に止まる。ABS

も一部は分解すると思われるが残存したものは,  $R_f=0.74\sim 0.75$  にスポットを生ずる。以上に基づき歯磨基剤に種々の配合比で ABS, SDS を添加し, 抽出法および確認限度を検討した。すなわち水およびアセトンを加えたのちアルコールで 1 時間温浸し, ろ液のアルコールを除去する。塩酸を加え 1 時間加水分解し, エーテルで抽出したのちエーテルを除去し, アルコールに溶かしてペーパークロマトグラフィーを行なったところ, SDS および基剤の影響を受けることなく, 歯磨中 0.01% の ABS を確認することができた。(ペーパークロマトグラム上 5 $\gamma$ ) ついで市販歯磨 18 種 (外国品 4 種) について試験を行なったところいずれも ABS を検出しなかった。

(昭和38年5月31日受付)

## カラムクロマトグラフィーによる法定化粧品用 タール色素 (一部) の分離

森 秀将・横山 剛・浜田 和子\*

化粧品中の法定タール色素 (以下単に色素とよぶ) を試験するには, 種々の試薬を用いて系統的に分離する方法が行なわれているが, 同じような性質の色素が混合されている。場合には各色素を分離するのに困難な場合がある。また系統的分析中<sup>1)</sup>, 酸性希アルコール溶性の色素については, カラムクロマトグラフィーによる組織的な方法はまだなされていないようである。この部類の色素は系統分析の場合に石油エーテル抽出, アルカリ抽出, 水洗, トルエン抽出, 酸性希アルコール抽出, 等を行なうと, ここまでの操作ですでに試料も少量となりその後の試験操作を行なうのに不都合な場合が多い。そこで分析をより正確に多角的にみるためカラムクロマトグラフィーによる分離法<sup>2)</sup>の検討を試みたところおおむね好結果を得たので報告する。

### 試料および試薬

a. 色素: 対象となる色素は赤色 202 号リソールピン BCA, 赤色 203 号レーキレッド C, 赤色 204 号レーキレッド CBA, 赤色 205 号リソールレッド, 赤色 206 号リソールレッド CA, 赤色 207 号リソールレッド BA, 赤色 208 号リソールレッド SR, 赤

色 209 号レーキレッド D, 赤色 210 号レーキレッド DBA, 赤色 211 号レーキレッド DCA, 赤色 219 号ブリリアントレーキレッド R, および赤色 220 号ディーブマルーン等であるが, 203 号と 204 号はナトリウム塩とバリウム塩の違いだけで化学的性質は同じであり, 205 号, 206 号, 207 号, 208 号も同様である。また 209 号, 210 号, 211 号は製品より色素を分離したところほとんど含まれていないように思われたので省略した。したがって 202 号, 203 号, 205 号, 219 号, 220 号の 5 色素を試料とした。

b. 担体: I. シリカゲル——メルク製, 和光純薬製, 200 メッシュのふるいを通るもの。

II. アルミナ——和光純薬製 200 ないし 300 メッシュのもの

III. セライト——和光純薬製セライト No. 545

IV. セルローズパウダー——東洋沓紙製 100 から 200 メッシュのもの

c. 溶媒: 溶質, 担体との関連においてエタノール, メタノール, ブタノール, アセトン, 酢酸, 水などの混合液を展開液とした。

溶媒 I メタノール: 水 (1:1)

- 溶媒Ⅱ n-ブタノール：エタノール：N/2 アンモニア (6：2：3)
- 溶媒Ⅲ n-ブタノール：エタノール：N/2 酢酸 (6：2：3)
- 溶媒Ⅳ メチルセロソルブ：水 (1：3)
- 溶媒Ⅴ アセトン：エタノール：氷酢酸：水 (70：10：5：15)
- 溶媒Ⅵ 酸性希アルコール (4% 塩酸に同容量の無水アルコールを加えたもの)

溶媒Ⅶ 水

実験結果

活栓付内径 1.5 cm, 長さ 180 cm のカラムに約 5 mm の厚さに脱脂綿をつめ、その上に担体を 10 cm の長さにつめる。

まずそれぞれの色素が各担体、各溶媒についてどのような態度を示すかをしらべた。溶媒は酸性希アルコール固定相は一応水とした。

Table 1

Solvent / Colour	アルミナ							セルローズパウダー							セライト						
	I	II	III	IV	V	VI	VII	I	II	III	IV	V	VI	VII	I	II	III	IV	V	VI	VII
R 202号	x	x	x	x	x	x	○	x	x	○	○	○	○	x	○	x	○	x	○	○	x
R 203号	△	○	○	x	○	○	x	○	○	○	○	○	○	x	○	○	○	x	○	○	x
R 205号	x	x	x	x	x	x	x	x	○	○	x	○	○	x	x	○	○	x	○	○	x
R 219号	x	x	x	x	x	x	x	x	○	x	○	○	○	x	○	x	x	○	○	○	○
R 220号	△	x	x	x	△	x	x	○	x	○	○	○	○	x	○	x	○	○	○	○	x

結果は Table 1 のようになった。表中の△印はカラムの上部に吸着し移動相である展開液を多量に加えても流下しないもの、×印はバンドが拡がり tailing の状態になったもの、○印ははっきりした比較的せまいバンドができ、それが溶出してきたものを示す。シリカゲルについても行なったが流出に時間を要し、あまり適当ではないと思われる。アルミナではセルローズパウダーやセライトに比較して流下速度がおそい。次に△印のものと○印のものについて2種または3

種の色素を混合した試料を展開させたところ、アルミナの溶媒Ⅴで 203 号と 220 号、セルローズパウダーでは、溶媒Ⅰで 203 号と 220 号、セライトでは溶媒Ⅳで 219 号と 220 号が分離し、その他は分離できなかった。

そこで流下速度をおさえさらに、分離をよくするためにアルミナ、シリカゲルを混合してみた。その結果は Table 2 の通りである。

Table 2

担体 (混合比)	結果
C : A (1 : 1)	ブタノール系の移動相を用いたもので、大体きれいなバンドができた巾の広いバンドになる 同上
C : A (1 : 2)	
C : A (1 : 2)	
C : S (1 : 2)	担体の沈着おそく流出に時間がかかり、分離もよくない。
C : S (1 : 2)	
C : S (1 : 3)	
CP : A (1 : 1)	ほとんどが、せまいはっきりしたバンドをつくる。 CP : (1 : 1) よりやや広いバンドになるがほとんど同様きれいなバンドができない
CP : A (1 : 2)	
CP : A (1 : 3)	
CP : S (1 : 1)	時間がかかりすぎ、担体も均一につまらない。
CP : S (1 : 2)	
CP : S (1 : 3)	

C : セライト    A : アルミナ    S : シリカゲル    CP : セルローズパウダー

Table 3

Colour	Solv.	アルミ・ナセライト (1:1)							セルローズパウダー・アルミナ (1:1)						
		I	II	III	IV	V	VI	VII	I	II	III	IV	V	VI	VII
R 202 号		△	×	×	△	×	×	△	○	○	○	○	×	×	×
R 203 号		×	○	○	×	○	○	△	○	○	○	○	×	×	×
R 205 号		×	○	○	×	○	○	△	○	○	×	○	×	×	×
R 219 号		×	×	×	×	○	○	×	×	○	×	×	×	×	×
R 220 号		×	×	×	△	×	×	△	○	○	○	○	×	×	○

担体を混合して比較的分離のよかったセライト：アルミナ(1:1)とセルローズパウダー：アルミナ(1:1)の結果を Table 3 に示す。

セライト：アルミナ(1:1)の場合は2種以上の色素の分離はできなかった。セルローズパウダー：アルミナ(1:1)の場合は、溶媒 I, II, III, IV で 202~203, 202~205, 202~219, 202~220, 203~205, 203~219, 209~220, 205~219, 205~220, 219~220 と組み合わせて展開させたところ、溶媒 II で 205 号と 219 号を混合させた場合の他は全部が分離し分離可能であった。

そこでセルローズパウダー：アルミナ(1:1)について検討することにした。この場合は分配クロマトグラフィーでこの際2つの液相は互いに他の液相で飽和されていなければならない。安定なクロマトグラフ系を組み立てるために固定相に  $N/2$  アンモニア水を用い、このセルローズパウダー：アルミナ(1:1)に保持させて分散させ、カラムに充填し検液の酸性希アルコールはいったん蒸発させ、新たに移動相にとかしてカラムに添加し、さらに展開を行なった。

セルローズパウダーを用いたカラムクロマトグラフィーの色素の吸着順序と同じ展開液を用いたペーパークロマトグラフィーの Rf 値とは反比例するもので、ペーパークロマトグラフィーでスポットが重なり合うことがなければカラムクロマトグラフィーでもよく分離するものと考えられる。ところがさきの結果のようにセルローズパウダーだけの担体では不適當である。それでセルローズパウダーは少量のアルミナを混和させた(1:1)ものではどうか調べてみた。5つの色素をそれぞれの展開液で上昇法によりペーパークロマトグラフィーを行なったところ、溶媒 I と II の場合が分離がよく適当な展開液と考えた。これをカラムにおきかえると、溶媒で II は予想どおりの移動を示したが、溶媒 I では分離が悪く再現性も不確実であった。

5つの色素が全部同時に製品中に含まれるということとは実際上ないと思うが、セルローズパウダー：アル

ミナ(1:1)の担体、溶媒 II の移動相で5つの色素の混合液を展開した。カラムの長さは 12 cm とした。Fig. 1 のように5つの吸着帯ができる。このとき

先端のだいたい色は溶離できがさらに展開液を加えて行くと上にあるバンドが次第にくずれ混るので、5つのバンドができたら展開をやめカラムの下端からゆるく吸引スポットのゴム帽で空気を入れ担体を押し出し色素を分取する。各々を溶媒で抽出し、溶媒を蒸発、残る色素を酸性希アルコールに溶かし、ペーパー

クロマトグラフィーを行なった結果、Fig. 2 のようになった。

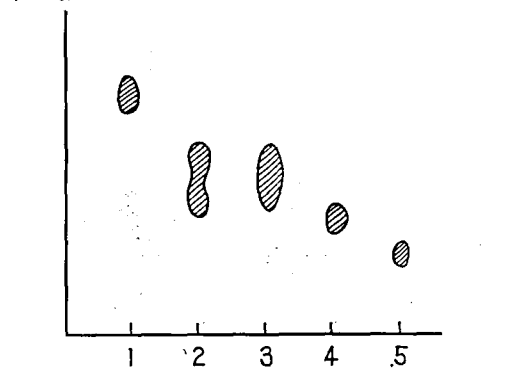


Fig. 1.

それぞれ標準品と同時に展開し、1は赤色 203 号、2, 3, は赤色 205 号と赤色 219 号の混ざったもの、4は赤色 202 号、5は赤色 220 号とわかった。

205 号と 219 号の混ざったものはさらに新しいカラムに通して、下端と上端を分取しペーパークロマトグラフィーを行なうと上側が 205 号、下側は 219 号とわかったがこの2つは完全に分離することはできなかった。ペーパークロマトグラフィーの Rf 値との関係は予想どおりであった。

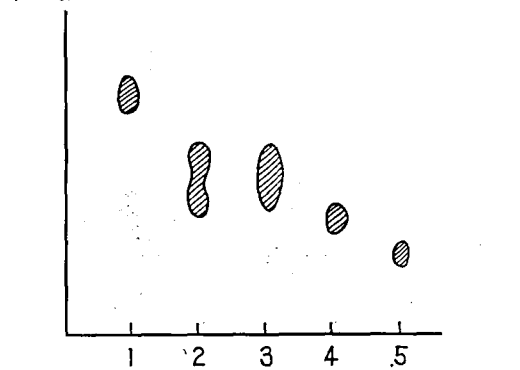


Fig. 2. ペーパークロマト

また各抽出液を分光光度計を用いて吸収スペクトルを測定した。1は最大吸収波長が487 m $\mu$ 、2は510~520 m $\mu$ 、3は492~6 m $\mu$ 、4は518 m $\mu$ 、5は530 m $\mu$ でそれぞれ標準品と一致する。

#### 考察および結論

赤色202号、203号、205号、219号、220号の5つの色素はセルローズパウダー：アルミナ(1:1)を担体としn-ブタノール：エタノール：N/2アンモニアを溶媒とするカラムクロマトグラフィーで分離される。赤色204号、206号、207号、208号もこれに準じて分離できると思われる。したがってこのカラムクロマトグラフィーで色素を分離したのち、吸光度測定、ペーパークロマトグラフィーの操作をあわせて

行なえば、より正確な色素の確認ができるものと思われる。

最後に本実験を行なうにあたって種々御指導ならびに御校閲をいただいた支所長小川俊太郎博士、薬品部長中島辰巳博士に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 南城実：化粧品用タール色素の分析法(昭35)，鈴木忍総本社出版部
- 2) 成田耕造，関得一郎：有機クロマトグラフィー(昭31)，共立出版

(昭和38年5月31日受付)

### 飲料水中の微量フェノールの定量について

藤井正道・島峯望彦

現在フェノールは水道法の基準<sup>1)</sup>によると「0.005 ppmを超えてはならない」と定まっている。この意味は水道の原水に対して浄水場等で行なう塩素滅菌の際に生成される各種クロロフェノール<sup>2)</sup>の特異な臭味を考慮してのことであるが、2-chlorophenol、2,4-dichlorophenol および 2,6-dichlorophenol は平均して0.002 ppmでその臭味を感じるといわれ<sup>3)</sup>、特に敏感な人では0.001 ppmをも認知可能とされている。なおアメリカでは0.001 ppmを限度としている<sup>4)</sup>。

このような微量という観点から水道法ではギブス法を用いているが、この方法は試薬が不安定でかつ測定に長時間を要するという難点がある。そこで著者らは4-アミノアンチピリン法<sup>5)</sup>について、pH、試薬の濃度の影響、呈色度の安定性、感度、前処理的なことの省略など種々の条件について検討を加えた。

#### 実験方法および結果

##### (1) 定量法の概略

前処理<sup>1)</sup>を経た検水適量を2N-アンモニア水でpHを調節し、4-アミノアンチピリン試液を加え、分液ロートでよく振った後、クロロホルム15、10、5 mlの順に用いて抽出し、必要ならば再過する。抽出液をクロロホルムで25 mlとした後、460 m $\mu$ の波長で光電比色する。

なおこの実験においては日立光電光度計FPW-4形

(干渉フィルター)を使用した。液層：10 mm

##### (2) pHについて

Fig. 1に示した通り、Blankと一定量のフェノールを添加したものについて、pHの変化による呈色の相違を調べた。これはクロロホルムで抽出する以前の水液溶についてであるが、Blankの方はpH 9.0あたりからあまり変化がなく、フェノールを添加した方は10.5あたりから急に呈色度が低下する。

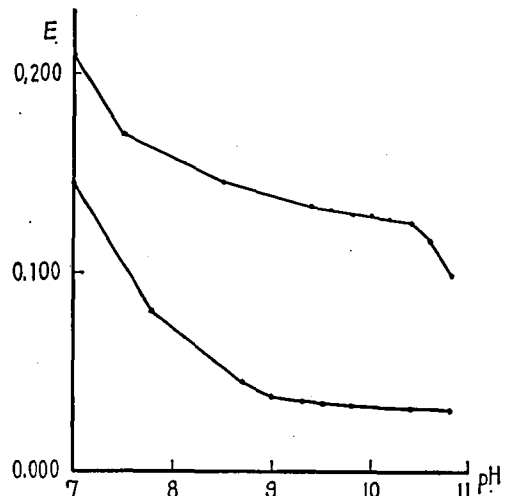


Fig. 1. pH の変化による呈色差

- ① Blank
- ② Phenol 114 µg/100ml

以上のことから pH 9.5~10.5 間ならばそう大差がないようである。ただしアニリンのようなものが存在する場合は 9.8 より中性側では影響が大きいとの報告<sup>6)</sup>があるので、pH 9.8 以降を用いた方がよい。著者らは pH 調節に 2N- アンモニア水を用いないでアンモニア緩衝液<sup>7)</sup> (pH 10) を一定量 (5 ml) 用いることにより容易に pH を 10 付近にすることができた。

### (3) 試液の濃度について

これは 4- アミノアンチピリン試液に対してフェリシアン化カリウム試液の量が問題になる。そこで両者の適量を用いて得た吸光度およびクロロホルム抽出の際の水層にフェリシアン化カリウムの色が残存するか否かについて調べたものが Table 1. である。

Table 1. 0.075 ppm のフェノールを含む  
検水 500 ml に対する値 (10 mm,  
470 m $\mu$ )

2% 4- アミノ アンチピリン ml	2% フェリシ アン化カリウ ム ml	フェリシアン 化カリウムの 色の有無 (水溶液)	吸光度
3	8	-	0.023
3	9	-	0.245
3	10	+	0.256
3	11	+	0.256
3	12	+	0.255

この結果から 4- アミノアンチピリンに対してフェリシアン化カリウムの方が不足すると値が低くなるが、多少過剰に加えても影響のないことがわかった。要するに水溶液にフェリシアン化カリウムの色が残る程度に加えれば良いということになる。

### (4) 呈色度の安定性について

Antipyrine dye のクロロホルムに抽出したものは大体 3 時間ぐらゐは安定であるという報告<sup>8)</sup>があるが著者らが行なった結果、Blank は 1 時間半程度は変化がないが以後徐々に色が濃くなる傾向にあった。従って極く微量のフェノールに対しては少なくとも 1 時間半以内に測定しなければならぬ。多量のフェノールに対しては 3 時間程度ではほとんど変化がなかった。

### (5) 感度について

最初にも述べたように、0.001 ppm の検出が要求されるがこれについてアメリカの Standard Method などでは液層 50 mm の吸収セルを用いているが、普通一般には 10 mm の吸収セルが良く使われるのでこれを用いて行なった結果、5  $\mu$ g 以上 150  $\mu$ g までは Lambert-Beer の法則に従った。一方比色管を用い

て肉眼比色した場合 0.5~1  $\mu$ g を含んだものと Blank との差が認められるのでそれ相当の検水を用いれば 0.001 ppm の検出が可能であった。

### (6) 前処理の省略

一般には検水をリン酸を用いて弱酸性として蒸留し、その留液について定量操作を行なうのであるが飲料水の場合は比較的妨害する不純物が少ないのでこの蒸留操作を省略して、直接定量操作に移ることができないか若干検討した。

Table 2 に示したような水道水、数種の井戸水および蒸留水に対して、Blank 試験およびフェノール添加試験を行なったがほとんど結果は同値であった。

Table 2. 水質分析表

	水道水	井戸水
pH	6.7	6~7.8
アンモニア性窒素 ppm	( $\rightarrow$ )	( $\rightarrow$ )~0.5
亜硝酸性窒素 ppm	( $\rightarrow$ )	( $\rightarrow$ )~0.02
硝酸性窒素 ppm	1.7	( $\rightarrow$ )~12.0
塩素イオン ppm	17.1	2~70
過マンガン酸カリウム 消費量 ppm	0.8	0.1~15.0
硬度 ppm	73.5	20~150
鉄 ppm	0.1	0~2.0

そこでさらに飲料水の常成分について多量に加えてその影響を調べたが Table 3 に示す程度の量では何の影響も受けなかった。

Table 3. 添加量

塩素イオン	1,000 ppm
亜硝酸性窒素	1
鉄	10
硬度	2,000
カオリン	200

### 総括

以上の結果から pH は 10 $\pm$ 0.2 に調節し、2% 4- アミノアンチピリン試液 3 ml、2% フェリシアン化カリウム試液 10~11 ml を用いることが適当であることを確認した。

また抽出後の測定は微量なものに対しては 1 時間半以内に行なうべきであること。更に前処理の省略は何か特別な場合 (還元性物質が多い等) を除いたならば可能ではないかと思われる。終りに本実験を行なうにあたり、種々御高配をいただいた元環境衛生化学部市川重春部長に深く感謝の意を表する。

## 文 献

- 1) 厚生省令第 23 号, 昭和 33 年
- 2) Burttschell, et al.: *J. A. W. W. A.*, 51, 212 (1959)
- 3) 萩原耕一: 用水と廃水, 3, 983(1961)
- 4) U.S. Public Health Service: *J. A. W. W. A.*, 53, 935(1961)

- 5) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 11th ed., p. 406 (1960). American Public Health Association
- 6) M. B. Ettinger, C. C. Ruchhofs, and R. J. Lishka: *Anal. Chem.*, 23, 1783(1951)
- 7) 厚生省: 第7改正日本薬局方第一部, p. 771 (昭和38年5月31日受付)

灯台飲料用天水中の<sup>90</sup>Srの定量

長沢 佳熊・城戸 靖雅・池淵 秀治

昭和 36 年秋, ソ連に始まった大型核爆発実験に引きつづき, 昭和 37 年春以降, 太平洋海域における米国の核爆発実験再開によって, わが国における飲食物の放射能汚染が懸念され, 昭和 37 年 4 月以来, 科学技術庁放射能対策本部において, 飲食物を含む各種試料について全国一斉に放射能汚染調査が開始された. その一環として当所では, 全国各地灯台の飲料用天水中の<sup>90</sup>Sr および<sup>137</sup>Cs の定量を担当した. 海上保安庁灯台部の協力を得て, 全国 14 ケ所の灯台から毎月 1 回, ろ過および未ろ過天水各 10 L の送付を受け, これらについて<sup>90</sup>Sr および<sup>137</sup>Cs を分析し, <sup>90</sup>Sr に関して昭和 38 年 3 月までの分析結果を得たので報告する. なお<sup>137</sup>Cs については, 測定用試料作成の段階に止まり, 目下測定中である.

## 実験方法

宗谷岬航路標識事務所 (北海道稚内市)  
根室航路標識事務所 (北海道根室市)  
稚丹航路標識事務所 (北海道稚丹郡稚丹町)  
室蘭航路標識事務所 (北海道室蘭市)  
大間崎航路標識事務所 (青森県下北郡大間町)  
鶴の尾崎航路標識事務所 (福島県相馬市)  
両津航路標識事務所\*1 (新潟県両津市)  
三宅島航路標識事務所 (東京都三宅島)  
神島航路標識事務所 (三重県鳥羽市)  
潮岬航路標識事務所 (和歌山県西牟婁郡串本町)  
長尾鼻航路標識事務所 (鳥取県気高郡青谷町)  
室戸航路標識事務所 (高知県室戸市室戸岬町)  
若宮航路標識事務所 (長崎県志岐郡勝本町)  
枕崎航路標識事務所\*2 (鹿児島県枕崎市)

前記 14 カ所の灯台からポリエチレンビンに入れて送付されたる過および未ろ過天水各 10 L に硝酸 100 ml を加えてよくふりまぜ, 約 1 週間放置した. これに担体として Sr<sup>2+</sup> 100 mg および Cs<sup>+</sup> 50 mg を加え, 以下 Table 1 に示す方法にしたがって<sup>90</sup>Sr を分離定量したが, クロム酸塩としてバリウム, ラジウム の除去およびイットリウムミルクキングは常法<sup>3)</sup>にしたがって実験した.

別に<sup>90</sup>Sr-<sup>90</sup>Y 標準溶液から, 試料の場合と同じイットリウムミルクキングの操作にしたがって<sup>90</sup>Y を分離し, 使用した低バックグラウンド計数装置 (日本無線医理学研究所製 LBC-1 型) の<sup>90</sup>Y に対する計数効率を決定した.

試料から分離した<sup>90</sup>Y の計数率に担体として加えたストロンチウムの化学的収率 (平均 92.30% であった), <sup>90</sup>Y の減衰および<sup>90</sup>Y に対する計測器の計数効率の補正を加えて<sup>90</sup>Y の崩壊数を算出し, これから<sup>90</sup>Sr の量を求めた.

また炭酸塩としてアルカリ土類金属を分離した上澄液から, <sup>137</sup>Cs をリンモリブデン酸アンモニウムセシウムとして分離した.

別に原水 100 ml をビーカーにとり, 赤外線灯の下で蒸発乾固したのち, 残留物を測定用試料皿に移して, 試料と同一重量の塩化カリウムを比較試料として総放射能を測定した.

## 実験結果

試料の採取記録, 前記の方法にしたがって測定した総放射能および<sup>90</sup>Sr 分析値を Table 2 に示す.

Kakuma NAGASAWA, Yasumasa KIDO and Hideharu IKEBUCHI: <sup>90</sup>Sr in Stoch Rain Water in Lighthouses

\*1 弾崎灯台で採水した

\*2 草垣島灯台で採水した

Table 1. Radio-chemical determination of  $^{90}\text{Sr}$  and  $^{137}\text{Cs}$   
10 L of sample solution

	<p>Add 100 ml of <math>\text{HNO}_3</math>. Allow to stand for about a week. Add 100 mg of <math>\text{Sr}^{2+}</math> and 50 mg of <math>\text{Cs}^+</math>. Heat about to <math>80^\circ</math> and add 100 g of <math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math> with mechanical stirring. Continue stirring for another 30 min or more. Allow to stand overnight. Siphon the supernatant.</p>
Supernatant	Precipitate
<p>Add 100 mg of P as <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4</math> and 900 ml of <math>\text{HNO}_3</math>. Heat gently to <math>50^\circ</math>, add 130 g of <math>(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}</math> with mechanical stirring and continue stirring for another 30 min. or more. Allow to stand overnight. Siphon supernatant.</p>	<p>Dissolve in 100 ml of N-HCl. Heat gently to about <math>90^\circ</math> and neutralize with <math>\text{NH}_4\text{OH}</math>. Add 50 ml of satd. <math>\text{NaCO}_3</math> solution. Allow to stand overnight. Filter through a glass filter.</p>
Precipitate	Precipitate
<p>Dissolve in 100 ml of <math>\text{NH}_4\text{OH}</math> (1→2). Add <math>\text{HNO}_3</math> until precipitating begins and add more 10 ml of excess <math>\text{HNO}_3</math>. Stir for 30 min. or more. Allow to stand overnight. Filter through a micro Büchner funnel.</p>	<p>Dissolve in 20 ml of 6H-<math>\text{HNO}_3</math>. Add dropwise 70 ml of fum. <math>\text{HNO}_3</math> with mechanical stirring. Allow to stand overnight. Filter through a glass filter.</p>
Precipitate	Precipitate
<p>Dry up in a dish of 60 mm diameter under infrared lamp and count by 256 channel pulse height analyzer.</p>	<p>Dissolve in 20 ml of <math>\text{H}_2\text{O}</math>. Add 52 ml of fum. <math>\text{HNO}_3</math> and repeat above fum. <math>\text{HNO}_3</math> procedure.</p>
	Precipitate
	<p>Dissolve in 30 ml of <math>\text{H}_2\text{O}</math>. Add 10 mg of <math>\text{Ba}^{2+}</math>.</p>
	Remove barium and radium as chromate and milk $^{90}\text{Y}$ .

## 考 察

いずれの月も北海道は本州各地に比して一般に汚染程度がきわめて低い。

昭和 37 年 4 月より、わが国西部にいちじるしい汚染を認め始め、6 月に至って高度の汚染が北海道南部以南の日本全国に広がった。これは太平洋海域において、ほとんど日に 1 度の割合で行なわれた核実験の影響によるものと考えられよう。しかしこれらの汚染は 8 月における室戸岬、10 月における室蘭、長尾鼻などのごとく、時には高い汚染を認めたが、7 月以降徐々に低下の傾向をたどった。

しかし、昭和 38 年 1 月に至り、ふたたび汚染が高まる徴候を示し、他地域に比して低レベルではあったが北海道を含めた全国的な規模で汚染が拡大し、汚染度においても昭和 38 年 3 月長尾鼻に最高値を認め

た。太平洋海域における核実験の影響が冬の気候に遭遇したためわが国に及んだものと考えられよう。

特に著しい汚染を示したものの数例 ( $20\mu\text{C}/\text{L}$  以上) について、国際放射線防護委員会勧告 (ICRP) に示された職業人に対する飲料水中の  $^{90}\text{Sr}$  許容濃度と比較した結果を Table 3 に示す。

これらはいずれも未ろ過天水に見られ、その最高値を示したものの場合でも許容濃度の  $3/100$  であり、またろ過天水はこれらよりかなり低い場合が多いので、これらの水を飲料水とした場合、 $^{90}\text{Sr}$  汚染に関しては差支えないものと考えられる。

## 文 献

1) 城戸：衛生試験報, 80, 54(1962)

(昭和38年5月31日受付)

Table 2. Sampling data, gross radio-activity and  $^{90}\text{Sr}$  activity.  
Sōyamisaki, Hokkaido

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{c/L}^{*2}$ )	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{c/L}^{*2}$ )
Apr. 16, 1962	F	8.2( $\pm$ 2.0)	Aug. 17, 1962	0.508	0.42( $\pm$ 0.06)
"	NF	117.1( $\pm$ 6.2)	"	0.464	0.49( $\pm$ 0.04)
May 19, 1962	F	4.3( $\pm$ 2.1)	June 26, 1962	0.202	0.04( $\pm$ 0.02)
"	NF	25.7( $\pm$ 3.3)	"	0.239	0.04( $\pm$ 0.02)
June 21, 1962	F	2.2( $\pm$ 2.1)	Aug. 28, 1962	0.353	0.14( $\pm$ 0.03)
"	NF	9.5( $\pm$ 2.5)	Aug. 27, 1962	0.287	0.37( $\pm$ 0.04)
July 31, 1962	F	21.2( $\pm$ 3.0)	Sep. 7, 1962	0.257	0.18( $\pm$ 0.04)
"	NF	29.8( $\pm$ 3.2)	Oct. 3, 1962	0.227	0.10( $\pm$ 0.07)
Sep. 4, 1962	F	0.7( $\pm$ 2.1)	Oct. 16, 1962	0.163	0.18( $\pm$ 0.03)
"	NF	9.2( $\pm$ 2.5)	"	0.103	0.21( $\pm$ 0.04)
Sep. 26, 1962	F	2.6( $\pm$ 1.9)	Mar. 22, 1963	0.287	0.30( $\pm$ 0.03)
"	NF	14.2( $\pm$ 2.5)	"	0.154	0.29( $\pm$ 0.05)
Oct. 27, 1962	F	8.7( $\pm$ 2.0)	Mar. 30, 1963	0.164	0.03( $\pm$ 0.03)
"	NF	6.6( $\pm$ 2.0)	"	0.206	0.21( $\pm$ 0.04)
Nov. 23, 1962	F	6.7( $\pm$ 1.7)	Mar. 29, 1963	0.171	0.09( $\pm$ 0.04)
"	NF	113.1( $\pm$ 6.5)	Mar. 26, 1963	1.568	0.24( $\pm$ 0.01)
Dec. 21, 1962	F	6.1( $\pm$ 1.9)	Mar. 30, 1963	0.201	0.07( $\pm$ 0.04)
"	NF	416.8( $\pm$ 12.3)	"	0.173	0.26( $\pm$ 0.04)
Jan. 29, 1963	F	—	—	—	0.10( $\pm$ 0.03)
"	NF	—	—	—	5.79( $\pm$ 0.13)
Feb. 28, 1963	F	11.3( $\pm$ 2.3)	Apr. 17, 1963	0.202	0.09( $\pm$ 0.03)
"	NF	768.4( $\pm$ 16.2)	"	0.750	11.89( $\pm$ 0.23)
Mar. 4, 1963	F	—	—	—	0.42( $\pm$ 0.40)
"	NF	16.7( $\pm$ 2.7)	May 15, 1963	0.160	0.16( $\pm$ 0.03)

## Nemuro, Hokkaido

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{c/L}^{*2}$ )	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{c/L}^{*2}$ )
Apr. 25, 1962	F	—	—	—	0.03( $\pm$ 0.02)
"	NF	—	—	—	0.04( $\pm$ 0.02)
June 18, 1962	F	-1.7( $\pm$ 5.6)	Aug. 14, 1962	0.038	0.04( $\pm$ 0.04)
"	NF	—	—	—	3.76( $\pm$ 0.13)
July 21, 1962	F	22.1( $\pm$ 2.7)	Sep. 5, 1962	0.948	2.56( $\pm$ 0.09)
"	NF	217.9( $\pm$ 7.8)	Sep. 7, 1962	0.585	3.78( $\pm$ 0.11)
Aug. 30, 1962	F	21.7( $\pm$ 3.1)	Oct. 13, 1962	0.607	0.25( $\pm$ 0.03)
"	NF	25.9( $\pm$ 3.5)	"	0.555	0.16( $\pm$ 0.03)
Sep. 22, 1962	F	20.9( $\pm$ 3.1)	Mar. 22, 1963	0.706	0.08( $\pm$ 0.03)
"	NF	40.0( $\pm$ 3.5)	"	0.151	0.50( $\pm$ 0.04)
Oct. 20, 1962	F	15.2( $\pm$ 3.1)	Mar. 4, 1963	0.711	0.12( $\pm$ 0.03)
"	NF	6.6( $\pm$ 2.6)	"	0.530	0.12( $\pm$ 0.03)
Nov. 25, 1962	F	—	—	—	0.09( $\pm$ 0.03)
"	NF	—	—	—	0.08( $\pm$ 0.02)
Dec. 1962	F	18.5( $\pm$ 2.6)	Mar. 30, 1963	0.201	0.15( $\pm$ 0.03)
"	NF	333.0( $\pm$ 7.7)	Apr. 1, 1963	0.202	8.81( $\pm$ 0.17)
Jan. 16, 1963	F	—	—	—	0.12( $\pm$ 0.03)
"	NF	—	—	—	0.05( $\pm$ 0.04)
Feb. 25, 1963	F	—	—	—	0.25( $\pm$ 0.04)
"	NF	—	—	—	0.35( $\pm$ 0.04)
Mar. 25, 1963	F	24.7( $\pm$ 3.2)	May 6, 1963	0.524	0.04( $\pm$ 0.40)
"	NF	1040.2( $\pm$ 19.2)	"	0.235	3.29( $\pm$ 0.11)



## Shikotan, Hokkaido

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 18, 1962	F	79.3( $\pm 4.3$ )	July 5, 1962	0.175	0.29( $\pm 0.16$ )
"	NF	8.9( $\pm 1.7$ )	"	0.176	0.12( $\pm 0.23$ )
May 20, 1962	F	5.5( $\pm 1.9$ )	July. 28, 1962	0.312	0.18( $\pm 0.06$ )
"	NF	2.0( $\pm 2.0$ )	"	0.253	1.41( $\pm 0.03$ )
June 21, 1962	F	17.9( $\pm 3.0$ )	Aug. 27, 1962	0.461	0.25( $\pm 0.04$ )
"	NF	4.5( $\pm 2.3$ )	Aug. 28, 1962	0.400	0.20( $\pm 0.04$ )
July 25, 1962	F	—	—	—	0.15( $\pm 0.03$ )
"	NF	—	—	—	0.26( $\pm 0.04$ )
Aug. 25, 1962	F	1.4( $\pm 2.3$ )	Oct. 15, 1962	0.221	0.15( $\pm 0.03$ )
"	NF	30.7( $\pm 8.7$ )	Oct. 13, 1962	0.227	0.26( $\pm 0.04$ )
Sep. 1962	F	—	—	—	0.09( $\pm 0.03$ )
"	NF	—	—	—	0.14( $\pm 0.03$ )
Oct. 1962	F	—	—	—	0.13( $\pm 0.03$ )
"	NF	3.9( $\pm 2.1$ )	Mar. 25, 1963	0.359	0.09( $\pm 0.03$ )
Nov. 25, 1962	F	3.9( $\pm 1.4$ )	Mar. 28, 1963	0.256	0.06( $\pm 0.03$ )
"	NF	8.7( $\pm 2.7$ )	"	0.257	0.10( $\pm 0.03$ )
Jan. 5, 1963	F	6.7( $\pm 2.0$ )	Mar. 30, 1963	0.256	0.08( $\pm 0.03$ )
"	NF	10.3( $\pm 2.2$ )	"	0.240	0.08( $\pm 0.03$ )
Jan. 29, 1963	F	6.8( $\pm 2.6$ )	Apr. 3, 1963	0.426	0.09( $\pm 0.03$ )
"	NF	13.9( $\pm 3.1$ )	"	0.356	0.10( $\pm 0.03$ )
Feb. 1963	F	—	—	—	0.32( $\pm 0.01$ )
"	NF	—	—	—	0.29( $\pm 0.01$ )
Mar. 1963	F	—	—	—	0.32( $\pm 0.01$ )
"	NF	—	—	—	0.29( $\pm 0.01$ )

## Muroran, Hokkaido

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 1962	F	162.8( $\pm 35.5$ )	Aug. 20, 1962	0.524	3.06( $\pm 0.10$ )
"	NF	43.4( $\pm 3.4$ )	"	0.575	3.56( $\pm 0.09$ )
May 17, 1962	F	—	—	—	1.36( $\pm 0.07$ )
"	NF	—	—	—	4.50( $\pm 0.08$ )
June 24, 1962	F	40.5( $\pm 3.6$ )	Aug. 27, 1962	0.750	2.85( $\pm 0.10$ )
"	NF	3337.6( $\pm 83.7$ )	"	2.355	18.72( $\pm 0.38$ )
July 20, 1962	F	51.9( $\pm 4.3$ )	Sep. 9, 1962	0.384	2.57( $\pm 0.09$ )
"	NF	361.6( $\pm 9.8$ )	"	0.313	9.29( $\pm 0.18$ )
Aug. 23, 1962	F	31.6( $\pm 3.5$ )	Oct. 1, 1962	0.135	1.77( $\pm 0.08$ )
"	NF	84.2( $\pm 5.2$ )	"	0.467	5.22( $\pm 0.13$ )
Sep. 18, 1962	F	—	—	—	1.02( $\pm 0.06$ )
"	NF	—	—	—	3.87( $\pm 0.11$ )
Oct. 22, 1962	F	23.0( $\pm 2.9$ )	Mar. 25, 1963	0.224	0.18( $\pm 0.08$ )
"	NF	150.7( $\pm 7.0$ )	"	0.182	11.61( $\pm 0.23$ )
Nov. 28, 1962	F	41.9( $\pm 3.7$ )	Mar. 25, 1963	0.455	0.12( $\pm 0.08$ )
"	NF	278.2( $\pm 8.6$ )	"	0.441	4.29( $\pm 0.12$ )
Dec. 1962	F	25.4( $\pm 3.1$ )	Apr. 1, 1963	0.441	2.36( $\pm 0.09$ )
"	NF	349.6( $\pm 12.0$ )	Mar. 30, 1963	0.352	2.77( $\pm 0.09$ )
Jan. 23, 1963	F	35.3( $\pm 3.6$ )	Apr. 3, 1963	0.612	2.36( $\pm 0.09$ )
"	NF	29.2( $\pm 3.7$ )	"	0.642	2.35( $\pm 0.05$ )
Feb. 26, 1963	F	35.2( $\pm 3.5$ )	Apr. 17, 1963	0.525	2.51( $\pm 0.09$ )
"	NF	756.6( $\pm 16.9$ )	"	0.345	26.46( $\pm 0.48$ )
Mar. 24, 1963	F	38.4( $\pm 3.3$ )	May 15, 1963	0.147	2.44( $\pm 0.09$ )
"	NF	1550.4( $\pm 2.7$ )	"	0.629	9.21( $\pm 0.20$ )

## Ōmazaki, Aomori

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}$ )*2
May 7, 1962	F	486.5 ( $\pm 19.2$ )	Aug. 20, 1962	0.292	4.70 ( $\pm 0.09$ )
" "	NF	19.2 ( $\pm 4.1$ )	" "	0.510	1.20 ( $\pm 0.08$ )
June 4, 1962	F	—	—	—	1.07 ( $\pm 0.08$ )
" "	NF	268.2 ( $\pm 8.6$ )	Aug. 27, 1962	0.627	6.47 ( $\pm 0.16$ )
June 25, 1962	F	214.0 ( $\pm 7.7$ )	Aug. 27, 1962	0.494	—
" "	NF	—	—	—	—
Aug. 4, 1962	F	216.9 ( $\pm 7.5$ )	Sep. 7, 1962	0.361	2.78 ( $\pm 0.10$ )
" "	NF	111.7 ( $\pm 5.7$ )	" "	0.241	5.56 ( $\pm 0.14$ )
Aug. 24, 1962	F	59.7 ( $\pm 4.5$ )	Oct. 16, 1962	0.366	3.72 ( $\pm 0.11$ )
" "	NF	79.6 ( $\pm 4.9$ )	" "	0.310	6.24 ( $\pm 0.17$ )
Sep. 29, 1962	F	—	—	—	3.13 ( $\pm 0.12$ )
" "	NF	—	—	—	2.34 ( $\pm 0.10$ )
Oct. 24, 1962	F	44.0 ( $\pm 3.8$ )	Mar. 28, 1963	0.310	3.46 ( $\pm 0.09$ )
" "	NF	53.4 ( $\pm 4.0$ )	Mar. 25, 1963	0.242	2.41 ( $\pm 0.09$ )
Nov. 29, 1962	F	9.7 ( $\pm 2.2$ )	Mar. 26, 1963	0.364	4.73 ( $\pm 0.12$ )
" "	NF	316.4 ( $\pm 11.0$ )	" "	0.345	3.58 ( $\pm 0.11$ )
Dec. 1962	F	88.7 ( $\pm 5.1$ )	Apr. 1, 1963	0.376	5.92 ( $\pm 0.14$ )
" "	NF	—	—	—	4.45 ( $\pm 0.12$ )
Jan. 26, 1962	F	110.0 ( $\pm 4.3$ )	Apr. 3, 1963	0.417	8.56 ( $\pm 0.18$ )
" "	NF	421.6 ( $\pm 2.4$ )	" "	0.478	4.84 ( $\pm 0.12$ )
Mar. 1, 1963	F	164.2 ( $\pm 6.7$ )	Apr. 18, 1963	0.475	8.33 ( $\pm 0.19$ )
" "	NF	340.7 ( $\pm 11.6$ )	" "	0.430	8.89 ( $\pm 0.19$ )

## Unoazaki, Fukushima

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}$ )*2
Apr. 25, 1962	F	23.9 ( $\pm 2.9$ )	Aug. 20, 1962	0.499	1.20 ( $\pm 0.05$ )
" "	NF	184.2 ( $\pm 7.2$ )	Aug. 21, 1962	0.226	3.25 ( $\pm 0.13$ )
May 25, 1962	F	647.5 ( $\pm 23.6$ )	Aug. 20, 1962	0.923	1.61 ( $\pm 0.05$ )
" "	NF	624.6 ( $\pm 16.5$ )	" "	0.902	9.02 ( $\pm 0.10$ )
June 25, 1962	F	16.3 ( $\pm 2.9$ )	Aug. 27, 1962	0.533	2.01 ( $\pm 0.86$ )
" "	NF	279.6 ( $\pm 8.5$ )	" "	0.313	5.13 ( $\pm 0.18$ )
July 26, 1962	F	1671.5 ( $\pm 36.6$ )	Aug. 31, 1962	0.667	—
" "	NF	72.7 ( $\pm 4.7$ )	Sep. 6, 1962	0.297	4.14 ( $\pm 0.12$ )
Aug. 27, 1962	F	9.5 ( $\pm 2.8$ )	Sep. 29, 1962	0.504	1.26 ( $\pm 0.07$ )
" "	NF	43.5 ( $\pm 3.8$ )	" "	0.113	2.61 ( $\pm 0.09$ )
Sep. 1962	F	10.4 ( $\pm 2.5$ )	Mar. 22, 1963	0.504	1.27 ( $\pm 0.06$ )
" "	NF	50.0 ( $\pm 3.9$ )	" "	0.221	2.78 ( $\pm 0.11$ )
Oct. 25, 1962	F	16.0 ( $\pm 2.7$ )	Mar. 29, 1963	0.524	1.22 ( $\pm 0.07$ )
" "	NF	56.1 ( $\pm 4.4$ )	" "	0.344	4.62 ( $\pm 0.12$ )
Nov. 25, 1962	F	24.3 ( $\pm 3.1$ )	Mar. 26, 1963	0.392	1.39 ( $\pm 0.06$ )
" "	NF	92.3 ( $\pm 5.0$ )	" "	0.192	4.40 ( $\pm 0.14$ )
Dec. 25, 1962	F	29.5 ( $\pm 3.2$ )	Mar. 30, 1963	0.373	1.96 ( $\pm 0.07$ )
" "	NF	403.1 ( $\pm 10.1$ )	Mar. 29, 1963	0.313	5.83 ( $\pm 0.13$ )
Jan. 1963	F	—	—	—	2.52 ( $\pm 0.09$ )
" "	NF	—	—	—	4.13 ( $\pm 0.11$ )
Feb. 1963	F	—	—	—	2.40 ( $\pm 0.09$ )
" "	NF	2410.6 ( $\pm 42.2$ )	May 6, 1963	0.232	11.11 ( $\pm 0.19$ )

## Ryozu (Hazikizaki Lighthouse), Niigata

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 18, 1962	F	—	—	—	0.04 ( $\pm 0.54$ )
"	N F	—	—	—	2.96 ( $\pm 0.18$ )
May 17, 1962	F	—	—	—	3.54 ( $\pm 0.16$ )
"	N F	—	—	—	0.53 ( $\pm 0.02$ )
June 19, 1962	F	94.7 ( $\pm 5.1$ )	Aug. 28, 1962	0.272	3.91 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	302.6 ( $\pm 9.0$ )	"	0.438	10.41 ( $\pm 0.17$ )
July 20, 1962	F	176.5 ( $\pm 8.5$ )	Aug. 31, 1962	0.253	3.90 ( $\pm 0.12$ )
"	N F	171.2 ( $\pm 6.8$ )	Sep. 7, 1962	0.390	7.68 ( $\pm 0.17$ )
Aug. 18, 1962	F	46.8 ( $\pm 3.8$ )	Sep. 6, 1962	0.072	4.38 ( $\pm 0.12$ )
"	N F	120.1 ( $\pm 5.8$ )	"	0.223	9.35 ( $\pm 0.17$ )
Sep. 18, 1962	F	24.7 ( $\pm 3.1$ )	Mar. 23, 1963	0.304	4.64 ( $\pm 0.17$ )
"	N F	116.3 ( $\pm 5.5$ )	"	0.148	3.75 ( $\pm 0.13$ )
Oct. 20, 1962	F	—	—	—	4.55 ( $\pm 0.15$ )
"	N F	48.7 ( $\pm 3.8$ )	Mar. 26, 1963	0.116	3.85 ( $\pm 0.13$ )
Nov. 19, 1962	F	39.8 ( $\pm 3.6$ )	Mar. 28, 1963	0.127	4.78 ( $\pm 0.12$ )
"	N F	545.0 ( $\pm 11.1$ )	"	0.090	5.64 ( $\pm 0.13$ )
Dec. 17, 1963	F	52.3 ( $\pm 39.2$ )	Mar. 29, 1963	0.145	5.31 ( $\pm 0.13$ )
"	N F	430.7 ( $\pm 12.6$ )	Mar. 30, 1963	0.210	11.32 ( $\pm 0.23$ )
Jan. 24, 1963	F	119.1 ( $\pm 5.7$ )	Apr. 3, 1963	0.319	13.13 ( $\pm 0.76$ )
"	N F	294.4 ( $\pm 14.2$ )	"	0.297	13.23 ( $\pm 0.77$ )
Mar. 10, 1963	F	119.1 ( $\pm 5.5$ )	Apr. 17, 1963	0.390	6.60 ( $\pm 0.14$ )
"	N F	819.2 ( $\pm 18.6$ )	"	0.842	29.19 ( $\pm 0.51$ )
Mar. 25, 1963	F	123.8 ( $\pm 5.8$ )	May 6, 1963	0.326	12.63 ( $\pm 0.24$ )
"	N F	808.2 ( $\pm 17.1$ )	"	0.215	12.12 ( $\pm 0.23$ )

## Miyakezima, Tokyo

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 19, 1962	F	—	—	—	3.62 ( $\pm 0.10$ )
"	N F	—	—	—	2.07 ( $\pm 0.08$ )
May 15, 1962	F	160.9 ( $\pm 6.7$ )	July 18, 1963	0.403	1.48 ( $\pm 0.03$ )
"	N F	635.0 ( $\pm 4.9$ )	"	0.184	5.42 ( $\pm 0.14$ )
June 25, 1962	F	407.0 ( $\pm 12.9$ )	Aug. 28, 1962	0.503	6.61 ( $\pm 0.15$ )
"	N F	952.5 ( $\pm 19.3$ )	"	0.365	13.76 ( $\pm 0.24$ )
July 18, 1962	F	245.7 ( $\pm 7.8$ )	Sep. 7, 1962	0.119	—
"	N F	283.5 ( $\pm 8.4$ )	Sep. 5, 1962	0.132	—
Sep. 24, 1962	F	44.0 ( $\pm 3.8$ )	Mar. 23, 1963	0.350	1.34 ( $\pm 0.08$ )
"	N F	225.4 ( $\pm 7.5$ )	"	0.145	5.44 ( $\pm 0.15$ )
Oct. 20, 1962	F	—	—	—	4.20 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	51.1 ( $\pm 4.1$ )	Mar. 25, 1963	0.520	3.71 ( $\pm 0.10$ )
Nov. 15, 1962	F	72.7 ( $\pm 4.6$ )	Mar. 28, 1963	0.300	1.48 ( $\pm 0.07$ )
"	N F	119.0 ( $\pm 7.2$ )	Mar. 29, 1963	0.304	1.65 ( $\pm 0.07$ )
Dec. 15, 1962	F	185.2 ( $\pm 6.9$ )	Mar. 30, 1963	0.323	3.59 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	310.8 ( $\pm 9.0$ )	Apr. 1, 1963	0.361	7.57 ( $\pm 0.19$ )
Jan. 15, 1963	F	57.4 ( $\pm 4.1$ )	Apr. 1, 1963	0.270	3.54 ( $\pm 0.10$ )
"	N F	274.7 ( $\pm 8.7$ )	Apr. 2, 1963	0.423	8.12 ( $\pm 0.19$ )
Feb. 16, 1963	F	—	—	—	5.28 ( $\pm 0.13$ )
"	N F	—	—	—	10.71 ( $\pm 0.22$ )
Mar. 16, 1963	F	368.5 ( $\pm 10.8$ )	Apr. 18, 1963	1.200	18.17 ( $\pm 0.29$ )
"	N F	537.5 ( $\pm 15.7$ )	"	1.016	17.46 ( $\pm 0.28$ )

## Kamishima, Mie

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}^*$ )	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}^*$ ) <sup>2</sup>
Apr. 25, 1962	F	—	—	—	2.27 ( $\pm 0.06$ )
"	NF	6337.4 ( $\pm 67.0$ )	July 5, 1962	0.211	0.70 ( $\pm 0.06$ )
May 17, 1962	F	25.0 ( $\pm 5.4$ )	Aug. 15, 1962	0.217	1.35 ( $\pm 0.30$ )
"	NF	477.6 ( $\pm 19.7$ )	"	0.092	22.21 ( $\pm 0.46$ )
June 22, 1962	F	6.4 ( $\pm 6.5$ )	Aug. 27, 1962	0.267	2.53 ( $\pm 0.10$ )
June 23, 1962	NF	793.5 ( $\pm 16.6$ )	Aug. 28, 1962	0.062	11.30 ( $\pm 0.19$ )
July 21, 1962	F	15.9 ( $\pm 3.8$ )	Sep. 7, 1962	0.297	1.60 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	231.9 ( $\pm 9.7$ )	Aug. 31, 1962	4.663	2.25 ( $\pm 0.09$ )
Aug. 1962	F	27.3 ( $\pm 3.4$ )	Sep. 5, 1962	0.209	4.58 ( $\pm 0.11$ )
"	NF	23.5 ( $\pm 3.1$ )	Sep. 6, 1962	0.090	1.79 ( $\pm 0.07$ )
Sep. 24, 1962	F	12.4 ( $\pm 2.5$ )	Mar. 22, 1963	0.251	1.73 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	41.9 ( $\pm 3.7$ )	"	0.325	8.84 ( $\pm 0.20$ )
Oct. 25, 1962	F	24.1 ( $\pm 2.0$ )	Mar. 28, 1963	0.247	1.88 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	67.3 ( $\pm 4.4$ )	Mar. 25, 1963	0.241	4.81 ( $\pm 0.13$ )
Nov. 1962	F	18.4 ( $\pm 1.0$ )	Mar. 26, 1963	0.185	1.35 ( $\pm 0.07$ )
"	NF	54.5 ( $\pm 3.9$ )	Mar. 28, 1963	0.037	3.42 ( $\pm 0.11$ )
Dec. 1962	F	317.4 ( $\pm 8.7$ )	Apr. 1, 1963	0.067	4.95 ( $\pm 0.12$ )
"	NF	21.1 ( $\pm 2.7$ )	Mar. 30, 1963	0.202	2.29 ( $\pm 0.07$ )
Jan. 1963	F	126.8 ( $\pm 5.8$ )	Apr. 2, 1963	0.329	2.40 ( $\pm 0.11$ )
"	NF	18.0 ( $\pm 2.7$ )	Apr. 1, 1963	0.205	1.36 ( $\pm 0.06$ )
Feb. 1963	F	—	—	—	2.24 ( $\pm 0.09$ )
"	NF	—	—	—	8.63 ( $\pm 0.20$ )
Mar. 1963	F	79.4 ( $\pm 4.9$ )	Apr. 18, 1963	0.194	2.96 ( $\pm 0.10$ )
"	NF	—	—	—	8.41 ( $\pm 0.18$ )

## Shionomisaki, Wakayama

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}^*$ ) <sup>2</sup>	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C}/\text{L}^*$ ) <sup>2</sup>
Apr. 1962	F	—	—	—	0.64 ( $\pm 0.03$ )
"	NF	—	—	—	0.79 ( $\pm 0.16$ )
May 1962	F	37.2 ( $\pm 1.00$ )	June 26, 1962	0.275	—
"	NF	266.3 ( $\pm 8.00$ )	"	0.097	3.47 ( $\pm 0.08$ )
June 1962	F	24.9 ( $\pm 3.2$ )	Aug. 27, 1962	0.384	1.87 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	74.4 ( $\pm 11.6$ )	Aug. 28, 1962	0.152	3.65 ( $\pm 0.10$ )
July 1962	F	50.8 ( $\pm 4.2$ )	Sep. 7, 1962	0.619	2.50 ( $\pm 0.13$ )
"	NF	264.4 ( $\pm 7.1$ )	"	0.355	2.52 ( $\pm 0.09$ )
Aug. 1962	F	13.6 ( $\pm 3.0$ )	Oct. 1, 1962	0.270	2.62 ( $\pm 0.09$ )
"	NF	68.9 ( $\pm 4.6$ )	"	0.093	2.89 ( $\pm 0.11$ )
Sep. 1962	F	17.8 ( $\pm 2.8$ )	Mar. 23, 1963	0.283	0.98 ( $\pm 0.05$ )
"	NF	33.5 ( $\pm 3.4$ )	"	0.226	4.41 ( $\pm 0.14$ )
Oct. 1962	F	8.2 ( $\pm 2.3$ )	Mar. 25, 1963	0.291	2.19 ( $\pm 0.82$ )
"	NN	42.0 ( $\pm 3.6$ )	"	0.174	3.20 ( $\pm 0.99$ )
Nov. 17, 1962	F	739.6 ( $\pm 16.6$ )	Mar. 26, 1963	0.296	0.83 ( $\pm 0.05$ )
"	NF	86.3 ( $\pm 4.8$ )	Mar. 25, 1963	0.104	3.49 ( $\pm 0.13$ )
Dec. 1962	F	21.1 ( $\pm 2.9$ )	Apr. 1, 1963	0.363	0.84 ( $\pm 0.06$ )
"	NF	110.8 ( $\pm 5.3$ )	Mar. 30, 1963	0.155	4.41 ( $\pm 0.13$ )
Jan. 1963	F	23.1 ( $\pm 2.1$ )	Apr. 1, 1963	0.149	1.36 ( $\pm 0.06$ )
"	NF	131.3 ( $\pm 5.9$ )	Apr. 2, 1963	0.255	6.77 ( $\pm 0.18$ )
Feb. 22, 1963	F	27.0 ( $\pm 4.5$ )	Apr. 17, 1963	0.270	1.16 ( $\pm 0.06$ )
"	NF	122.6 ( $\pm 5.6$ )	"	0.205	6.24 ( $\pm 0.17$ )
Mar. 18, 1963	F	49.4 ( $\pm 3.9$ )	May 1, 1963	0.289	1.53 ( $\pm 0.02$ )
"	NF	193.6 ( $\pm 6.8$ )	"	0.056	4.90 ( $\pm 0.12$ )

## Nagaohana, Tottori

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 18, 1962	F	155.2 ( $\pm 7.7$ )	Aug. 17, 1962	0.152	11.81 ( $\pm 0.22$ )
"	N F	26.4 ( $\pm 9.7$ )	"	0.103	12.48 ( $\pm 0.25$ )
May 23, 1962	F	97.0 ( $\pm 4.0$ )	July 5, 1962	0.212	1.70 ( $\pm 0.28$ )
"	N F	952.9 ( $\pm 25.6$ )	"	0.099	2.00 ( $\pm 0.57$ )
June 21, 1962	F	61.7 ( $\pm 4.3$ )	Aug. 27, 1962	0.322	6.72 ( $\pm 0.16$ )
"	N F	394.1 ( $\pm 9.7$ )	"	0.078	16.57 ( $\pm 0.23$ )
July 29, 1962	F	5.1 ( $\pm 2.6$ )	Sep. 6, 1962	0.347	1.42 ( $\pm 0.07$ )
"	N F	90.3 ( $\pm 5.0$ )	Sep. 7, 1962	0.224	8.50 ( $\pm 0.17$ )
Aug. 19, 1962	F	198.1 ( $\pm 7.1$ )	Sep. 29, 1962	0.221	1.04 ( $\pm 0.07$ )
"	N F	358.2 ( $\pm 9.2$ )	"	0.028	6.69 ( $\pm 0.17$ )
Sep. 22, 1962	F	6.4 ( $\pm 2.5$ )	Mar. 23, 1963	0.278	0.58 ( $\pm 0.05$ )
Sep. 21, 1962	N F	62.3 ( $\pm 4.2$ )	"	0.108	6.70 ( $\pm 0.22$ )
Oct. 25, 1962	F	—	"	—	0.99 ( $\pm 0.59$ )
"	N F	15.5 ( $\pm 2.6$ )	Mar. 30, 1963	0.139	11.63 ( $\pm 0.19$ )
Nov. 20, 1962	F	253.5 ( $\pm 8.3$ )	Apr. 1, 1963	0.273	10.51 ( $\pm 0.21$ )
"	N F	145.8 ( $\pm 22.9$ )	"	0.128	0.61 ( $\pm 0.05$ )
Dec. 28, 1962	F	24.7 ( $\pm 3.0$ )	May 6, 1963	0.274	3.04 ( $\pm 0.14$ )
"	N F	203.3 ( $\pm 7.6$ )	"	0.186	14.62 ( $\pm 0.17$ )
Jan. 23, 1963	F	199.3 ( $\pm 7.5$ )	"	0.548	15.25 ( $\pm 0.25$ )
"	N F	1891.1 ( $\pm 37.9$ )	May 15, 1963	0.474	17.91 ( $\pm 0.34$ )
Feb. 27, 1963	F	231.4 ( $\pm 7.7$ )	Apr. 18, 1963	0.260	13.89 ( $\pm 0.25$ )
"	N F	1868.1 ( $\pm 27.1$ )	"	0.560	26.97 ( $\pm 0.53$ )
Mar. 24, 1963	F	44.4 ( $\pm 3.6$ )	May 6, 1963	0.144	4.63 ( $\pm 0.14$ )
"	N F	2725.3 ( $\pm 4.35$ )	"	0.097	32.15 ( $\pm 0.43$ )

## Murotomisaki, Kōchi

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
May 18, 1962	F	—	—	—	1.84 ( $\pm 0.05$ )
"	N F	—	—	—	1.10 ( $\pm 0.07$ )
June 21, 1962	F	132.5 ( $\pm 5.8$ )	Aug. 28, 1962	0.216	1.05 ( $\pm 0.07$ )
"	N F	1257.6 ( $\pm 30.1$ )	"	0.037	24.59 ( $\pm 0.34$ )
July 27, 1962	F	71.8 ( $\pm 4.4$ )	Oct. 3, 1962	0.101	2.78 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	583.1 ( $\pm 14.3$ )	Sep. 8, 1962	1.784	9.52 ( $\pm 0.18$ )
Aug. 26, 1962	F	42.8 ( $\pm 3.8$ )	Sep. 29, 1962	0.059	5.85 ( $\pm 0.14$ )
"	N F	128.8 ( $\pm 6.1$ )	"	0.362	18.29 ( $\pm 0.32$ )
Sep. 1962	F	—	—	—	2.49 ( $\pm 0.09$ )
"	N F	—	—	—	2.50 ( $\pm 0.11$ )
Oct. 20, 1962	F	—	—	—	0.94 ( $\pm 0.06$ )
"	N F	14.7 ( $\pm 1.3$ )	Mar. 28, 1963	0.243	7.93 ( $\pm 0.14$ )
Nov. 15, 1962	F	21.4 ( $\pm 2.8$ )	Mar. 29, 1963	0.089	1.13 ( $\pm 0.37$ )
"	N F	84.7 ( $\pm 4.7$ )	"	0.090	3.45 ( $\pm 0.13$ )
Dec. 17, 1962	F	22.6 ( $\pm 2.5$ )	Mar. 30, 1963	0.129	2.41 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	—	—	—	30.20 ( $\pm 0.53$ )
Jan. 24, 1963	F	33.9 ( $\pm 4.9$ )	Apr. 1, 1963	0.131	2.53 ( $\pm 0.09$ )
"	N F	1366.3 ( $\pm 23.1$ )	"	0.509	25.33 ( $\pm 0.34$ )
Feb. 16, 1963	F	—	—	—	3.51 ( $\pm 0.11$ )
"	N F	960 ( $\pm 18.9$ )	Apr. 18, 1963	0.349	11.18 ( $\pm 0.23$ )

## Wakanomiya, Nagasaki

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 25, 1962	F	—	—	—	0.52 ( $\pm 0.01$ )
"	NF	—	—	—	3.32 ( $\pm 0.09$ )
May 25, 1962	F	200.4 ( $\pm 5.1$ )	July 6, 1962	0.210	0.54 ( $\pm 0.03$ )
"	NF	161.7 ( $\pm 5.0$ )	"	0.202	0.42 ( $\pm 0.03$ )
June 21, 1962	F	—	—	—	12.42 ( $\pm 0.17$ )
"	NF	—	—	—	13.02 ( $\pm 0.27$ )
July 21, 1962	F	41.6 ( $\pm 3.6$ )	Sep. 7, 1962	0.199	2.42 ( $\pm 0.10$ )
"	NF	101.7 ( $\pm 5.3$ )	Aug. 31, 1962	0.088	6.08 ( $\pm 0.11$ )
Aug. 24, 1962	F	23.0 ( $\pm 3.2$ )	Sep. 29, 1962	0.176	1.99 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	51.4 ( $\pm 5.0$ )	"	0.077	1.55 ( $\pm 0.07$ )
Sep. 17, 1962	F	29.2 ( $\pm 3.1$ )	Mar. 22, 1963	0.183	1.95 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	389.5 ( $\pm 11.8$ )	"	0.078	2.25 ( $\pm 0.09$ )
Oct. 24, 1962	F	18.5 ( $\pm 3.0$ )	Mar. 4, 1963	0.280	2.39 ( $\pm 0.11$ )
"	NF	26.0 ( $\pm 3.2$ )	"	0.143	1.86 ( $\pm 0.09$ )
Nov. 15, 1962	F	23.2 ( $\pm 2.0$ )	Mar. 28, 1963	0.149	2.56 ( $\pm 0.05$ )
"	NF	35.8 ( $\pm 3.4$ )	"	0.118	2.55 ( $\pm 0.09$ )
Dec. 15, 1962	F	48.2 ( $\pm 3.5$ )	Mar. 29, 1963	0.226	3.61 ( $\pm 0.11$ )
"	NF	81.2 ( $\pm 4.6$ )	Mar. 29, 1963	0.147	2.33 ( $\pm 0.09$ )
Jan. 25, 1963	F	56.4 ( $\pm 1.1$ )	Apr. 3, 1963	0.230	4.88 ( $\pm 0.13$ )
"	NF	804.8 ( $\pm 4.8$ )	"	0.247	5.57 ( $\pm 0.14$ )
Feb. 25, 1963	F	91.6 ( $\pm 5.0$ )	Apr. 17, 1963	0.332	3.29 ( $\pm 0.10$ )
"	NF	128.5 ( $\pm 5.8$ )	Apr. 18, 1963	0.145	6.76 ( $\pm 0.14$ )
Mar. 23, 1963	F	—	—	—	7.69 ( $\pm 0.15$ )
"	NF	200.2 ( $\pm 7.0$ )	May 6, 1963	0.179	4.11 ( $\pm 0.11$ )

## Makurazaki (Kusakakizima Lighthouse), Kagoshima

Date of Sampling	Treatment*1	Gross Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2	Date of Measurement	Residue (g/L)	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{C/L}$ )*2
Apr. 17, 1962	F	133.9 ( $\pm 8.0$ )	Aug. 20, 1962	0.856	3.78 ( $\pm 0.59$ )
"	NF	113.8 ( $\pm 7.0$ )	Aug. 21, 1962	1.417	12.33 ( $\pm 1.02$ )
May 19, 1962	F	111.3 ( $\pm 1.4$ )	July 5, 1962	0.486	1.99 ( $\pm 0.02$ )
"	NF	14.4 ( $\pm 0.8$ )	"	0.388	1.15 ( $\pm 0.05$ )
June 17, 1962	F	—	—	—	5.13 ( $\pm 1.95$ )
"	NF	—	—	—	12.31 ( $\pm 0.17$ )
July 24, 1962	F	56.9 ( $\pm 4.2$ )	Sep. 7, 1962	0.317	4.15 ( $\pm 0.12$ )
"	NF	—	—	—	10.77 ( $\pm 0.21$ )
Aug. 22, 1962	F	69.6 ( $\pm 5.1$ )	Oct. 1, 1962	0.838	7.84 ( $\pm 0.16$ )
"	NF	80.0 ( $\pm 5.7$ )	"	1.271	8.82 ( $\pm 0.20$ )
Sep. 21, 1961	F	—	—	—	0.67 ( $\pm 0.05$ )
"	NF	—	—	—	3.39 ( $\pm 0.10$ )
Oct. 19, 1962	F	38.5 ( $\pm 3.6$ )	Mar. 25, 1963	0.284	2.41 ( $\pm 0.10$ )
"	NF	59.9 ( $\pm 4.3$ )	Mar. 28, 1963	0.323	3.83 ( $\pm 0.15$ )
Nov. 20, 1962	F	30.4 ( $\pm 3.4$ )	Mar. 28, 1963	0.380	1.74 ( $\pm 0.08$ )
"	NF	204.2 ( $\pm 7.3$ )	Mar. 26, 1963	0.340	2.74 ( $\pm 0.10$ )
Dec. 16, 1962	F	57.0 ( $\pm 1.3$ )	Apr. 1, 1963	0.554	3.25 ( $\pm 0.14$ )
"	NF	71.1 ( $\pm 4.5$ )	"	0.279	2.96 ( $\pm 0.13$ )
Jan. 25, 1963	F	218.8 ( $\pm 8.1$ )	Apr. 3, 1963	0.976	14.90 ( $\pm 0.03$ )
"	NF	105.1 ( $\pm 6.1$ )	"	1.287	9.56 ( $\pm 0.23$ )
Feb. 15, 1963	F	151.5 ( $\pm 7.0$ )	Apr. 17, 1963	1.121	13.97 ( $\pm 0.25$ )
"	NF	989.3 ( $\pm 21.2$ )	"	1.228	19.62 ( $\pm 0.41$ )
Mar. 15, 1963	F	114.3 ( $\pm 6.0$ )	Apr. 18, 1963	1.010	7.71 ( $\pm 0.19$ )
"	NF	423.5 ( $\pm 13.6$ )	"	0.890	13.03 ( $\pm 0.24$ )

\*1. F: a filtered sample. NF: a non-filtered sample.

\*2. Parenthesis shows just the standard deviation of counts by counting apparatus.

Table 3. Radioactivity of  $^{90}\text{Sr}$  in high contaminated samples and comparison with the maximum permissible concentration.

Sampling Place	Date of Sampling	Treatment	$^{90}\text{Sr}$ Activity ( $\mu\text{c/L}$ )	A* <sup>2</sup> /B* <sup>3</sup>
Kamishima	May 17, 1962	NF* <sup>1</sup>	22.21 ( $\pm 0.46$ )**	0.022 ( $\pm 0.00046$ )* <sup>4</sup>
Muroto	June 21, 1962	"	24.59 ( $\pm 0.34$ )	0.025 ( $\pm 0.00034$ )
"	Dec. 17, 1962	"	30.20 ( $\pm 0.53$ )	0.030 ( $\pm 0.00053$ )
"	Jan. 24, 1963	"	25.33 ( $\pm 0.34$ )	0.025 ( $\pm 0.00034$ )
Muroran	Feb. 26, 1963	"	26.46 ( $\pm 0.48$ )	0.026 ( $\pm 0.00048$ )
Ryozu	Mar. 10, 1963	"	29.19 ( $\pm 0.51$ )	0.029 ( $\pm 0.00051$ )
Nagaohama	Feb. 27, 1963	"	26.97 ( $\pm 0.53$ )	0.027 ( $\pm 0.00053$ )
"	Mar. 24, 1963	"	32.15 ( $\pm 0.43$ )	0.032 ( $\pm 0.00043$ )

\*1. NF: non-filtered sample.

\*2. Determined  $^{90}\text{Sr}$  concentration ( $\mu\text{c/L}$ ).

\*3. Permissible  $^{90}\text{Sr}$  concentration proposed by ICRP for occupational person ( $\mu\text{c/L}$ ).

\*4. Parenthesis shows just the standard deviation of counts by counting apparatus.

### 水中の放射性物質除去装置の性能試験成績について

長沢佳熊・城戸靖雅・時本好子\*・市場克也\*

昭和 37 年，太平洋海域およびシベリア各地におけるあいつぐ核実験によって，日本における山間へき地住民の飲用する飲料用天水の放射能汚染除去法の必要にせまられた。著者らは株式会社日本オルガノ商会の試作した水中の放射性物質除去装置を用いて，水道水に添加した  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  の迅速ろ去試験を行ない，その除染効率，性能，操作の簡便なこと，および経済的利点などを認め，今後十分実用的な価値があると思われたので報告する。

#### 実験方法

I) 装置：実験に用いたろ過装置を Fig. 1 に示す。

ウィングポンプによって，装置内に吸い上げられた原水は素焼円筒 (A, 厚さ約 10 cm) によって第 1 次のろ過が行なわれ，ろ過水は狭い間隙 (B) を通ってイオン交換樹脂 (Amberlite IR-120, Na 型 500 ml) 柱 (C) を流れてパイプ (D) を通り外部に排出される。

II) 分析試料の調製：水道水 1 L に  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  の 0.1 N 塩酸溶液 (希釈用検液 1912.2 cpm/2 ml, Tracerlab 社製端窓型 GM 計数装置により測定) 1 ml を加えて試料水とした。

III) 区分操作：本器を用い，まず Na 型の樹脂を用いて操作し (実験 1)，ついでそれを再生した樹脂を用いて実験 1 と同様に操作した (実験 2)。

すなわち，ほうろ引きタンクの中で水道水 100 L に希釈用検液を 10 ml の割合で加えて十分かきまぜ，これを前記のろ過装置に流速 50 L/hr で通水したのち，Fig. 2 に示す間隔でろ過水 10 L~20 L ずつを採水し，その 10 L について IV) の分析法にしたがって  $^{90}\text{Sr}$  を分離定量した。実験 1 終了後，樹脂柱上に塩化ナトリウム 100 g をのせ，これに水道水約 8 L (塩化ナトリウムが流出しなくなるまで) を通して樹脂を再生し，Na 型としたのち，引き続き実験 1 と同様の操作を行なった (実験 2)。

#### IV) 各区分の放射化学分析

i)  $^{90}\text{Y}$  の分析：ろ過水 10 L に  $\text{Sr}^{2+}$  および  $\text{Y}^{3+}$  担体をそれぞれ 100 mg および 20 mg 加え，70°~80° に加温し，かき混ぜながら 30% 水酸化ナトリウム溶液 100 ml および炭酸ナトリウム 100 g を加え，約 1 時間かき混ぜたのち 1 夜放置した。上澄液をサイホンで除き，沈殿をガラスろ過器でろ取し，N-塩酸 100 ml に溶かし，約 90° に加温したのち沈殿が完結するまでアンモニア水を加え，温時ろ別した。これを

Kakuma NAGASAWA, Yasumasa KIDO, Yoshiko TOKIMOTO and Katsuya ICHIBA: On the Functional Test of a Decontamination Apparatus of Radio-contaminated Water

\* 株式会社日本オルガノ商会

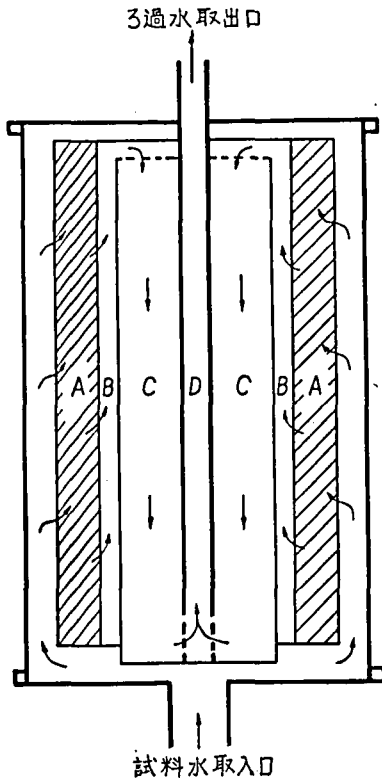


Fig. 1. ろ過装置

0.1 N 塩酸 50 ml に溶かして加温し、飽和シュウ酸アンモニウム溶液 50 ml を加えてよくかき混ぜたのち流水中で1時間冷却した。シュウ酸塩として沈殿したイットリウムを遠心分離し試料ざら中で乾燥したのち、ただちに放射能を測定し、測定値に  $^{90}\text{Y}$  分離時刻から測定時刻までの経過時間による減衰の補正を行なって  $^{90}\text{Y}$  の放射能とした (ただし、 $^{90}\text{Y}$  の分析は実験2についてのみ行なった)。

ii)  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  の分析：水酸化物としてイットリウムを分離したる液に飽和炭酸ナトリウム溶液 50 ml を加えて、1夜放置した。生じた沈殿をろ取りし、これを6 N-硝酸 20 ml に溶かし、かき混ぜながら発煙硝酸 (比重 1.52) 60 ml を加えて1夜放置し、析出した硝酸ストロンチウムをガラスろ過器 (G-4) でろ取した。これを水 20 ml に溶かし、かき混ぜながら発

煙硝酸 (比重 1.52) を加えて比重を 1.45 とし、1夜放置した。沈殿をろ取りし、水 30 ml に溶かし、アンモニア水を加えてアルカリ性としたのち、3 M 炭酸アンモニウム溶液 (1:1 アンモニア水溶液) 50 ml を加え、ストロンチウムを炭酸塩として分離した。これを試料ざらに移し、2週間以上放置して  $^{90}\text{Sr}$  と  $^{90}\text{Y}$  が放射平衡に達したのち放射能を測定し、測定値に担体として加えたストロンチウムの回収率および自己吸収の補正を加えて  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  の放射能とした。

iii) 除染率の算出：別に通水前の試料水 500 ml (実験1) および 100 ml (実験2) を採取し、ろ過水とほとんど同じ方法で分析して試料水の放射能を求め、この値を対照とし次式から除染率を算出した。

$$\text{除染率}(\%) = 100 - \left( \frac{\text{ろ過水の分析値 (cmp/l)}}{\text{試料水の分析値 (cmp/l)}} \times 100 \right)$$

実験結果

試料水およびろ過水の分析結果を Table 1 に示す。

考察

樹脂を再生して使用するとき、 $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  溶液 265 L を 50 L/hr の流速で急速にろ過した場合でも、 $^{90}\text{Sr}$  の除染率はつねに 99.8% 以上を示し、除染能力の優秀性を認め、十分実用的な効果が期待できる。また飲料用天水などのように放射能レベルがせいぜい許容濃度前後であり、またかなりの無機イオンを含むと思われる試料については、樹脂の単位容量当りに吸着される放射性物質からの放射線量はさほど問題はないと考えられる。したがって、樹脂の放射線分解などに起因する吸着能の減退は、放射線に対してかなり安定と思われるフェノールスルホン酸系樹脂を使用している点からも考慮するに足りず、かなり長期にわたり樹脂の反復使用が可能であると思われる。また高濃度の塩化ナトリウム溶液によって容易に再生が可能であるので、経済的にも実用上の価値があると考ええる。

一方  $^{90}\text{Y}$  の除染率に関しては、 $^{90}\text{Sr}$  のそれに比べて約 1~2% 劣る。したがってストロンチウムおよびイットリウム以外の種々の核種についても検討することが今後の問題点であろう。

実験1	ろ過水採水箇所 および試料番号		No. 1		No. 2	No. 3
実験2	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9

0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280  
ろ過水量 (L)

Fig. 2. 分析用ろ過水の採水箇所



Table 1.  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  および  $^{90}\text{Y}$  の分析結果および除染率

実験 No.	分析した核種	試料	分析に供した水量(L)	実測値 (cpm)*	cpm/L**	除染率(%)
1	$^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$	試料水 1	0.5	1527.3(±17.5)**	4321.8(±49.6)***	—
		” 2	”	1493.5(±17.3)	4219.0(±48.8)	—
		ろ過水 1	10	2.9(±0.6)	0.47(±0.09)	99.99
		” 2	”	4.9(±0.5)	0.81(±0.08)	99.98
		” 3	”	14.8(±0.7)	2.36(±0.08)	99.94
2	$^{90}\text{Y}$	試料水 3	0.1	147.1(±2.2)	1567 (±23)	—
		” 4	”	147.3(±2.2)	1572 (±23)	—
		ろ過水 4	10	256.0(±2.9)	28.86(±0.30)	98.16
		” 5	”	254.4(±2.9)	26.85(±0.31)	98.29
		” 6	”	253.1(±5.0)	26.87(±0.53)	98.29
		” 7	”	332.4(±8.2)	35.33(±0.87)	97.75
		” 8	”	325.9(±8.1)	34.74(±0.86)	97.79
		” 9	”	397.1(±8.8)	42.42(±0.94)	97.30
		$^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$	試料水 3	0.1	293.2(±5.4)	4178 (±77)
	” 4		”	299.9(±5.5)	4281 (±79)	—
	” 5		”	304.8(±5.5)	4343 (±78)	—
	ろ過水 4		10	15.5(±0.8)	2.46(±0.13)	99.94
	” 5	”	3.1(±0.4)	0.49(±0.06)	99.99	
” 6	”	11.3(±0.6)	1.78(±0.09)	99.96		
” 7	”	31.8(±0.6)	5.01(±0.28)	99.88		
” 8	”	53.1(±2.3)	8.36(±0.36)	99.80		
” 9	”	48.7(±4.2)	7.84(±0.68)	99.82		

\* 日本無線医理学研究所製低バックグラウンド計数装置型 (Aioka LBC-1) により測定した。

\*\*  $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$  については、ストロンチウム担体の回収率および自己吸収の補正を加えた値を示す。 $^{90}\text{Y}$  については自己吸収の補正は加えてない。

\*\*\* ( ) 内の数字は計数のみの標準偏差を示す。

(昭和38年5月31日受付)

## 昭和 37 年 (1962) 産茶葉の $^{90}\text{Sr}$ および $^{137}\text{Cs}$ の汚染について

長沢佳熊・亀谷勝昭

昭和 37 年に静岡、枕崎、および鹿児島において製造された茶葉が、昭和 36 年 9 月以来ソビエトおよびアメリカによる原水爆実験によって、どの程度汚染されたかを知るために、その  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の含量について、定量分析を行なった。一般に茶葉など植物性試料および牛乳尿など多量のリン酸を含むものについては、 $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の定量分析は、発煙硝酸法<sup>1-3)</sup>、陽イオン交換樹脂法<sup>4)</sup>、モリブデン酸アンモニウム法<sup>5)</sup> などの方法があるが、いずれもリン酸の影響で、しばしばそれらの回収率が悪く正確な値を示さ

ないことがある。著者らは、リン酸イオンを除くため陽イオン交換樹脂を用いる方法を検討し(実験1)、その方法を用いて、茶葉中の  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の定量を行なった(実験2)。なお、飲用時の茶湯中の  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の含量についても定量した(実験3)。

この実験は科学技術庁の放射能調査の一環である。

実験1： $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の分離定量法の検討

1.1. 陽イオン交換樹脂：Amberlite IR-120, 100～200メッシュ。

1.2. 試薬：N-塩化ナトリウム溶液：塩化ナトリウ

ム (試薬特級) 58.4 g に水を加えて 1 L とする。

2.5 N-塩化ナトリウム 0.25 N-塩酸溶液: 塩化ナトリウム (試薬特級) 146 g に塩酸 (試薬特級) 25 ml および水を加えて 1 L とする。

塩化セシウム溶液: 塩化セシウム (Merck 製) 0.633 g に水を加えて 500 ml とする。

硝酸ストロンチウム溶液: 硝酸ストロンチウム (試薬特級) の水溶液に発煙硝酸を滴加し, 初めに出てきた結晶を除き, さらに発煙硝酸を加えて沈殿させた硝酸ストロンチウムを濾取し, 赤外線ランプの下で 130° に乾燥させたのち 12.076 g に水を加えて 500 ml とする。

<sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs; Oak Ridge National Laboratory 製の塩化ストロンチウム-90 および塩化セシウム-137 を用いた。

1.3. 測定: <sup>90</sup>Sr の測定は Tracerlab 社製 Super Scaler を GM 計数器として使用し, <sup>137</sup>Cs の測定は Aloka DC-301 型 Scaler に Well type Scintillator を接続して計測した。

1.4. 操作: 樹脂は Amberlite IR-120, 100~200 メッシュを用い, これを内径 20 mm のクロマト管に入れ, 樹脂層を 130 mm とする。塩酸 (1+1) 250 ml を通し, さらに水 100 ml を通して精製する。この樹脂に <sup>137</sup>Cs または <sup>90</sup>Sr を交換し, N-塩化ナトリウム溶液, または 2.5 N-塩化ナトリウム 0.25 N-塩酸溶液を溶離液として, 50 ml ずつ分取し, <sup>90</sup>Sr はその 1 ml を蒸発乾固し, <sup>137</sup>Cs はその 50 ml につき, それぞれ測定した。それらの溶出の状態を Fig. 1 に示す。溶出液中の計数率を縦軸に, 溶離液量を横軸に示した。

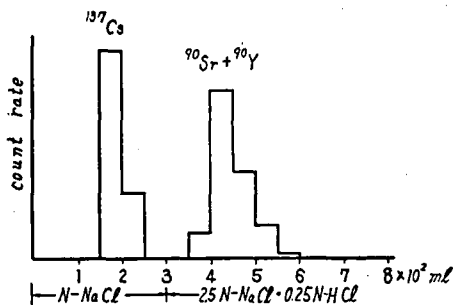


Fig. 1

<sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs を交換した樹脂から <sup>137</sup>Cs を N-塩化ナトリウム溶液で溶出させたのち, さらに溶出液 600 ml を得るまで溶出を続けたが, <sup>90</sup>Sr の溶出を認めなかった。また <sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs の無担体の場合と, それぞれ担体として Cs 10 mg および Sr 100

mg を添加した場合を比較したが, それらの溶出曲線は, ほとんど差を認めなかった。以上の結果から Cs は N-塩化ナトリウム溶液 300 ml, Sr は 2.5 N 塩化ナトリウム 0.25 N-塩酸溶液 400 ml で溶出されると考えられる。つぎにそれらの溶出液からの Cs および Sr の定量法を示す。

#### 1.5. Sr および Cs の定量法

a) Cs の定量: 溶出液 300 ml に硝酸 (比重 1.38) 10 ml を加え, 50° に加温し, 10% リンモリブデン酸アンモニウム溶液 12 ml を加え, 1 時間かき混ぜたのち, 室温で 3 時間放置する。生じた黄色沈殿をガラスフィルター (G4) でろ過し, 沈殿は少量の 5% 水酸化ナトリウム溶液 (約 2 ml) に溶かし, 水 20 ml で洗う。濾液に 2.5% ジピクリルアミンナトリウム溶液 5 ml を加え, 1 時間放置したのち, 濾過する。残留物はジピクリルアミンセシウムの飽和溶液 20 ml で洗い, 110° で乾燥し, 冷後重量を量る。22.5° の水 50 ml はジピクリルアミンセシウム 9.4 mg (Cs として 2.18 mg) を, 32.5° では 14.6 mg (Cs として 3.39 mg) を溶かす。

b) Sr の定量: 溶出液 400 ml をアンモニア水で中和し, さらに 10% 炭酸アンモニウム溶液 10 ml を加え, 沸騰するまで加熱する。冷後ガラスフィルター (G4) でろ過し, 水洗する。この沈殿を少量の硝酸に溶かし, 蒸発乾固したのち, Willard の方法<sup>9)</sup> により Sr を分離する。

#### 1.6. 分析方法の検討

この実験では茶葉を 500° で灰化した残分を試料とした。試料 1 g に塩化セシウム溶液 10 ml (Cs 10 mg に相当する) および塩化ストロンチウム溶液 10 ml (Sr 100 mg に相当する) を加え, 塩酸 (1+1) 20 ml を加え, 蒸発乾固する。この試料を 0.2 N-塩酸,

Table 1. Recovery of Cs and Sr added to the tea leaf ashes.

Hydrochloric acid concentration of sample solution (N)	Dipicrylamine-Cs		SrCO <sub>3</sub>	
	Found (g)	Recovery (%)	Found (g)	Recovery (%)
0.2	0.0426	99.3	0.1673	99.3*
0.2	0.0430	100.2	0.1668	99.0*
0.2	0.0428	99.7	0.1048	62.2
0.2	0.0414	96.5	0.1128	66.9
0.5	0.0433	100.7	0.1468	86.8
1.0	0.0431	100.3	0.1652	98.0
1.0	—	—	0.1671	99.2

\* Just CsCl and SrCl<sub>2</sub> carriers only, not containing the tea leaf ashes.

0.5 N-塩酸、または 1.0 N-塩酸溶液 100 ml に溶かし、1.4. の操作にしたがって、Sr および Cs を分離し、1.5. の方法にしたがって、それぞれ定量した。Cs および Sr を 0.2 N-塩酸 100 ml に溶かし、この溶液についてそれぞれ分離定量した結果、Cs の回収率は 99.3%, 100.2%, Sr は 99.3%, 99.0% を示したが、茶葉の灰分 1g を添加した場合、Sr の回収率は 62.2% および 66.9% に過ぎなかった。しかし、塩酸の濃度を高くすると Sr の回収率は 98.0%, 99.2% に達した (Table 1)。

実験 2 茶葉中の <sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs の定量

2.1. 試料：昭和 37 年 4 月～8 月に、静岡、枕

崎、鹿児島茶業試験場で採取、製造された茶、紅茶およびそれらの原葉である。

2.2. 操作および測定：試料 20g を 450～500° で灰化し、冷塩化セシウム 10 ml および硝酸ストロンチウム溶液 10 ml を加え、さらに塩酸 (1+1) 10 ml を加え蒸発乾固する。この試料を N-塩酸 100 ml に溶かし、上述の方法により <sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs を分離定量した。放射能の測定は Aloka LBC-1 型ガスフロー低バックグラウンド計数装置を用い、その計数値は電気試験所製の <sup>90</sup>Sr および <sup>137</sup>Cs 標準品によっておのおの校正した。

2.3. 分析成績：以上の分析結果を Table 2 に示す。

Table 2. <sup>90</sup>Sr and <sup>137</sup>Cs contents in the green tea and black tea

Place of tea manufacturing	Kinds of sample	May 1962		July 1962		August 1962	
		<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g	<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g	<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g
Shizuoka (静岡)	dried tea leaves	150(±4)*	230(±7)*	163(±5)*	393(±8)*	109(±4)*	219(±6)*
	dried tea leaves	98(±4)	235(±7)	149(±3)	376(±8)	73(±3)	220(±6)
	green tea	76(±3)	101(±3)	148(±3)	204(±6)	85(±3)	142(±5)
	black tea	106(±3)	133(±3)	120(±2)	200(±7)	97(±3)	187(±8)
Makurazaki (枕崎)		April 1962		June 1962		August 1962	
		<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g	<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g	<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g
	dried tea leaves	115(±4)	300(±7)	119(±4)	342(±7)	75(±3)	254(±6)
	black tea	116(±3)	288(±7)	120(±4)	319(±7)	79(±4)	282(±7)
Kagoshima (鹿児島)				July 1962		August 1962	
				<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g	<sup>90</sup> Sr μμc/100g	<sup>137</sup> Cs μμc/100g
	dried tea leaves			61(±2)	226(±6)	117(±3)	323(±7)
	dried tea leaves			54(±2)	253(±6)	121(±3)	300(±7)
	green tea			133(±4)	328(±7)	111(±4)	251(±7)

\* Parenthesis shows just the standard deviation of counts of the scaler

Table 3. <sup>90</sup>Sr and <sup>137</sup>Cs contents in boiling water extract of green tea and black tea

Place of tea manufacturing	Date of picking tea leaves	<sup>90</sup> Sr and <sup>137</sup> Cs found μμc/100g		% **
Shizuoka (black tea)	July 1962	<sup>90</sup> Sr	11.7 (±1.8)*	9.7
		<sup>137</sup> Cs	264 (±6)	97.7
Makurazaki (black tea)	July 1962	<sup>90</sup> Sr	10.1 (±2.2)	8.4
		<sup>137</sup> Cs	303 (±7)	94.9
Shizuoka (green tea)	July 1962	<sup>90</sup> Sr	11.2 (±1.2)	7.5
		<sup>137</sup> Cs	147 (±5)	72.0
Kagoshima (green tea)	July 1962	<sup>90</sup> Sr	19.8 (±1.6)	14.8
		<sup>137</sup> Cs	208 (±5)	59.7

\* Parenthesis shows just the standard deviation of counts of the scaler.

\*\* Percent of radioactivity of the nuclide in the tea water to that in the tea leaves.

### 実験3 飲用時の茶湯中の $^{90}\text{Sr}$ および $^{137}\text{Cs}$ 量

茶葉の汚染は前表のようにかなり高い値を示すが、実際に飲用する茶湯中の  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の含量をつぎのようにして調査した。試料 30 g を 3 L の三角フラスコにとり、熱湯 1.5 L を加え、1 分間加熱し、10 分間放置したのち、茶こしでろ過し、ろ液 1 L をとる。この液を蒸発乾固灰化し、前述の操作法にしたがって  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  を定量した結果を Table 3 に示す。

#### 考察とむすび

茶葉の灰分の N-塩酸溶液を Amberlite IR-120 (H 型) のクロマト層に通して、Sr および Cs を交換し、N-塩化ナトリウム溶液 300 ml で Cs を溶出し、ジピクリルアミンナトリウムによって定量し、Sr は 2.5 N-塩化ナトリウム 0.25 N-塩酸溶液で溶出させ、発煙硝酸法で定量するとそれぞれ 99~100% に達する。この方法で昭和 37 年産の茶葉中の放射性物質を定量した結果、その汚染はかなり著しく、 $^{90}\text{Sr}$  では 61~133  $\mu\text{c}/100\text{g}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  で 101~393  $\mu\text{c}/100\text{g}$

を示している。6月および7月に採取したものはその汚染が幾分大きく、また製品は原葉に比して、わずかではあるが、汚染度が小さい。しかし、飲用するときの茶、紅茶の抽出液には  $^{90}\text{Sr}$  は溶出されにくく、茶葉の約 10% である。一方  $^{137}\text{Cs}$  では約 50~100% が熱湯中に浸出される。

#### 文 献

- 1) G.K. Murthy, L.P. Jarnagin and A.S. Goldin : *J. Dairy Sci.*, **42**, 1276(1959)
- 2) H. Bergh et al. : Norwegian Defense Research Establ. Rept. FFIK-IR-K-219(1959)
- 3) J. H. Harley : U. S. Atomic Energy Comm. "Analytical Techniques for Tracer Quantities of Isotopes."
- 4) C. Porter et al. : *Anal. Chem.*, **33**, 1306(1961)
- 5) N. Yamagata, T. Yamagata : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **31**, 1063(1958)
- 6) H. H. Willard and E. W. Goodspeed : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **8**, 414(1936)

(昭和38年5月31日受付)

昭和 37 年 (1962) 度に製造された粉乳の  $^{90}\text{Sr}$  および $^{137}\text{Cs}$  の汚染について

長 沢 佳 熊・亀 谷 勝 昭

昭和 37 年 4 月から翌 38 年 3 月の間に日本の各地 7 個所で製造された粉乳が、昭和 36 年 9 月以来アメリカおよびソビエトによる原水爆実験によってどの程度汚染されたかを知るために、その  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の含量について定量分析を行なった。この実験は科学技術庁の放射能調査の一環である。

## 実 験

試料：昭和 37 年 (1962) 4 月から昭和 38 年 3 月までの間に東京、平塚、松本、福島、徳島、鹿児

島、遠軽 (北海道) の 7 ヶ所の森永乳業株式会社工場 で製造された全脂粉乳または脱脂粉乳 22 試料、および参考として昭和 30 年 (1955) 3 月および昭和 33 年 (1958) 9 月に製造された粉乳各 1 種ずつを試料とした。

操作： $^{90}\text{Sr}$  については、粉乳 100 g を 450~500° で灰化し、科学技術庁編、放射性ストロンチウム分析法により、 $^{137}\text{Cs}$  については、試料 30 g を同様に灰化し、著者がさがきに報告した方法により定量した。

Table 1.  $^{90}\text{Sr}$  and  $^{137}\text{Cs}$  contents in the dry milk.

Place of Sampling	Date of Sampling	$^{90}\text{Sr}$ ( $\mu\text{C}/100\text{g}$ )	$^{137}\text{Cs}$ ( $\mu\text{C}/100\text{g}$ )
Matsumoto (松本)	1955. 3.22	1.4 ( $\pm 0.2$ )*	13.3 ( $\pm 1.5$ )*
" "	1958. 9.10	3.5 ( $\pm 0.3$ )	22.2 ( $\pm 1.8$ )
" "	1962. 4.11	3.5 ( $\pm 0.3$ )	14.6 ( $\pm 1.7$ )
Tokushima (徳島)	" 4.15	4.0 ( $\pm 0.4$ )	12.8 ( $\pm 1.6$ )
Tokyo (東京)	4.17	4.1 ( $\pm 0.4$ )	16.4 ( $\pm 1.2$ )
Tokushima (徳島)	" 5.16	4.9 ( $\pm 0.4$ )	21.4 ( $\pm 1.4$ )
Kagoshima (鹿児島)	" 5.19	14.9 ( $\pm 0.5$ )	78.2 ( $\pm 2.1$ )
Tokyo (東京)	" 5.12	5.6 ( $\pm 0.8$ )	45.4 ( $\pm 1.8$ )
Tokushima (徳島)	" 7. 3	6.5 ( $\pm 0.3$ )	35.6 ( $\pm 2.1$ )
Hiratsuka (平塚)	" 7. 5	5.7 ( $\pm 0.3$ )	43.3 ( $\pm 2.2$ )
Engaru (遠軽)	1962 8. 4	12.2 ( $\pm 0.4$ )	110 ( $\pm 3.4$ )
Fukushima (福島)	" 9. 7	7.9 ( $\pm 0.4$ )	49.3 ( $\pm 2.6$ )
Tokyo (東京)	" 9. 9	5.1 ( $\pm 0.3$ )	39.0 ( $\pm 1.1$ )
Kagoshima (鹿児島)	" 10.12	7.7 ( $\pm 0.3$ )	45.0 ( $\pm 2.3$ )
Tokyo (東京)	" 10.14	8.0 ( $\pm 0.3$ )	55.3 ( $\pm 2.5$ )
" "	" 11.—	6.7 ( $\pm 0.3$ )	46.0 ( $\pm 2.3$ )
" "	" 12.22	7.2 ( $\pm 0.4$ )	45.0 ( $\pm 2.3$ )
Kagoshima (鹿児島)	" 12. 9	7.9 ( $\pm 0.4$ )	51.0 ( $\pm 2.5$ )
Tokushima (徳島)	1963. 1.12	4.3 ( $\pm 0.4$ )	24.5 ( $\pm 1.8$ )
Tokyo (東京)	" 1. 2	6.4 ( $\pm 0.3$ )	46.0 ( $\pm 2.3$ )
" "	" 2.21	9.0 ( $\pm 0.4$ )	45.3 ( $\pm 2.3$ )
Fukushima (福島)	" 2.22	5.3 ( $\pm 0.3$ )	65.3 ( $\pm 2.7$ )
Hiratsuka (平塚)	" 2.23	5.4 ( $\pm 0.3$ )	30.6 ( $\pm 1.9$ )
" "	" 3.—	5.2 ( $\pm 0.3$ )	38.0 ( $\pm 2.1$ )

\* Parenthesis shows just the standard deviation of counts of the scalers.

放射能の測定は Aloka LBC-1 型ガスフロー低バックグラウンド計数装置を用い、その計数値は電気試験所製  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  標準品によって校正した。

成績：Table 1 に示す。

#### 考察とむすび

粉乳中の  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の汚染は昭和 37 年 5 月以降から急激に増加し、5 月鹿児島産粉乳および 8 月遠軽 (北海道) 産粉乳は最高で、それぞれ  $^{90}\text{Sr}$  14.2  $\mu\text{C}/100\text{g}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  78  $\mu\text{C}/100\text{g}$  および  $^{90}\text{Sr}$  12.2  $\mu\text{C}/100\text{g}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  110  $\mu\text{C}/100\text{g}$  を示した。その他の粉乳では、いずれも  $^{90}\text{Sr}$  10  $\mu\text{C}/100\text{g}$  以下、 $^{137}\text{Cs}$  70

$\mu\text{C}/100\text{g}$  以下である。これらの値はノールウェイのミルク ( $^{90}\text{Sr}$  の最高値は 48  $\mu\text{C}/\text{l}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  の最高値は 492  $\mu\text{C}/\text{l}$ 、粉乳を牛乳 1 L に換算するには、粉乳 100 g の  $\mu\text{C}$  数を 1.2 倍する) に対して非常に低い値を示している<sup>2)</sup>。

#### 文 献

- 1) 長沢佳熊, 危谷勝昭: 衛生試報, 81, (1963)
- 2) H. Bergh et al.: Norwegian Defense Research Establ. Rept. FFIS-IR-S-06 (1961)  
(昭和38年5月31日受付)

## 食品中の農薬の残留と中性洗剤による 洗浄効果について

川城 峻・岡田太郎・辰濃 隆・藤巻昌子

近年わが国における農薬の使用量は漸次増加の傾向にあるが、未だ食品中の残留農薬の許容量の設定は行なわれておらず、わずかにりんごについてのみ一応の基準が示されているに過ぎない。

そこでわれわれはまず二、三の野菜、果実を用い実際に使用されるときと同様の条件で農薬を散布し、その残留量を測定した。また同時にこれらのものについて市販洗剤による洗浄効果をもあわせて検討した。

### 1. 梨

- 1) 試験果実 梨、長十郎 (五年生若木)
- 2) 圃場 千葉大学園芸学部果樹園。
- 3) 散布条件 天候 晴, 器具 細菌用噴霧器, 散布量 約 13 ml, 濃度 ヒ酸鉛 3.8 g/L。
- 4) 洗浄条件 洗剤の濃度 0.25%, 洗浄時間 1, 2, 3 分間, すすぎ 水で5分間3回。
- 5) ヒ素の定量 グッドツァイト法。
- 6) 実験結果 1個 50 g 程度の小さい梨であったが、表に示したように農薬ヒ素の付着量は1個で 40  $\mu\text{g}$ 、0.8 ppm 程度であってりんごの許容量である 3.5 ppm よりはるかに少ない量であった。これを中性洗剤で1回洗うと 0.5 ppm 程度になり、3回洗うと 0.3 ppm とはじめの残留量の  $\frac{1}{3}$  量に減少する。しかし水のみで洗ったときは 0.6~0.5 ppm と3回水洗してもその量はあまり変化なく、最初の残留量の  $\frac{2}{3}$  程度の量が残っている。これは梨の表面がザラザ

ラしていて通常の水洗ではあまり落ちにくいからである。

また市販の梨について当所で散布したものの農薬の残留は 3 ppm 程度で前の試験より多かった。これを中性洗剤で洗浄したところ 1回で  $\frac{1}{3}$ 、3回洗浄すると  $\frac{1}{6}$  位に洗い去られる。水で洗ったときは1回で最初の残留量の約  $\frac{2}{3}$  程度しか落ちず、3回洗ったときの残留量は中性洗剤の場合の3倍量も残っている。このように多量に農薬が果物に残っているときは比較的效果的である。

### 2. りんご

- 1) 試験果実 りんご成木 (25年生)、品種 紅玉、今春以来慣行濃度によってヒ酸鉛液をすでに6回散布、最も近くは8月2日に散布した。
- 2) 圃場 千葉大学農場 (群馬県沼田市下川田)
- 3) 散布条件 天候 晴。(8月21日)、器具 小型噴霧器、散布量 枝 1 m に対して 50 ml かかるようにし、散布2時間後に摘果した。濃度 ヒ酸鉛 8 g/L (慣行の2倍量)
- 4) 洗浄条件その他は前と同様
- 5) 実験結果 梨の場合には通常の方法では案外残留量が少ないことがわかったので、りんごのときは各種の条件で散布を行なった。

まず慣行の使用濃度の2倍量のものを用いて十分散布を実施した。その結果は表のようであったが、未洗

浄のとき 7.6 ppm 程度でこの場合には前にもときどき散布していたので、現在の許容量 (3.5 ppm) の 2 倍程度の残留量が認められた。中性洗剤では 1 回洗ったのみで許容量以下の 2 ppm 程度となり、3 回洗浄を繰り返しても残留量は変わらず、これはりんごの表面がつるつるしているため 1 回の洗浄で大体落ちてしまうものと思われる。水洗でも残留量は半分位になるが洗剤のときの 2 倍量位残っている。この場合は回を重ねるにしたがって多少減っていく傾向にある。

つぎに市販りんごに通常の濃度のものを散布したときはやはりその残留量は少なく、未洗浄のときでも 2 ppm 程度である。そして中性洗剤で洗ったときは 1~3 回の洗浄で 0.6~0.4 ppm と減少してしまう。これに対して水で洗ったときは 1~3 回で 1.3~0.9 ppm と洗剤で洗ったときの 2 倍以上の農薬が残っている。この場合洗い方その他によって多少バラツキがみられるが同一条件のものでは大体似たような値が得られた。

またりんごの種類による差を調べたが、デリシャス、国光、紅玉三者ともに未洗浄のものでも最高 1.6 ppm から最低 0.8 ppm のヒ素量であって、実際に散布したものよりもはるかに少ない値であった。残留量はいずれも中性洗剤で洗ったときは水で洗ったものの半分程度であった。また三者のりんご中ではデリシャスの表面がザラザラであるためか、農薬の残留量が多かった。

### 3. 大根菜

- 1) 試験作物 大根, 生育状況良
- 2) 圃場 松戸市栗山 大根畑
- 3) 散布条件 天候 晴, 器具 細菌用噴霧器, 散布量 菜が充分ぬれる程度, 濃度 ヒ酸鉛 3.8g/L
- 4) 洗浄条件 大根菜 100g を用い前と同様に洗浄した。

5) 実験結果 大根菜のときも普通より多目に散布したところ、表のように 80 ppm も農薬が残留しており、果実に比較して単位重量当りの表面積が広く、かつツワがあるからであると思われる。中性洗剤洗浄でも 3 回洗ったときやとりんごの許容量の 3.5 ppm になる程度であって、水洗のときは 25~8 ppm と相当残留量が多い。このように野菜では農薬の残留量が多く、水や洗剤で洗浄してもまだ相当量残っている。万一、通常の使用条件よりも多量に散布したような場合には相当量の農薬が付着している危険があり、十分洗浄したものを使用しなければならない。

### 5. トマト

- 1) 試験果実 トマト
- 2) 散布条件 天候 晴, 器具 噴霧器, 散布量 ボルドー液を均等に十分散布した。
- 3) 洗浄条件 前に同じ
- 4) ボルドー液中の銅の定量 湿式法により分解したのち A, O, A, C 法で定量した。
- 5) 実験結果 トマトに使用される農薬であるボルドー液を散布して、残留している農薬量を測定した。その結果表のように未散布のものでも 1.5 ppm 程度の銅が含まれており、これを差し引いた未洗浄のトマト中の銅量は 5 ppm 程度であって、りんごの場合に決められた銅の限度である 50 ppm の  $\frac{1}{10}$  量であった。これを中性洗剤で洗うと 2.3~1.5 ppm 程度となり、水洗のときは多少多くて 2~4.5 ppm 位であった。

本実験は農薬散布に当り千葉大学園芸学部、野村健一教授、村田忠雄助手に種々御指導、御援助をお願いした。また試供農薬は三共株式会社農薬部よりいただいた。共厚く御礼申し上げる。

表. 野菜, 果実に残留した農薬量と洗浄効果

洗滌方法	浸漬時間 分	梨		りんご		大根菜		トマト	
		1個の重量 g	ヒ素の量 (As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として) ppm	1個の重量 g	ヒ素の量 (As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として) ppm	野菜の量 g	ヒ素の量 (As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として) ppm	1個の重量 g	銅の量 ppm
洗滌なし	0	51	0.8	111	7.6	100	80	108	5.0
中性洗剤	1	37	0.5	118	1.8	100	10	103	2.3
	2	36	0.4	103	2.0	100	8.5	106	2.2
	3	42	0.3	108	1.8	100	3.5	98	1.5
水	1	48	0.6	113	3.4	100	25	110	4.5
	2	46	0.6	92	3.3	100	17	115	3.2
	3	37	0.5	93	2.4	100	8	105	2.0

## 輸入食品の人工着色料について (第 4 報)

細貝祐太郎・天野 立爾・武見 和子

前報<sup>1)</sup>に引続きその後の試験結果について報告する。

## 試験結果

Table 1. Artificial color in imported foods

No.	Sample	Color	Identification of color
1	Chewing Caramel Bons (Holland)	Yellow	Amaranth (R2), Tartrazine (Y4) Sunset Yellow (Y5)
2	Peppermint (French)	Red	Amaranth (R2), Tartrazine (Y4)
		Green	Brilliant Blue (B1), Tartrazine (Y4), Quinoline Yellow
3	Cocktail Onion (Australia)	Yellow	Tartrazine (Y4)
		Red	New Coccine (R102)
		Green	Tartrazine (Y4), Brilliant Blue (B1)
4	Liquor (French)	Green	Tartrazine (Y4), Brilliant Blue (B1), Quinoline Yellow
			Tartrazine (Y4), Sunset Yellow (Y5)
5	Caviar (German)		Oil Yellow OB (Y3)
6	Margarine (Australia)		Natural Indigo
7	Edible Blue Black ink (America)	Blue	
8	Mathers Choice Orange (Australia)	Orange	Tartrazine (Y4), Sunset Yellow (Y5)
9	Get Peppermint (French)	Green	Light Green (G2), Tartrazine (Y4)
10	Instant Soup (Holland)		New Coccine (R102), Tartrazine (Y4)
11	Wippet (Australia)	Orange	Tartrazine (Y4), New Coccine (R102)
12	Caviar		Ponceau R (R101), Tartrazine (Y4), Brilliant Blue (B1)
		Red	New Coccine (R102), Acid Red (R106), Tartrazine (Y4), Sunset Yellow (Y5)
14	Apple Jelly	Red	Ponceau R (R101)
15	Lemon Curd	Yellow	Tartrazine (Y4)
16	Lime Juice (Hong-Kong)	Yellow	Tartrazine (Y4)
17	Cream Soda	Red	Ponceau R (R101), Red 10B
18	Orange Beverage Base	Orange	Sunset Yellow (Y5)
19	Ice Cream mix (America)	Yellow	Tartrazine (Y4)
20	Marraschino Cherries	Red	Ponceau R (R101), Amaranth (R2)
21	Liquor	Green	Brilliant Blue (B1), Amaranth (R2)
22	Paste	Yellow	Sunset Yellow (Y5), Tartrazine (Y4)
		Red	Amaranth (R2), New Coccine (R102)
		Green	Indigo Carmine (R2), Tartrazine (Y4)
		Violet	Indigo Carmine (B2), Amaranth (R2)
		Yellow	Tartrazine (Y4), Amaranth (R2)
23	Chocolate Beans	Pink	Amaranth (R2)

注. カッコのなかの Y, R, B はそれぞれ黄色, 赤色および青色を, また, これらのつぎの数字は食用許可色素の許可番号を示す。



## 考察

諸外国での食用許可色素は毎年変更があるものであり、これらについては浜田<sup>2)</sup>、Castang<sup>3)</sup>、Banfield<sup>4)</sup>らによって報告されている。以上の結果から試料のなかにはわが国で許可されていない着色料が検出されている。輸入業者はこれらの国々の法規についてよく知る必要があると思われる。

## 文献

- 1) 細貝祐太郎, 天野立爾: 衛生試報, 80, 80 (1962)
- 2) 浜田扶: *Food Science*, 4, 36 (1963)
- 3) Ch. Castang: *Z. Lebensmitt-Untersuch.*, 110, H-5, 76 (1959)
- 4) F.H. Banfield: *ibid*, 115, H-9, 113 (1961)

(昭和38年5月31日受付)

## 食品添加物の消長について（第1報）乾果物中の亜硫酸

川城 巖・川田 公平・福沢 富美  
細貝祐太郎・天野 立爾・武見 和子

現今わが国には相当多量の乾燥果実類が輸入されている。なかでもアメリカより乾燥あんず、乾燥桃乾燥ブドウの輸入は特に多く、これらの中には添加使用されている亜硫酸の検出量がわが国の法定量をはるかに超えるものがかなりある。

食品添加物としての亜硫酸は乾燥果実類に対してその防腐防黴効果を期待するほか品質保持、すなわち褐変あるいは黒変等の変色防止の目的に用いられ、また製糖工業における砂糖の漂白など広く利用されているものである。わが国の食品衛生法においては、亜硫酸の使用量は乾燥あんずについてはその1kg中2.0gまで、砂糖および乾燥ブドウはその他の食品とともに1kg中0.03g以下に規定されている。

輸入乾燥果実類は諸外国において製造され船舶輸送などの日程を経て消費者に行きわたるまでには諸種の条件を異にする環境下で相当長期間保存を必要とするものである。したがって乾燥果実類の品質保持の面から現行亜硫酸の使用量について検討の必要を生じ実験を行なったのでその結果を報告する。

試料 アメリカ大使館および厚生省食品衛生課の協力を得て、カリフォルニア乾果物協会より、乾燥あんず、乾燥桃の2種について、それぞれ亜硫酸としてお3,000 ppm, 2,000 ppm, よびを1,000 ppm含有するごとく添加し製造したものであって、それらの約200gずつをセロファン袋詰とし、なおこれをボール箱入として船便により輸送されたものである。本試料について試験開始の時期は米国において試料製造後約6カ月目である。

試験方法 各種試料を室温ならびに温度35°、湿度約55%の恒温槽および温度2°の冷蔵庫中にそれぞれ

保存し、保存中の外観、色調、水分、亜硫酸含有量などの変化について試験を行なった。

A 色調の試験: 細切した試料15gを乳鉢中にとり、50%アルコール200ml中の一部を加えてよくすりつぶし、300mlの共栓三角フラスコ中に入れ、50%アルコールの全量を加え、ときどき振り混ぜながら20~22°で24時間放置した後ろ過し検液とする。検液の着色度を光电比色計を用いて430mμ、1cmの液層において比色定量することによって着色の度合を測定した。

B 亜硫酸: 薬学会協定衛生試験法による

試験成績 試験当初における試料についての外観、臭味などの異状を認めなかった。とくに色相は亜硫酸添加量の高い順に淡色であった。ただし乾燥桃は乾燥あんずに比して着色度高く、なお亜硫酸添加3種の間に色相の差があまり見られなかった。

A 色相の変化 乾燥あんずについて吸光度を測定した結果はFig. 1のごとくである。すなわち室温保存の場合3種の試料とも若干の着色の増加がみられたが大なる変化はなかった。ただし試料1,000 ppmの

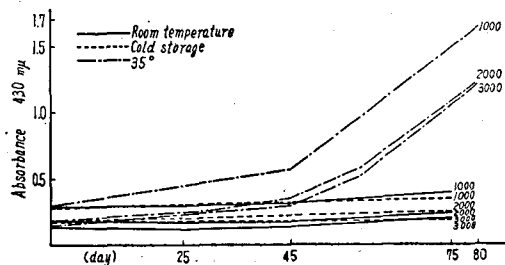


Fig. 1. Color changes of dried apricots

ものは他の二者に比して色相外觀やや不良であった。冷蔵庫中に保存されたものもほぼ同じような結果が得られた。35° に恒温保存の場合は 45 日目頃から急激に変色現象を生じ、著しい着色を示した。なお試料 2,000 ppm と 3,000 ppm との色調の差はほとんど見られなかったが、わずかに試料 3,000 ppm の方が良好であった。

乾燥桃について吸光度を測定した結果は Fig. 2 に示すごとくである。すなわち 35° 恒温保存で 3 種の試料の吸光度はいずれも増加するが三者の間にその色相の差はほとんどみられなかった。乾燥桃の場合は乾燥あんずに比してむしろ試験当初より三者とも著しく着色していた。

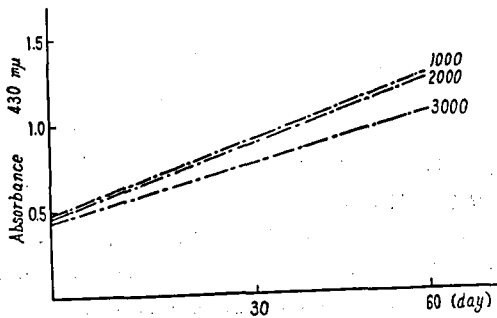


Fig. 2. Color changes of dried peaches

また乾燥あんずの色相検液について吸光度を分光光度計を用いて測定した結果は Fig. 3 のごとくであってその色相は試料 1,000 ppm のものが最も濃厚であった。

B 亜硫酸定量値 試験当初試料について亜硫酸の定量を行なった結果乾燥あんずの試料 1,000 ppm

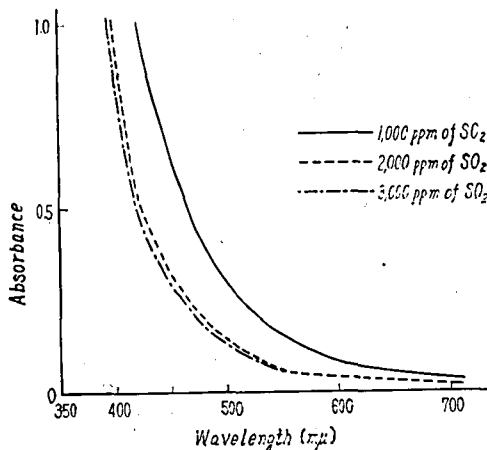


Fig. 3. Absorption spectra of the extract of dried apricots

から亜硫酸として 119 ppm, 試料 2,000 ppm 中から 718 ppm, 試料 3,000 ppm の中から 1,383 ppm を検出した。

乾燥桃については同様にして 126, 250 および 470 ppm を検出した。

乾燥あんずの保存中亜硫酸の定量成績は Fig. 4 のごとくであって、室温保存 70 日間においては試料 950 ppm まで減少した

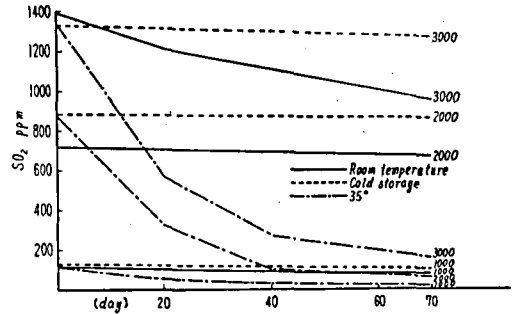


Fig. 4. Sulfur dioxide changes in apricots

35° に保存の試験は 2 回実施した。第 1 回試験の成績は Fig. 4 のごとく 70 日間に試料中の亜硫酸量は 31 ppm, 78 ppm および 156 ppm まで減少した。第 2 回試験の成績もほぼ同様で、40 日間においてそれぞれ 48 ppm, 99 ppm および 210 ppm まで減少した。冷蔵庫中に保存したのも Fig. 4 に示すごとく試料 3 種とも亜硫酸定量値はいずれも減少するが僅少であった。

C 水分定量値 常法により試料について水分の定量を行なった結果、乾燥あんずの試料 3 種はいずれも水分約 32.5% 付近であり、35 日間室温に保存した場合は 3~5% の減少をみた。

総括

以上の試験結果を総合すると試料に添加された亜硫酸は保存中減少する傾向があり、保存温度の高いほどその減少は著しい。また乾燥果実は保存中変色しやすく、亜硫酸の添加量の大なるほどその防止に効果的であった。また添加された亜硫酸の減少とともに着色は濃くなる傾向がみられた。

文 献

- 1) Nury, F. S., Taylor, D. H. and Brekke, J. E.: *J. Agr. and Food Chem.*, 7, 5 (1959)
- 2) Agricultural Reserach Service: No. 74-16~19 1960, U. S. Department of Agriculture (昭和38年 5月31日受付)

医療用プラスチックに関する研究(第6報)続  
プラスチック製注射筒について

藤井正道・佐藤 寿・堀部 隆・島峯望彦・竹内 勝\*

前報<sup>1)</sup>では、ガラス製注射筒の代わりとして現在すでに使用されているポリスチレンおよびポリプロピレン製注射筒の、滅菌による変形、溶解量および臨床的研究の一部について報告したが、その後目盛方法や吸子先端のキャップが改良されたので、これら注射筒につき種々滅菌方法をほどこしたときの変形、各種薬液中での吸収溶解、色素の吸着等について測定を行なった結果を報告する。また前報<sup>1)</sup>に述べたように、スチレン製は滅菌法に、ポリプロピレン製は透明度におおの難点をもっているので、これらの点を改善したポリカーボネート樹脂(パンライト)を使って注射筒の試験の製造を行なったものにつき種々検討した結果についても報告する。

(材料) 実験にもちいた注射筒は国産のポリスチレン製、ポリプロピレン製、およびポリカーボネート製(5ml; 外筒吸子ともポリカーボネート、吸子端のゴムキャップはシリコンゴム)である。

(1) 注射筒規準による試験

ポリカーボネート製注射筒につき、ガラス注射筒基準<sup>2)</sup>に準拠して前報<sup>1)</sup>と同様に測定を行なった結果、ガラス製と成績はほとんど同じであり、目盛誤差(2.9±0.3%)および耐衝撃性の点では優れていると思われる。

(2) 各種滅菌法による形態の変化

プラスチック製注射筒に適する滅菌法を見出す目的で、各種滅菌法<sup>1)</sup>をほどこしたのち、肉眼的に観察した。次に外筒、吸子につき全長の1/4, 1/2, 3/4, の3個所の径(d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub>, d<sub>3</sub>)および長さ(l)を滅菌前後について測定し、その間の変形率を%で表した。また煮沸滅菌および高圧滅菌を5回反復行なったのちの偏心度(単位μ)をダイヤルゲージ(0.001mm目盛)で測定した。さらにその際の気密度も併わせて測定した(第1表)。

吸子先端の合成ゴムおよびシリコンキャップのオゾンおよび紫外線照射による硬度変化をゴム硬度計(U. S. Shore Durometer Type D)を用いて測定した結

第1表 プラスチック製注射筒の各種滅菌による影響

試料	材		質	目盛誤差(%)	滅菌操作後の径の変形率(%)		軸の變形		偏心度(μ)		気密度	紫外線*吸収率(%)	
	外筒	吸子			煮沸滅菌	高圧滅菌	外筒	吸子	高圧滅菌	外筒			吸子
ポリスチレン製	ポリスチレン	シリコン	NBR	0.97 ± 0.3	d <sub>1</sub>	0.7	1.5	(111.5°)	(121.5°)	(126.5°)	変形量大なため測定不能	98	
					d <sub>2</sub>	1.6	1.3	外筒	外筒	外筒			
					d <sub>3</sub>	0.8	1.3	吸子	吸子	吸子			
ポリプロピレン製	ポリプロピレン	シリコン	シリコン	0.3 ± 0.6	d <sub>1</sub>	0.3	0	+15	+10	+37	変形量大なため測定不能	97	
					d <sub>2</sub>	4.0	0.2	+20	+10	+41			
					d <sub>3</sub>	4.8	0.1	+37	+10	+60			
ポリカーボネート製	ポリカーボネート	シリコン	シリコン	2.9 ± 0.3	d <sub>1</sub>	0.2	0	+78	+6	+221	変形量大なため測定不能	98	
					d <sub>2</sub>	1.4	0.2	+78	+6	+85			
					d <sub>3</sub>	0.9	0	+221	+6	+250			

\* 東芝 Dentalizer 使用

第2表 吸子先端のゴムキャップの滅菌後の硬度変化 (U. S. Shore)

材 質		オゾン*		紫外線**	
		滅菌前	滅菌後	滅菌前	滅菌後
NBR	2ml 用	7	11	8	11
	5ml 用	5	8	7	7
シリコン	5ml 用	29	27	28	26

\* 山本オゾン殺菌器 \*\* 東芝 Dentalizer 使用

果は第2表のとおりである。

プラスチック製注射筒はオゾンあるいは紫外線照射により、肉眼的に透明度、径、寸法の変化、偏心等はほとんど変化が認められなかった。煮沸、高圧、乾熱等 100° 以上の温度の滅菌操作によりポリスチレン製は失透し、径が大となり長さが短縮し著しい変形、彎曲が認められた。ポリプロピレン、ポリカーボネート製は煮沸滅菌では偏心度も僅かで失透も認められない。高圧滅菌をくり返すことにより、偏心度は 115.5°, 121.5° では余り認められないが、126.5° では若干認められ、そのため気密度に劣化が認められた。また乾熱滅菌でも 130° 以上では変形、彎曲、表面の粗鬆が認められた。

吸子先端のキャップでは煮沸、高圧滅菌操作によりほとんど変質しないが、合成ゴムではオゾン、紫外線

の照射で硬さは上昇し、老化が認められた。シリコンゴムでは老化がほとんど認められなかった。

(3) 各種薬液に対する吸収溶解試験

ポリプロピレン、ポリカーボネート製注射筒の外筒、吸子およびシリコンゴムキャップの薬液に対する影響を測定するため、水、エタノール (消毒用、20%、5%)、オリーブ油、プロピレングリコールに対する溶解吸収量を測定した結果は第3表のとおりである。

考 察

ポリプロピレン樹脂はプロピレンの線状高分子重合体であるため、水、アルコール、油等の薬液に対し比較的安定<sup>3,4)</sup>とされている。われわれもその射出成型物について同様に短時間浸漬では高度の耐薬品性を認めた。これに反しポリカーボネート樹脂はホスゲンとビスフェノール A と縮重合させたもので、ポリスチレン<sup>5)</sup> (80°) に比べ軟化点が高く<sup>6)</sup> (220°)、かつポリプロピレンに比べ透明度が非常に優れている利点<sup>7)</sup>があるが、構造上ポリプロピレンに比べ、水、アルコール、油類に長期間浸漬すると溶解量が若干多いようである。しかしながら一般には注射液を吸い込み注射するまではごく短時間であるからプラスチック材料の薬液への溶解および吸収は少なく、影響は比較的僅かであろうと推察される。ただし長期間注射筒中に注射液を保存する油性懸濁液の保存容器としての注射筒では影響は無視できないので、本目的には不相当とも思

第3表 プラスチック注射筒の各種薬液に対する吸収溶解試験  
溶解減量 (単位 mg, 37°)

種 類	浸漬液→ 部 位 浸漬期間↓	水			エタノール 消 毒 用			エタノール 20%			エタノール 5%			プロピレン グリコール			オ リ ブ 油					
		外筒	吸子	Siキャップ	外筒	吸子	Siキャップ	外筒	吸子	Siキャップ	外筒	吸子	Siキャップ	外筒	吸子	Siキャップ	外筒	吸子	Siキャップ			
		ポリプロピレン注射筒	1時間	±0	±0	±0	0.2	0.2	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	±0	+0.1
	1日	±0	±0	±0	0.9	0.5	0.2	0.4	0.3	0.1	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	±0	±0	±0	±0	+0.2	+0.2	+0.6
	2日	0.1	0.1	0.1	1.1	0.5	0.2	0.5	0.4	0.2	0.5	0.4	0.2	0.5	0.1	±0	±0	±0	±0	+0.2	+0.2	+0.9
	3日	0.3	0.2	0.1	1.3	0.6	0.2	0.6	0.4	0.2	0.6	0.4	0.2	0.6	0.1	±0	±0	±0	±0	+0.6	+0.3	+0.8
	4日	0.4	0.2	0.2	1.5	0.8	0.2	0.6	0.4	0.2	0.6	0.5	0.2	0.6	0.2	±0	±0	±0	±0	+1.3	+0.3	+0.8
	5日	0.6	0.4	0.2	2.0	0.8	0.4	0.6	0.5	0.2	0.6	0.5	0.2	0.8	0.4	±0	±0	±0	±0	+1.6	+0.4	+1.8
	1週	0.6	0.4	0.2	3.4	2.0	0.6	0.6	0.6	0.2	0.6	0.5	0.2	1.0	0.6	±0	±0	±0	±0	+2.5	+0.3	+2.4
	3週	0.7	0.8	0.2	3.8	2.2	0.5	0.9	0.8	0.2	0.7	0.5	0.2	1.2	0.8	±0	±0	±0	±0	+3.4	+0.4	+22.4
ポリカーボネート注射筒	1時間	1.0	0.6	—	0.6	1.0	—	0.5	0.5	—	0.4	0.5	—	0.3	0.4	—	—	—	—	+3.5	+4.8	—
	1日	1.2	0.8	—	0.7	1.1	—	0.6	0.3	—	0.4	0.7	—	0.4	0.5	—	—	—	—	+5.2	+4.9	—
	2日	1.4	1.1	—	0.9	1.2	—	0.6	0.4	—	0.6	0.8	—	0.4	0.5	—	—	—	—	+5.0	+5.0	—
	3日	1.8	1.4	—	1.0	1.3	—	0.8	0.4	—	0.8	0.8	—	0.5	0.5	—	—	—	—	+5.2	+5.2	—
	4日	2.2	1.7	—	1.2	1.3	—	0.9	0.5	—	1.0	1.0	—	0.5	0.6	—	—	—	—	+5.4	+5.0	—
	5日	2.6	1.9	—	1.8	1.5	—	1.0	0.7	—	1.2	1.4	—	0.6	0.9	—	—	—	—	+5.8	+5.0	—
	1週	3.5	2.0	—	2.4	2.0	—	1.2	0.9	—	1.4	1.4	—	0.8	1.2	—	—	—	—	+5.5	+4.6	—
	3週	4.0	2.5	—	3.6	2.4	—	1.6	1.2	—	1.8	1.4	—	1.0	1.4	—	—	—	—	+8.6	+10.4	—

われる。また酸性色素および塩基性色素溶液の吸子、外筒、ラバーキャップへの吸着を測定したところ、ガラス製に比べてはるかに少なく、この点では問題は無いと思われる。

総括

(1) 試作したポリカーボネート樹脂製注射筒につき、ガラス注射筒基準により試験を行なったところ、性能はガラス製に劣らず、かつ耐衝撃性では優れている。またポリスチレンやポリプロピレン製の欠点である耐熱性（耐滅菌性）や透明度の点では優れている。

(2) すべてのプラスチック製注射筒は、オゾンおよび紫外線滅菌を行なったとき、変形、異常が認められない。ポリプロピレンおよびポリカーボネート製は煮沸滅菌に耐え、さらに高压滅菌でも 121.5° の温度までは変形が僅かである。

(3) 吸子先端に装着するキャップの材質は合成ゴ

ムよりシリコンゴムの方が耐熱、耐老化、耐薬品性において優れている。

(4) 水、アルコール、油等に対する耐薬品性は、ポリカーボネート製よりポリプロピレン製の方が優る結果が得られた。またプラスチック製注射筒は色素溶液の吸着がほとんど認められなかった。

文献

- 1) 藤井正道他：衛生試報，80，63，56(1962)
- 2) 厚生省告示第 413 (昭和 36.12.9.)
- 3) 三原浩：合成樹脂，6，4(1960)
- 4) 中村基与士，工業材料，9，1(1961)
- 5) 水谷久一他：プラスチック加工便覧，p. 838 (1960)，日刊工業新聞社
- 6) 帝人技術部：ペンライト技術資料，2-2，9-3 (1961)，帝国人絹 (昭和38年5月31日受付)

医療用プラスチックに関する研究（第7報）

医療用塩化ビニルについて（その1）

藤井 正道・佐藤 寿・堀部 隆・竹内 勝

近年外科領域の発達に伴い、人工心肺の装置を用いて心臓内直视下手術が可能となり、また人工腎臓により手術が容易となり多くの成功例を収めていると報告<sup>1)</sup>されている。

それら装置はほとんどがプラスチックよりなり、特に血液循環回路部は透明な軟質塩化ビニルが使用され、さらに血液保存袋、輸血セットにも塩化ビニルが使用されつつある現状である。したがってそれらの材質の検討が必要と思われるので、本報においては現在市販されている塩化ビニル管および試作した塩化ビニルの溶出について測定を行なった。

材料

市販血液導管用塩化ビニルおよびポリ塩化ビニルに可塑剤として BPBG, DOP を使い、その量により軟質、半硬質、硬質の3通りとし、また安定剤としてエポキシ、金属石鹸類（カルシウム、亜鉛、バリウム、カドミウム、鉛のステアリン酸塩）、有機錫化合物を用いて作製した塩化ビニルシートを研究材料とした。

実験方法および結果

市販塩化ビニル管の微酸性、中性、微アルカリ性

第1表 市販塩化ビニル管の各種 pH 液中で高压滅菌による溶解減量 (121.5° 単位 mg/cm<sup>2</sup>)

	安定剤系統	性質	浸漬液の pH		
			4.4	7	8.1
I	Cd-Ba-Stearate Sn-Laurate	透明硬質	-0.08	-0.20	-0.45
J	Cd-Ba-Stearate Sn-Malate-Lanrate	硬質	-0.11	-0.11	-0.30
K	Cd-Ba-Stearate Sn-Laurate	軟質	-0.17	-0.24	-0.47
L	Cd-Ba-Stearate Sn-Laurate	軟質	-0.24	-0.18	-0.26
M	Epoxy Ca-Zn-Stearate	軟質	-0.97	-0.83	-1.45
N	Organic Tin Compound	軟質	-0.24	-0.24	-0.70
O	米国製品	軟質	-0.04	-0.04	-0.10

(pH 4.4, 7, 8.1) 溶液における溶出を加速して測定するため、既報<sup>2)</sup>のように高压滅菌後の溶解減量を測定した結果は第1表のとおりである。

可塑剤の添加の少ない硬質では溶解減量は僅かであるが、可塑剤の添加の多い軟質では溶解減量が大き

Masamichi Fujii, Hisashi Sato, Takashi Horibe and Masaru Takeuchi: Studies on Plastics for Medical Uses. VI. Polyvinyl Chloride for Medical Uses (Part 1)

\* 厚生省薬務局薬事課

った。微アルカリ性溶液での溶出が最も多く、ついで中性、微酸性の順で両者の差異はあまり認められなかった。

次に可塑剤の含有量を変え各種安定剤を用いて作製した塩化ビニルシートの中における1週間、1カ月浸漬による溶解減量を測定した結果は第2表のとおりである。

第2表 試作塩化ビニルの溶解減量  
(単位 mg/cm<sup>2</sup>, 37°)

番号	安定剤系統	性質	浸漬期間	
			1週	1月
A <sub>1</sub>	Epoxy Zn-Stearate	硬質	±0	±0
A <sub>2</sub>	"	半硬質	±0	-0.03
A <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	±0	-0.08
B <sub>1</sub>	Epoxy Zn-Ca-Stearate	硬質	±0	±0
B <sub>2</sub>	"	透明, 半硬質	-0.01	-0.02
B <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	-0.02	-0.02
C <sub>1</sub>	Zn--Stearate	硬質	±0	±0
C <sub>2</sub>	"	半硬質	-0.02	-0.03
C <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	-0.04	-0.06
D <sub>1</sub>	Ca-Zn Stearate	硬質	±0	±0
D <sub>2</sub>	"	硬質	-0.01	-0.01
D <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	-0.05	-0.06
E <sub>1</sub>	Pb-Stearate	硬質	±0	±0
E <sub>2</sub>	"	硬質	-0.01	-0.03
E <sub>3</sub>	"	軟質	-0.06	-0.11
F <sub>1</sub>	Sn-Laurate	透明, 硬質	±0	±0
F <sub>2</sub>	"	透明, 硬質	-0.02	-0.04
F <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	-0.06	-0.12
G <sub>1</sub>	Sn-Malate	透明, 硬質	±0	-0.01
G <sub>2</sub>	"	透明, 硬質	-0.04	-0.04
G <sub>3</sub>	"	透明, 軟質	-0.04	-0.14

水中1週間の浸漬により硬質ではほとんど溶出を認められないが、半硬質、軟質では0.02~0.06 mg/cm<sup>2</sup>の溶解減量が認められ、1ヶ月の浸漬により硬質ではほとんど溶出が認められないが、半硬質、軟質では0.03~0.14 mg/cm<sup>2</sup>の溶解減量が認められた。また安定剤として金属石鹸類は溶出が少ないが錫系は若干多く認められた。また金属石鹸類でも可塑剤を増した半硬質では長期間では溶出が多くなる傾向が認められた。

次に市販塩化ビニル管、試作塩化ビニルシートを10g採り、還流冷却器付フラスコ中に入れ蒸留水50mlを加え湯煎上で10分加熱溶出させた液について薬学会協定の試験法<sup>6)</sup>に準拠して過マンガン酸カリ消費量およびpH、溶出残渣を測定した結果は第3表のとおりである。

第3表 透明軟質塩化ビニルの溶解量試験  
(10g/50ml/10min)

番号	安定剤系統	pH	過マンガン酸カリ消費量 (p.p.m.)	
			溶解残渣 (mg)	
K	Cd-Ba-Stearate Sn-Laurate	4.0	0.4	62.5
L	Sn-Laurate Hycar	5.6	—	25.7
M	Epoxy Zn-Ca-Stearate	4.2	—	19.1
O	—	5.6	0.2	5.2
S <sub>1</sub>	Sn系	5.8	0.5	10.5
S <sub>2</sub>	"	5.3	0.4	12.4
S <sub>3</sub>	"	3.3	0.8	73.7
H <sub>1</sub> *	Epoxy Zn-Ca-Stearate	—	—	14.4
H <sub>2</sub> *	"	—	—	11.3
A <sub>3</sub>	Epoxy Zn-Stearate	—	—	18.3
B <sub>3</sub>	Epoxy Zn-Ca-Stearate	—	—	20.6
C <sub>3</sub>	Zn-Stearate	—	—	78.9
D <sub>3</sub>	Ca-Zn-Stearate	—	—	81.3
E <sub>3</sub>	Pb-Stearate	—	—	26.8
F <sub>3</sub>	Sn-Laurate	—	—	54.5
G <sub>3</sub>	Sn-Malate	—	—	51.7

塩化ビニル成分の溶出により溶出液のpHは5.8~4.0であった。また一般にpH値の低下の著しいものは溶出残渣も多く、かつ過マンガン酸カリ消費量も大である傾向があったが明確な比例関係は得られなかった。過マンガン酸カリ消費量は安定剤としてのカルシウム亜鉛系は一般に少ないが、錫系は組成により異なり著しく差異があることが認められた。透明軟質な塩化ビニルの過マンガン酸カリ消費量の20 p.p.m.以下のものはエポキシカルシウム・亜鉛系 (M, O) 錫系 (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>) があつた。

血液導管としての塩化ビニルは硬さを必要とする箇所もあるが、多くは透明度の高い、柔軟性に富み、滅菌にも耐え、使用中電解輸液や血液中に成分が溶出せず、しかも繊維素が析出し血液流を停滞させないことが望ましい。また保存袋は内容液すなわち血液や輸液を貯蔵中、長期間にわたり成分が溶出したり、透明度柔軟性の劣化がないことが必要である。したがって医療用としての塩化ビニルは透明で柔軟のみならず、溶出の少ないことが重要で、配合される可塑剤は、軟質では30%前後添加される<sup>7,8)</sup>から毒性の多いTCP

9-11) は不適當で、毒性の少ない DOP<sup>10-12)</sup>, BPBG<sup>13)</sup> 等が望ましいと思われる。また安定剤の添加量は可塑性剤に比べて少ないが、その種類により透明性、耐候性、耐熱性、相溶作用、毒性が関連するので、比較的毒性の少ないエポキシ・カルシウム・亜鉛系や透明性のよい有機錫系が現在のところ望ましい。しかし今後共安定剤の配合、加工方法の研究により耐熱性、透明性のよいかつ溶出の少ない医療用塩化ビニルの研究が望ましい。また今後塩化ビニルの溶解減量の大小のみならず、溶出物質の分析およびその作用について検討を行なう予定である。

### 総括

市販血液導管用塩化ビニルおよび試作した塩化ビニルシートにつき、37°、煮沸、高圧滅菌による溶解減量、pH、過マンガン酸カリ消費量について測定を行なった。

(1) 市販塩化ビニル管の高圧滅菌の際の溶解減量は硬質では少ないが、軟質になるににしがたい大となる。

(2) 安定剤としてエポキシ・金属石鹸を使用した塩化ビニルは、溶出量が少ないが、硬質でかつ若干着色し透明性が悪い。また可塑性剤を増して軟質透明にすると溶出がますます傾向にあった。

(3) 安定剤としての有機錫系は、透明かつ軟質で、

熱安定性がよいためよく使用されているが、金属石鹸系に比べ溶解減量が多い傾向があるから溶出量の少ない錫系の研究が望ましい。

おわりに試料の作製に御協力をいただいた日産化学工業、東京ファインケミカル、高分子工業に対し深い謝意を表する。

### 文 献

- 1) 長谷健一他：プラスチックス, 7, 36(1956)
- 2) D. B. Akutsu, W. J. Kolff: *J. Appl. Physoil.* 14, 475(1959)
- 3) 渋谷喜守雄他：プラスチックス, 7, 56(1956)
- 4) 中尾純一他：総合医学, 15, 14(1958)
- 5) 藤井正道他：衛生試験, 80, 56(1962)
- 6) 川城滋他：プラスチックス, 10, 6(1959)
- 7) 水谷久一：プラスチック加工技術便覧 p. 375(1960), 日刊工業新聞社
- 8) 鶴野文夫：総合医学, 18, 174(1961)
- 9) R. H. S. Thompson: *A.M.A. Arch. Ind. Health*, 11, 2(1955)
- 10) 池田良雄：毒物致死量集, p. 125(1963), 南山堂
- 11) 藤井正道他：厚生科学研究報告, p. 15(1962)
- 12) C. P. Carpenter: *A.M.A. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 8, 219(1953)

(昭和38年5月31日受付)

## 歯科用セメント中のヒ素含有量について

藤井 正道・堀部 隆・石塚 弘章\*

現在歯科領域において充填および合着用として広く使用されているケイ酸セメントおよびリン酸セメントの液の主成分はリン酸であるが、このリン酸には必然的に微量のヒ素が含まれているといわれている。したがってその液と練和し硬化したセメント中より若干量のヒ素が溶出することが考えられ、そのため日本工業規格<sup>1)</sup>および米国歯科医師会規格<sup>2,3)</sup>では歯髄への失活作用を考慮して、ヒ素量を一定量以下に規定している。

本研究は現在市販されているケイ酸セメントおよびリン酸亜鉛セメントの日本工業規格 (JIS) 法<sup>1)</sup>ならびに食品添加物公定書<sup>4)</sup>によりヒ素含有量の測定を行なったのち、JIS 法につき若干検討を行なったのでその結果について報告する。

### 材 料

市販リン酸亜鉛セメント4種およびケイ酸セメント3種について測定を行なった。

### 実験方法および結果

日本工業規格 JIS 6602 および 6603 に準拠して、標準稠度 (リン酸亜鉛セメント 0.5ml: 1.45g, ケイ酸セメント 0.4 ml: 1.43g) で練和し硬化したセメントを粉碎し、200 メッシュ篩下の粉末 1g をとる。これに 100 ml の水を加え湯煎上で1時間加温したのち、濾過した濾液につき、その 5ml をとり、それに希塩酸 1 滴塩化第一スズ溶液 5ml を加え、1時間以内に暗色になるかどうかを検したところ、すべてヒ素は認められなかった。つぎに前の濾液の一部について、 $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{4}$  に湯煎上で注意深く濃縮した液につ

第1表 歯科用セメントのヒ素含量試験成績

試料	製造年月	JIS によるヒ素試験				食品衛生試験法によるヒ素試験 ( $\mu\text{g}/5\text{ml}$ )		
		溶出液	1/2濃縮液	1/3濃縮液	1/4濃縮液	溶出液	1/2濃縮液	セメント液
リン酸セメント A	1961	ヒ素を検出せず	ヒ素を検出せず	ヒ素を検出せず	ヒ素を検出せず	0.3>	—	—
” B	1962	”	”	”	”	0.3>	—	0.8
” C	1963	”	”	”	”	0.3>	—	0.5
” D	1963	”	”	”	”	0.3>	0.3	0.3
ケイ酸セメント A	1958	”	”	”	”	0.5	1.5	2.0
” B	1958	”	”	”	”	0.3>	0.4	0.8
” C	1960	”	”	”	”	0.3>	0.4	0.5

いて、JIS 法により検出を行なったがヒ素は認められなかった。したがって日本工業規格法では第1表のように溶出液中  $2\mu\text{g}/5\text{ml}$  以下では検出が不可能であると思われる。

さらに微量のヒ素を検出する目的で、JIS の溶出液につき食品添加物公定書<sup>\*)</sup>により測定した結果は、第1表のように  $0.5\mu\text{g}/5\text{ml}$  以下であった。参考としてセメント液を10倍に希釈したものについてヒ素量を測定したところ、 $0.3\sim 1.5\mu\text{g}/5\text{ml}$  で、各社ごとにヒ素含有量には差異があると思われる。

歯髄失活にはヒ素量として1歯当り  $500\sim 1,000\mu\text{g}$  を含有する糊剤を使用するが<sup>\*)</sup>、本実験において最大のヒ素溶出を示したリン酸亜鉛セメントでも、硬化した粉末1g当りの全溶出量は  $10\mu\text{g}$  (As) である。もし大白歯 Davis 冠の合着の際の使用量が仮に  $0.3\text{g}$  としても、リン酸亜鉛セメントの溶解量(崩壊率)は通常  $0.12\%/week$  ( $50\mu\text{g}/\text{day}$ ) で、ケイ酸セメントでは  $1.5\%/week$  であること、および形態は塊状のため接触面積は JIS 法のような粉末よりはるかに少ないこと、以上の2つの理由により溶出は  $0.0036\mu\text{g}/$

week\* より一段と少ないものと考えられ、前記歯髄失活使用量より考えて国産歯科用セメントのヒ素による歯髄への影響はほとんど問題とならぬものと考えられる。

終わりに本実験に種々御便宜をいただいた食品部岡田技官に深く謝意を表する。

## 文 献

- 1) JIS T 6602 歯科用リン酸亜鉛セメント (1962), JIS T 6603 歯科用ケイ酸セメント (1962)
- 2) American Dental Association Specification No. 8 for Dental Zinc Phosphate Cement, No. 9 for Dental Silicate Cement
- 3) W. Souder, G. C. Paffenbarger: Physical Properties of Dental Materials, p.109 (1942), U. S. Government printing office,
- 4) 厚生省: 食品添加物公定書 (1960), ヒ素試験法, p. 266
- 5) 歯学事典, p. 15, 331(1958), 永未書店
- 6) 杉山不二: 口腔治療学, p. 44(1958), 永未書店 (昭和38年5月31日受付)

\* リン酸セメントの1週間のヒ素の溶出量を計算すれば

$$10\mu\text{g} \times \frac{0.3}{1.0} \times 0.0012 = 0.0036\mu\text{g}/\text{week}$$



## マロン酸処理内毒素の反覆投与について

石 関 忠 一・岩 原 繁 雄

内毒素のくりかえし投与によって、内毒素に対する生体の反応性が変化することについてはいくつかの報告がある。著者らは赤痢菌内毒素を各種の条件下で有機酸を用いて減毒を試みた結果、マロン酸を用いることによって毒性が低くかつ抗体産生能のある内毒素をえて、その1回投与による生理作用の一部について報告したり、今回はこの内毒素を反覆投与したばあいには生体が示す反応について白血球数、血小板数および体温の面から検討した結果を報告する。

## 実験材料および方法

内毒素は1% マロン酸を用いて100° 30分加熱減毒処理を行なった *Sh. flex.* 2b K<sub>3</sub> 株内毒素を用いた。内毒素の投与は三通りの方法によった。

ウサギは白色在来種、同腹産、♂で体重2000±100gのものを用いた。

測定は注射前および注射後30分、1、2、3、4、5時間に行なった。

白血球は Thoma-Zeiss 血球計算盤を用いた。

血小板は耳辺縁静脈より注射針の先端を用いて穿刺採血し、Olef<sup>2)</sup>の方法により赤血球1,000個に対する血小板数を数えることにより求めた。

体温は布巻固定法により、“く”の字形体温計を用いて直腸温を測定した。

## 実験結果および考察

1. 前処置として毒素1mg (0.2ml) を皮内接種、2週後より10μg/kg ずつ週1回3週間にわたって静注し、最終注射の1週後に100μg/kg を静注したばあい。

No. 1, No. 2 ウサギとも10μg/kg の静注によって白血球、血小板ともに明らかな減少は示さず、100μg/

第1表 前処置 (1mg 皮内注射) を行なったばあい

ウサギ番号	No. 1				No. 2			
	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg
注射量 (静注)	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg
白血球最高減少%	0	0	0	48.8	1.7	1.1	0	29.3
血小板最高減少%	4.2	6.9	0	12.6	8.5	22.6	8.6	5.4
最高体温上昇(°C)	0.45	0.5	0.4	1.7	0.45	0.3	0.4	1.05

第2表 前処置を行なわなかったばあい

ウサギ番号	No. 3				No. 4			
	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg
注射量 (静注)	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	10μg/kg	100μg/kg
白血球最高減少%	32.5	35.8	9.4	71.1	34.9	51.9	39.1	68.5
血小板最高減少%	42.9	37.7	0	0	43.0	0	61.3	49.4
最高体温上昇(°C)	1.55	1.4	0.7	1.65	0.4	0.25	0.2	1.05

第3表 100μg あるいは1000μg を皮下注射したばあい

ウサギ番号	No. 10				No. 12	
	1000μg/1匹	1000μg/1匹	1000μg/1匹	1000μg/1匹	100μg/1匹	100μg/1匹
注射量 (皮下注)	1000μg/1匹	1000μg/1匹	1000μg/1匹	1000μg/1匹	100μg/1匹	100μg/1匹
白血球最高減少%	3.1	1.7	0	17.3	1.9	1.8
血小板最高減少%	33.8	0	0	0	0	18.4
最高体温上昇(°C)	0.6	0.75	0.95	0.15	0.05	0.2

表中数字は注射前との比較 (第1, 2, 3表)

kg の静注によって白血球の減少のみが観察された。なお2例とも 10 µg/kg では発熱を示さず、100 µg/kg によって 1° 以上の発熱がみられた (第1表)。

2. 上記 1. の投与方法から前処置としての 1 mg 皮内接種のみをばいいたばあい。

No. 3, No. 4 ウサギとも白血球数は毒素の注射ごとにほぼ毎回著明な減少がみられた。また血小板数は2例とも1回目の 10 µg/kg 静注によってほぼ半減を示した (第2表)。

3. 1 mg/1匹 または 100 µg/1匹 週1回皮下注射したばあい。白血球数の変動はみられず、血小板は1回目の注射で減少したが以後は減少を示さなかった

(第3表)。

この実験結果から週1回の 10 µg/kg の連続静注によってはウサギの毒素に対する反応性はあまり変化せず、むしろ1回の 1 mg 皮内注射によって毒素のもつ白血球および血小板減少作用が抑制される傾向がみられた。

#### 文 献

- 1) 岩原繁雄, 石関忠一: 医学と生物学, 66, 48 (1963)
- 2) Olef, I.: *J. Lab. Clin. Med.*, 20, 416(1935)  
(昭和38年5月31日受付)

### 赤痢菌感染実験に際し行なったサルの糞便内細菌叢ならびに生時・感染死後における腸管各部位の細菌叢について

林 長 男

腸内細菌叢に関する研究はヒト<sup>1)</sup>から爬虫類、魚類に至る各種動物の腸管あるいは糞便内の細菌叢について行なわれている。また腸内細菌叢の生体内における意義、役割、これに付随して腸管系侵襲病原体との相関関係、さらに各種微生物、化学療法剤投与による腸内細菌叢の変動、推移などが種々検討され論じられている。

近年実験動物にサルの起用が盛んになり、腸管あるいは糞便内細菌叢に関する報告<sup>2,3,4)</sup>が漸次みられるようになってきた。

そこで著者はサルにおける一連の赤痢菌感染実験<sup>5)</sup>を試みるに先立ち、サルの糞便内細菌叢と生時、感染死後における腸管各部位の細菌叢について検索を行なった。

#### 実験材料ならびに方法

供試動物は横浜市立野毛動物園で飼育中の一般観覧用サル 20 頭、当実験室で飼育中のサル 6 頭計 26 頭である。

方法はグラム陰性桿菌、グラム陽性桿菌および球菌、酵母および酵母よう糸状菌を対象として Desoxycholate 培地、血液寒天培地、Phenyl ethyl alcohol 寒天培地、Sabouraud 培地の直接塗抹から分離した。

生時の健康サル腸管各部位における細菌叢は、麻酔

し開腹して露出した腸管の各部位 5 cm に対し、小腸では生理食塩水 1 cc、大腸においては 3 cc を注入、腸内容物と十分に混和し、その一滴を上記平板に落し劃線培養を行ない、露出した腸管には直ちに赤痢菌を注入し感染実験を試み開腹部の縫合を行なった。

感染死後の腸管各部位における細菌叢は、開腹し腸管各部位の内容物を無菌的に採取、直接平板塗抹を行なった。

各平板に発育した集落はグラム染色により識別され + : 1~5 個, ++ : 6~10 個, +++ : 11 個以上として記載した。

なおグラム陰性桿菌に対しては生化学的性状検査を行ない、Kauffmann の分類方式にしたがって各 Genus に分類した。

#### 実験成績

健康サルの糞便より分離された細菌叢は第1表に示すようにグラム陽性菌群のみを多数検出した2頭を除いて、全般的に *E. coli* の存在が多く、腸内細菌の著しい変動は認められなかった。またグラム陰性桿菌の生化学的性状検査においても *Klebsiella* と *E. freundii* を認めたのみで、その他の中にも病原性腸内細菌は検出されなかった。

第2表、第3表は健康サルの腸管各部位における細

第1表 健康サルの糞便より分離した細菌叢

サルの 番 号	グラム陰性桿菌				グラム 陽性桿菌	グラム陽性球菌			酵母および 酵母よう 糸状菌
	<i>E. Coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>E. treundii</i>	その他		<i>Staphylo- coccus</i>	<i>Strept- coccus</i>	<i>Tetragenes</i>	
1	卅	—	—	—	卅	卅	+	—	+
2	卅	—	—	—	+	—	卅	—	+
3	卅	—	—	—	卅	+	卅	—	卅
4	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—
5	卅	—	—	—	—	—	卅	—	+
6	卅	—	—	—	—	—	+	—	卅
7	—	—	—	—	卅	—	卅	—	—
8	—	—	—	—	卅	—	—	—	—
9	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—
10	+	+	卅	—	卅	—	—	—	—
11	卅	—	—	—	卅	—	卅	—	—
12	卅	—	—	卅	卅	卅	+	+	—
13	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—
14	卅	—	—	—	+	—	+	—	—
15	卅	—	—	+	—	—	卅	—	—
16	卅	—	—	卅	—	—	+	—	—
17	卅	—	—	—	+	—	卅	—	+
18	卅	—	—	—	卅	—	—	—	卅
19	卅	—	—	—	—	+	卅	—	—
20	卅	+	—	—	卅	卅	卅	—	—
21	卅	—	—	—	卅	+	—	—	+
22	卅	—	—	—	+	+	卅	—	—
23	卅	—	—	卅	—	卅	—	—	—
24	卅	—	—	+	—	—	+	—	—
25	卅	—	—	卅	+	+	卅	—	+
26	卅	+	—	卅	卅	—	—	—	—

注 +: 1~5 個 卅: 6~10 個 卅: 11 個以上を示す。

第2表 健康サルの腸管各部位における細菌叢

	グラム陰性桿菌		グラム陽性桿菌		グラム陽性球菌		酵母および酵母よう 糸状菌	
	M1	M4	M1	M4	M1	M4	M1	M4
12 指	—	—	—	—	—	—	—	—
空 腸	—	—	—	—	—	+	—	—
回 腸	+	+	+	卅	+	—	—	—
盲 腸	卅	卅	+	卅	卅	+	—	—
結 腸	卅	卅	+	卅	+	+	—	—
直 腸	卅	卅	+	卅	+	+	—	—

注 +: 1~5 個 卅: 6~10 個 卅: 11 個以上

菌叢と赤痢菌感染実験を試み、屠殺または死亡直後の腸管各部位における細菌叢である。

第2表の健康サルにおける小腸上部には菌を認めず、下部に移行するにつれて菌種、菌量も次第に増加し、大腸下部に至ると糞便内細菌叢とほとんど変わらない性状を示した。これに対し第3表の赤痢菌感染サルは小腸のみならず胃腸管全域にわたり圧倒的多数の

グラム陰性桿菌の分布がみられ、反対にグラム陽性菌群の減少が観察された。特に M4 においては *Proteus* と *Pseudomonas* が胃腸管全域に分布し、他のグラム陰性、陽性菌群、酵母および酵母よう糸状菌は全く検出されなかった。

考 察

著者は生活環境、飼料などほぼ同一条件と思われる

第3表 赤痢菌感染サル の腸管各部位における細菌叢

	グラム陰性桿菌			グラム陽性桿菌			グラム陽性球菌			酵母および酵母よう糸状菌		
	M2	M3	M4	M2	M3	M4	M2	M3	M4	M2	M3	M4
胃	卅	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	—	卅	—	—
12指腸	+	卅	卅	卅	—	卅	+	卅	—	+	—	—
空腸	卅	—	卅	卅	—	卅	—	—	—	+	—	—
回腸	卅	卅	卅	+	—	卅	—	+	—	—	—	—
盲腸	卅	卅	卅	—	—	卅	+	+	—	+	卅	—
結腸	卅	卅	卅	—	—	卅	—	+	—	+	卅	—
直腸	卅	卅	卅	—	—	卅	—	+	—	—	—	—

注 + : 1~5 卅 : 6~10 卅 : 11 以上.

状態に置かれている動物園または実験室で飼育中のサルの糞便内細菌叢について、また赤痢菌感染実験に先き立ち開腹した健康サル の腸管各部位の細菌叢と、赤痢菌感染により屠殺または死亡した罹患サル のそれとの間にどのような変動がみられるか、この二点について特に留意した。

代田<sup>9)</sup>らはラッテ、ウサギの糞便内細菌叢において *Lactobacillus* が優勢、田中<sup>7)</sup>らは健康なカニクイサルのそれは *Lactobacillus* 優勢な細菌叢を示し、ヒトで得られた成績とほぼ一致したと報告している。また Haenel<sup>8)</sup>らも *Lactobacillus* が優勢で、次に *Putrefying bacteria*, *E. coli*, *Enterococcus* が続くと報告している。著者はこの乳酸菌属まで深く詳細に検索しなかったが、グラム陰性桿菌を生化学的性状から分類してみると大部分が *E. coli* で占められ、特に腸内細菌に因して糞便中の細菌叢に対する通常概念を越えた異常分布ならびに病原細菌の検出はみられなかった。

つぎに田中<sup>7)</sup>らの報告にもみられるように、健康サル の小腸上部にはいずれの菌も認められず、下部に移行するにしたがい菌種、菌量も増大し、大腸に至ると糞便内細菌叢とほとんど変わらない状態を示した。これに対し赤痢菌感染サルは胃腸管全域にわたり菌の存在が認められ、グラム陰性桿菌の圧倒的多数と反対にグラム陽性菌群の減少が目立った。安齋<sup>9)</sup>は赤痢保菌サルは健康サルに比してすべての菌が少なく、特に *E. coli*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* に著明であったと報告している。また Haenel<sup>8)</sup>らは他の病原性腸内細菌による疾病において、胃腸管全域から菌の検出されたことを報告している。

特に1例においてはグラム陰性桿菌に *Proteus*, *Pseudomonas* の両者がしめ、グラム陽性菌群、酵母および酵母よう糸状菌は全く検出されなかった。これらの菌は細菌性抗生物質産生菌として報告<sup>10)11)</sup>もあることから、腸管内において他菌との拮抗作用のあり

うることが考察される。

### 結 論

動物園において一般観覧用に供されているサル 20頭、当実験室で飼育中のサル 6頭計 26頭の糞便内細菌叢を調べ、分離菌種をグラム染色によりグラム陰性桿菌、グラム陽性桿菌および球菌、酵母および酵母よう糸状菌に大別した。さらに赤痢菌感染実験に先き立ち開腹した健康サル の腸管各部位における細菌叢と、赤痢菌感染により屠殺または死亡した罹患サル のそれとを比較した。

1) サル 26頭の糞便内細菌叢は *E. coli* が主体をしめ、異常分布ならびに病原細菌の検出もみられなかった。

2) 健康サル の小腸上部にはいずれの菌も認められず、下部に移行するにつれて菌種、菌量も増大し、大腸に至ると糞便内細菌叢とほとんど変わらない状態を示した。

3) 赤痢菌感染サルは胃腸管全域にわたり菌の存在が認められ、グラム陰性桿菌の圧倒的多数と反対にグラム陽性菌群の減少が観察された。

4) 赤痢菌感染サル の一例において、*Proteus* と *Pseudomonas* の両菌が胃腸管各部位から検出され他菌は全く検出されなかった。

### 文 献

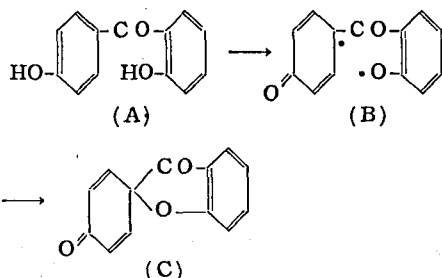
- 1) 本間 道：第35回日本細菌学会総会シンポジウム講演，(名古屋)，1962
- 2) 佐々木正五：第35回日本細菌学会総会総合シンポジウム講演，(名古屋)，1962
- 3) 佐々木正五外5名：第17回日本細菌学会関東支部総会講演，(東京)，1962
- 4) 田中昭生：日本細菌学雑誌，14，688(1959)
- 5) 林 長男，岩原繁雄：日本細菌学雑誌，17，282(1962)
- 6) 代田 稔外2名：日本細菌学雑誌，17，917(1962)

- 7) 田中利男外 3 名：第 17 回日本細菌学会関東支部  
総会講演，(東京)，1962
- 8) H. Haenel, L. Grützner, G. Henneberg : *Zbl. F. Bact. I. Orig.*, 178, 42(1960)
- 9) 安斎 博：私信
- 10) F. Jacob : *Ann. Inst. Pasteur.*, 86, (2), 149 (1954)
- 11) 木村 功：長崎医学会雑誌，35, (8), 1486(1960)  
(昭和38年 5月31日受付)

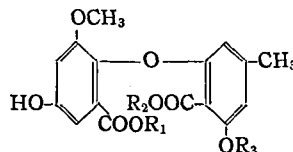
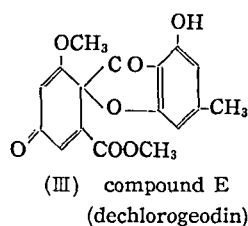
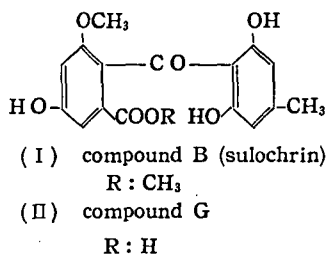
benzophenone 誘導体より spiran 環への  
微生物転換の試み

名 取 信 策 ・ 宇 田 川 俊 一

菌類代謝産物・高等植物成分の中には，phenol 類の one electron transfer, radical の形成，その分子内または分子間 coupling によって生合成されると考えられるものが多く，その中には galanthamine, griseofulvin 等，医薬品として利用されている化合物も含まれてくる<sup>1,2)</sup>。benzophenone, spiran 系の菌類代謝産物としては *Penicillium urticae* BAIN. (*P. griseofulvum* DIERCKX) の griseofulvin とその関連化合物<sup>3,4)</sup>，*Aspergillus terreus* THOM, *P. estinogenum* KOMATSU et ABE, *P. frequentans* WESTLING 等の geodin および関連化合物<sup>5-8)</sup> が知られているが，これらは次の生合成経路を支持するものである。

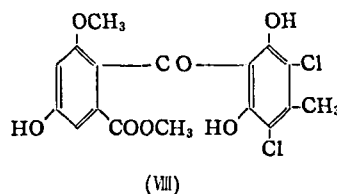


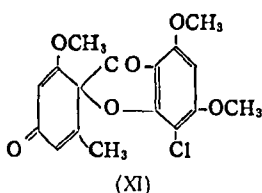
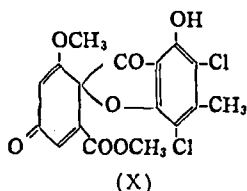
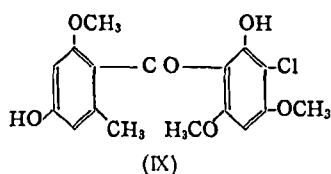
私達は先に *Oospora sulphurea-ochracea* v. BEY-MA の代謝産物の構造が (I)~(VII) で示されることを明らかにして，この仮説をさらに支持した<sup>9)</sup>。



- (V) compound C  
R<sub>1</sub> : CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> : H,  
R<sub>1</sub> : CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> : R<sub>3</sub> : H R<sub>3</sub> : CH<sub>3</sub>CO
- (VI) compound D (VII) compound F  
R<sub>1</sub> : R<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> : H R<sub>1</sub> : R<sub>2</sub> : R<sub>3</sub> : H

そこで上の (A) の構造を持つ化合物である，sulochrin (I)，dihydrogeodin (VIII)，griseophenone A (IX) を基質として，それぞれ dechlorogeodin (III)，geodin (X)，dehydrogriseofulvin (XI) 等の spiran 環 (C) への微生物転換の可能性を，spiran 誘導体の代謝が報告されている菌の類縁株，すなわちこのタイプの酸化系を持つと思われる菌株について検討した。





#### 実験方法

使用菌株 *P. urticae* (*P. griseo-fulvum* を含む) 8株, *P. brefeldianum* DODGE, *P. clavigerum* DEMELIUS, *P. estinogenum*, *A. terreus* 7株, *Oospora sulphurea-ochracea*, *P. nigricans* (BAIN.) THOM 4株, *P. frequentans*, *A. nidulans* (EIDAM) WINT. 2株の計9種 26株。

基質 sulochrin (I): *Oospora sulphurea-ochracea* の代謝したもの, m.p. 242~248° (decomp.); dihydrogeodin (VIII): geodin (X) の水素化分解により合成, mp. 214~216°; griseophenone A (IX): griseofulvin の  $\text{SeO}_2$  による脱水素で dehydrogriseofulvin (XI) とし, 水素化分解して合成, mp. 211~214°. いずれも文献と一致。

培養 酵母エキス添加の Czapek-Dox 培地, potato-dextrose 培地, 小松氏の培地<sup>7)</sup> を適宜選び, 上記の菌を接種, 25° で 2~4 日間 (*Oospora sulphurea-ochracea* の場合は 7 日間) 振盪培養した後, 基質 15~20 mg / 培地 80 ml を MeOH 溶液として加え, さらに 2~10 日間 (通常 3~5 日間) 25° で培養を続ける。

代謝物の検索 菌体とろ液をわけ, 菌体はそのままアセトンで抽出, ろ液は pH 2 として塩析後エーテル抽出, とともに溶剤除去してつぎの試料とする。別に上記の培養の際に基質を添加せずにおいたものを同様処理してコントロールとする。

(I), (VIII) を基質としたときは, phosphate buffer (pH 7.5) 処理のろ紙 (東洋ろ紙 No. 53) を用い,

同じ buffer 飽和の BuOH を展開溶剤として上昇法でペーパー・クロマトグラフィーを行ない, diazo 試液で呈色させて検出。Rf (I) 0.88, (III) 0.68, (VIII) 0.85, (X) 0.52。

(IX) を基質としたときは, Silica-Gel G (Wöhlm) を用い, 表示の方法により作成したプレートにより, 酢酸ブチルを展開剤として薄層クロマトグラフィーを行ない, 蛍光および  $\text{KMnO}_4$  液の脱色によって検出。Rf (IX) 0.69, (X) 0.24。

以上の予試験により転換の可能性が認められた場合は, 上記と同条件で 1本あたり 80 ml のフラスコ数本について同様に処理したエキスをを用いて, アルミナ・フロリジルまたはシリカゲルを吸着剤としてクロマトグラフィーを行ない, 代謝物の分離を試みた。

#### 実験結果

(I) を基質としたとき *A. terreus* 2株, *P. estinogenum*, *Oospora sulphurea-ochracea* によって, (VIII) を基質としたとき *P. estinogenum*, *P. clavigerum*, *Oospora sulphurea-ochracea*, (X) を基質としたとき *P. urticae* によって明らかに原料基質およびコントロールと異なる転換物質のスポットを検出したが, 数本のフラスコを合わせたカラムクロマトグラフィーの結果から, いずれも所期の spiran 系化合物ではなく, かつ, 単離・同定し得るほどの収率ではなかった。

ほとんどすべての場合, 菌体からは基質を検出し, 数本のフラスコを合わせてカラムクロマトグラフィーを行なって, 混融・IR 吸収により基質を同定し得たのに対して, ろ液中からは上記の転換物質単離のために数本のフラスコを合わせて処理した場合は, 基質を回収したが, エキスのペーパークロマトまたは薄層クロマトの確認限度内では多くの場合, 基質が検出されないことから, 菌体中への基質のとりこみは行なわれているものと考えられる。

#### 考察

以上のごとく現在のところ, 目的の転換には成功していない。しかしこれは前記の生合成系の存在を否定するものではなく, 現に今回使用した菌株は, 過去においては spiran 系化合物を産生していたが継代培養によって現在は産生が認められないものか, これらの類縁株ではあるが spiran 系化合物産生が直接には証明されていない菌株であることから考えて, spiran 系の生成には極めて微妙な条件があり, むしろより一般的な phenol oxydase 系による基質の分解ないし分子間縮合等が優先してしまうものと考え。以上からこのような特殊の分子内酸化的縮合系を見出すために

は、現在 spiran 系化合物を明らかに産生している菌株の分離とその使用、あるいは広く他の一般の菌株についてのスクリーニングを試みるべきであろう。また転換物を追及するためには、むしろ芳香環の酸化分解の方向をも検索する必要があるであろう。

本研究に当ってワックスマン財団助成金の援助をうけた。感謝する。

文 献

1) D. H. R. Barton, T. Cohen : Festschrift A. Stoll, p. 117 (1957), Birkhäuser AG, Basel  
 2) C. H. Hassall, A. I. Scott : Recent Develop-

ments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds, p. 119 (1961), Pergamon, London  
 3) A. I. Scott, et al. : J. Chem. Soc., 1960, 4628  
 4) A. Rhodes, et al. : Biochem. J., 81, 28(1961)  
 5) C. H. Hassall, et al. : J. Chem. Soc., 1960, 4838  
 6) A. Rhodes, et al. : Chem. & Ind., 1962, 611  
 7) 小松 : 農化, 31, 905(1957)  
 8) C. E. Stickings A. Mahmoodian : Chem. & Ind., 1962, 1718  
 9) R. F. Cartis, C. H. Hassall. S. Natori, and H. Nishikawa : Chem. & Ind., 1961, 1360; S. Natori, H. Nishikawa: Chem. Pharm. Bull., 10, 117, 987(1962)

(昭和38年5月31日受付)

殺菌剤によるカビ胞子の細胞変化の電子顕微鏡的観察 (第1報)

*Aspergillus* 分生胞子の正常微細構造

一戸 正勝\*・松島 崇・倉田 浩

微生物に対する殺菌剤の作用機序に関する研究は主として生化学的な面からの究明に本筋がおかれ細胞の、特に微細構造の変化についての観察がとかく軽視されている。

著者らはカビの胞子が殺菌剤に接触した場合の形態的变化の推移を、微細な部分にいかなる変化をもたらすかという点をみきわめることにより、殺菌機序の解明の一知見が得られるものと考え、本実験を行なった。本文では、まず正常な *Aspergillus fumigatus* の他2菌の成熟分生胞子の詳細を観察したところを記述する。

材料および方法

供試菌種は真菌室保存株 *Aspergillus fumigatus* Fres. (NHL5039), *Aspergillus effusus* Tiraboschi (NHL 5010), *Aspergillus tamarii* Kita (NHL 5058) を用い、培地 (Potato Dextrose Agar) 上に14日間25°で培養、形成させた分生胞子を、緩衝液または蒸留水に浮遊させて低速遠沈して集め、0.5-2.0% オスミウム酸ペロナル緩衝液 (pH 7.4)<sup>1)</sup> および 0.6-3.0% 過マンガン酸カリウム水溶液<sup>2)</sup> により氷室内で30-180分固定した。また前二種の固定剤を併用する方法

も試したが、これらのうち好結果を得たのは0.6-1.5% 過マンガン酸カリウム水溶液で60-120分固定したものであった。固定後エタノール系列(30-100%)で脱水を行ない、包埋にはメタアクリル樹脂を用いセラチンカプセル内で紫外線照射<sup>3)</sup>により重合させた。薄切にはガラスナイフをつけたJUM-5型ウルトラミクロトームを使用し、50-150mμの切片を得た。切片は脱包埋せずJEM-T6S型電子顕微鏡(60kV)で直接倍率2500-15000倍で観察した。

電子顕微鏡的観察

Cell Wall は電子密度の高い網状の繊維構造の厚い外壁 (Outer wall) 内壁 (Inner wall) の二層よりなりそれぞれの厚さは60-100mμである (Fig. 1, 2, 3)。この二層は非常にはなれやすく、菌体表面の突起の部分では明らかにはなれており、突起の形態は菌種により異なっている<sup>4)</sup>。THOM および RAPER<sup>5)</sup> はこの2層間に色素の粒や塊があるとしているが本実験においては不明であった。

Cytoplasmic membrane は15-30mμの1~2層からなり、その内側にはやや電子密度の高い顆粒状のものがみられた。限界膜をはっきりせず凸凹した状態

Masakatsu ICHINOE, Takashi MATSUSHIMA and Hiroshi KURATA : Electron Microscope Observations on the Ultrastructural Changes of Fungus Spore Cell Induced by Fungicide Agent. I. Fine Structure of *Aspergillus* Conidia in Normal Stage

\* 衛生微生物部真菌室研究生

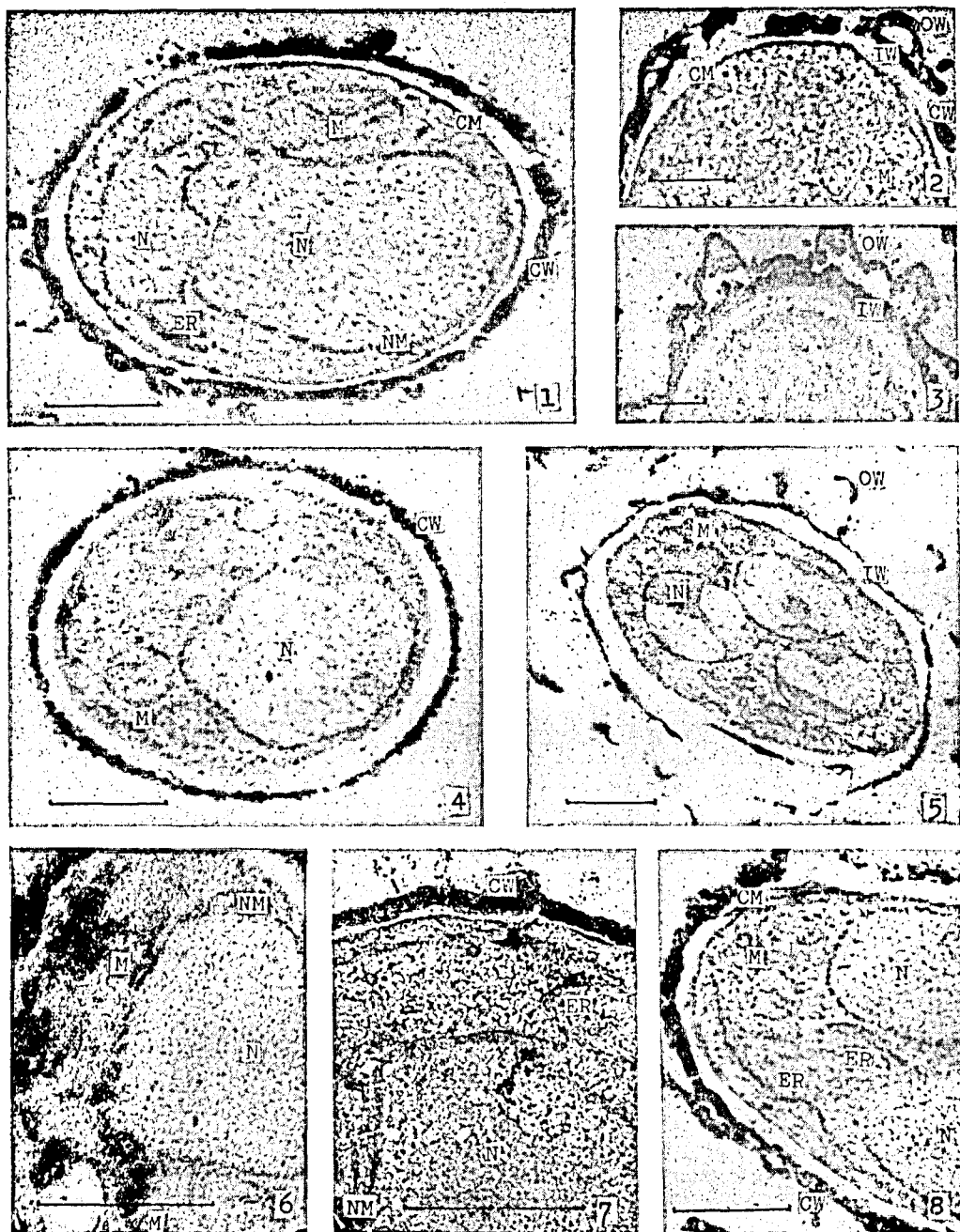


Fig. 1. *Asp. fumigatus* 二層よりなる細胞壁 (CW) 細胞質膜 (CM), 核膜 (NM) と Endoplasmic reticulum (ER) の連絡, Mitochondria (M) がみられる。

Fig. 2. *Asp. effusus* 細胞壁 (CM) の突起, Mitochondria (M), 細胞質膜 (CM) の内側の顆粒を示す。

Fig. 3. *Asp. tamarii* はなれやすい細胞壁の外壁 (OW) と内壁 (IW) の間に粒状物が認められる。

Fig. 4. *Asp. fumigatus* 低電子密度の均一な顆粒性の核質 (N); Mitochondria (M) がみられる。

Fig. 5. *Asp. effusus* 核質 (N) が電子密度の異なる像を呈している。

Fig. 6. *Asp. effusus* 核膜 (NM) が二重, Mitochondria (M) の二重膜, Crystae が明瞭にみられる。

Fig. 7. *Asp. fumigatus* 核膜 (NM) と Endoplasmic reticulum (ER) とが明らかに連絡している。

Fig. 8. *Asp. effusus* Endoplasmic reticulum (ER) と核膜 (NM), 細胞質膜 (CM) との連絡がみられる。(図中の尺度は  $1\mu$ )



になっている像もあり、Cytoplasm と少しはなれて低電子密度のやや粗な層 (10-20m $\mu$ ) がみられるものがあった (Fig. 3)。

Cytoplasm の中に比較的大きな部分を占める二重の膜 (20-40m $\mu$ ) にかこまれた構造物がみられた (Fig. 1, 4, 5, 6), その数は *Asp. fumigatus* で 1~2 個, *Asp. effusus* で 1~3 個みられ, *Asp. tamaritii* では 2~5 個であった。この構造物の数は HCl-Giemsa により染色した核の光顕的観察による数と一致しており, また高等動植物および真菌類<sup>8,7,8,9,10</sup> の核の電顕像と基本的な構造が共通している点などから, 核であることを確認した。二重の膜にかこまれた内部 (核質) については, 1.5% 過マンガン酸カリ 2 時間固定による分生胞子では, やや低電子密度の顆粒状のものが点在するような像が得られ (Fig. 1. 4, 6), 0.6% 過マンガン酸カリ 1 時間固定のものでは, 核質内に電子密度の高い部分と低い部分とがみられ, この間には特に構造をもった境界は認められない像が得られた (Fig. 5, 8)。このような像の違いは同一菌種を実験に用いていながらみられるので, 固定条件の差によるものか, あるいは分生胞子の成熟の程度によるものか, さらに検討を試みている。核の周辺には円形, 楕円形, コンマ形などの構造物が点在するのがみられ, その大きさは 0.3-1.2 $\mu$  であった (Fig. 1, 4, 5)。この構造物は 10-20 m $\mu$  の二重膜におおわれ内部に棚状のものがみられるところから Mitochondria と考えられる。

棚状構造 (Crystae mitochondriales) の間の基質は, Cytoplasm とやや電子密度が異なっている (Fig. 6)。本実験で得られた mitochondria の像は他の真菌類の電顕像<sup>8,9,10,11</sup> と特に異なっていないようである。Cytoplasm 中に長くのびた二重膜をもつ構造物

があり, 管状, 小胞状などの形態を示すものがみられた (Fig. 1, 7, 8)。この構造物は高等動物の細胞中にみられる Endoplasmic reticulum と同様のものと考えられる。この Endoplasmic reticulum のうちには Cytoplasmic membrane や Nuclear membrane と連続しているものもみられた<sup>10,12,13,14</sup> (Fig. 1, 7, 8) が Mitochondria とのつながりは認められない。

稿を終るにのぞみ御指導をいただいた岩原繁雄部長に深謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) G. E. Palade : *J. Exp. Med.*, 95, 285 (1952)
- 2) J. H. Luft : *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 2, 799 (1956)
- 3) S. Weinreb : *Science*, 121, 744 (1955)
- 4) H. Iizuka : *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 29, 195 (1955)
- 5) C. Thom, K. B. Raper : *A Manual of Aspergilli* (1945), Williams & Wilkins Co.
- 6) A. Nagata : *J. Yanago Med. Ass.*, 13, 4 (1962)
- 7) S. Yoshizawa : *J. Yanago Med. Ass.*, 9, 329 (1958)
- 8) S. Tsukahara : *Japan J. Med. Mycol.*, 3, 195 (1963)
- 9) Y. Hiraga, H. Fuse : *Japan Med. Mycol.*, 9, 194 (1963)
- 10) T. R. Thyagarajan et al. : *J. Bacteriol.*, 83, 381 (1962)
- 11) T. R. Thyagarajan : *Exp. Cell Res.*, 25, 216 (1961)
- 12) J. H. Mclear, G. A. Edwards : *Exp. Cell Res.*, 16, 689 (1959)
- 13) G. A. Edwards, M. R. Edwards : *Amer. Jour. Bot.*, 47, 622 (1960)
- 14) R. T. Moore, J. H. Mclear : *Exp. Cell Res.*, 24, 588 (1961)

(昭和38年5月31日受付)

癌および細菌に対する化学療法剤のスクリーニング試験成績 (第4報)  
主として含窒素異項環化合物について (4)

宮沢 文雄・橋本 泰而・岩原 繁雄・板井 孝信  
鈴木 郁生・佐子 茂・神谷 庄造・夏目 幸子  
中島 利章・大草 源三

われわれは pyridine, quinoline, pyridazine 等に nitro 基を導入した誘導体が, エールリッヒ腹水癌細胞および細菌に対して, 強い致死的作用を示す成績を得た。その中でも 4-nitropyridazine 1-oxide については, 側鎖置換基を変えた際の nitro 基の化学的活性度あるいは細胞におよぼす影響を検討してきたが, さらに引き続いて昭和 37 年 5 月より昭和 38 年 5 月までに当所製薬研究部で合成された pyridazine 誘導体 41 種を中心に, 若干の cinnoline, quinoline の誘導体を加えた計 47 種の化合物について検討した。

実験方法

各薬剤の作用は, エールリッヒ腹水癌細胞に対しては cylinder plate method (C.P. と略す) を, 細菌に対してはブドウ球菌, 大腸菌, 赤痢菌, カンジダを供試菌として, 希釈法で効果を測定した。

実験成績

実験に用いた薬剤および成績は表に示す。また効果の判定規準は既報<sup>1-3)</sup>の通りで, C.P. では阻止帯が 20 mm 以上のものを陽性として, その数値を記載し, 抗菌作用は 100 mcg および 1000 mcg/ml で作用の認められたものはその濃度を記載した。

Table Results of experiments

No.	Compounds tested	Anticancer effect (C.P)	Bacteriostatic effect (Concentration mcg/ml)
	Pyridazine derivatives		
1	3-methyl-5-nitropyridazine 1-oxide <sup>4)</sup>	23.0	209p : <100, EW-10 : <100 U <sub>5</sub> /41 : <100, 1012 : <100
2	3-methoxy-5-nitropyridazine 1-oxide <sup>4)</sup>	21.0	209p : <100, EW-10 : <100 U <sub>5</sub> /41 : <100, 1012 : <100
3	3,6-dimethyl-5-nitropyridazine 1-oxide <sup>4)</sup>	23.0	209p : <100, EW-10 : <100 U <sub>5</sub> /41 : <100, 1012 : <100
4	3,6-dimethyl-4-hydroxy-5-nitropyridazine 1-oxide <sup>5)</sup>	± (18.5)	—
5	3-methoxy-4-nitro-6-chloropyridazine 1-oxide <sup>6)</sup>	21.5	209p : <100, EW-10 : <100 U <sub>5</sub> /41 : <100, 1012 : <100
6	3-hydroxy-4-nitro-6-chloropyridazine 1-oxide <sup>6)</sup>	20.0	—
7	3-methyl-5-methoxypyridazine 1-oxide <sup>4)</sup>	—	—
8	3,5-dimethoxypyridazine 1-oxide <sup>4)</sup>	—	—
9	3-phenoxy-pyridazine 1-oxide <sup>7)</sup>	—	—
10	3-benzyloxy-pyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	—	—
11	4-benzyloxy-pyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	—	—
12	4-(p-nitro)styrylpyridazine 1-oxide <sup>10)</sup>	± (16.0)	—
13	6-piperidinopyridazine 1-oxide <sup>5)</sup>	—	—
14	3-piperidinopyridazine 1-oxide <sup>5)</sup>	—	—
15	4-cyclohexylidene hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	± (15.0)	EW-10 : 1,000, U <sub>5</sub> /41 : 1,000
16	4-(3,5-dimethylpyrazoyl-1)pyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	—	—
17	3-hydroxy-6-(β-hydroxy-α-azonaphthalene)pyridazine 1-oxide <sup>11)</sup>	—	—

Fumio MIYAZAWA, Taiji HASHIMOTO, Shigeo IWAHARA, Takanobu ITAI, Ikuo SUZUKI, Shigeru SAKO, Shozo KAMIYA, Sachiko NATSUME, Toshiaki NAKASHIMA and Genzo OKUSA : Screening Test on Anti-cancer and Anti-microbial Actions. VI. On Some Derivatives of Nitrogen-containing Heterocyclic Compounds (4)

No.	Compounds tested	Anticancer effect (C.P.)	Bacterio static effect (Concentration mcg/ml)
18	3,4-dimethoxy-1-hydroxypyridazine-6-one <sup>12)</sup>	± (18.0)	209p : 1,000
19	1,3,4-trimethoxy-6(1H)pyridazinone <sup>9)</sup>	—	—
20	1-ethoxy-3,4-dimethoxy-6(1H)pyridazinone <sup>9)</sup>	—	—
21	1,3-dimethoxy-6(1H)pyridazinone	—	—
22	3,5-dimethoxypyridazine <sup>9)</sup>	—	—
23	3,4-dimethoxy-6-chloropyridazine <sup>13)</sup>	—	—
24	3-chloro-4,5-dimethoxypyridazine <sup>9)</sup>	—	—
25	3,6-dimethoxy-4-cyanotriazenopyridazine <sup>9)</sup>	20.0	—
26	3,5-dichloro-4-methoxypyridazine <sup>14)</sup>	—	—
27	3,6-dichloro-4-methoxypyridazine 1-oxide <sup>15)</sup>	± (18.5)	—
28	4,5-dichloropyridizinione-3 <sup>16)</sup>	—	209p : 1,000, EW-10 : 1,000 U <sub>5/41</sub> : 1,000
29	4-methyl-imidazolo-(1,2-6)-6-chloropyridazine <sup>17)</sup>	± (18.5)	—
30	4-hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	—	—
31	6-hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	—	—
32	5-hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	—	—
33	3-thiosemicarbazinopyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	± (19.0)	—
34	6-salicylidene hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	—	—
35	3-isopropylidene hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>8)</sup>	—	—
36	4-isopropylidene hydrazinopyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	± (18.5)	1012 : 1,000
37	3,4-dichloro-5-hydrazinopyridazine <sup>18)</sup>	—	209p : 1,000, EW-10 : 1,000 U <sub>5/41</sub> : 1,000
38	4-azidopyridazine <sup>9)</sup>	—	—
39	3-azidopyridazine <sup>8)</sup>	—	—
40	5-azidopyridazine 1-oxide <sup>9)</sup>	—	—
41	3,6-dimethoxy-4-azidopyridazine <sup>9)</sup>	—	—
Other Compounds			
42	3-nitrocinnoline 1-oxide <sup>19)</sup>	± (19.0)	EW-10 : 1,000, U <sub>5/41</sub> : <100
43	6-nitrocinnoline 2-oxide <sup>17)</sup>	20.0	209p : <100 EW-10 : <100 U <sub>5/41</sub> : <100 1012 : <100
44	4-hydroxy-8-nitrocinnoline <sup>20)</sup>	24.0	209p : <100 EW-10 : <100 U <sub>5/41</sub> : <100 1012 : <100
45	8-nitro-4-toluene- <i>p</i> -sulfonyl hydrazinocinnoline <sup>21)</sup>	± (16.0)	—
46	4-chloro-8-nitrocinnoline <sup>20)</sup>	23.0	209p : <100 EW-10 : <100 U <sub>5/41</sub> : <100 1012 : <100
47	2,2'-biquinoline <sup>22)</sup>	—	—

C.P: Diameter of blue inhibition zone by cylinder plate method (mm)

209p: *Staphylococcus aureus*. U<sub>5/41</sub>: *Escherichia coli* 0-1

EW-10: *Shigella flexneri* 2a 1012: *Candida albicans*

#### 総括および結論

pyridazine 核の種々の位置に nitro-, alkyl-, alk-  
oxy-, phenoxy-, benzyloxy-, chloro-, hydrazino-,  
azido-group 等を導入した誘導体 41 種, cinnoline,

quinoline 誘導体 6 種, 計 47 種の合成品について,  
エールリッヒ腹水癌細胞および 4 種の細菌に対する作  
用を検討した成績を報告した。

pyridazine 核の 5- 位に nitro 基を有する誘導体

すなわち 3-methyl-, 3-methoxy- および 3,6-dimethyl-5-nitropyridazine 1-oxide には 4-位の nitropyridazine 誘導体と同様に強い制癌作用および抗菌作用がみられた。また前報<sup>2)</sup>に記載の 3-nitropyridazine 1-oxide も有効であったところから、生物細胞に対する作用は 4-位の nitro 基のみによるものでなく、活性 nitro 基によることは明らかである。したがって 4-位と 3-位または 5-位の nitro 基では当然化学的活性度に違いが予測されるが、スクリーニングの段階として生物細胞におよぼす影響は 5-位のものも強い部類に入れられる。また pyridazine の chloro および hydrazine 誘導体も若干の作用が観察された。

さらに cinnoline 誘導体では、いずれも nitro 基を有するものであったが nitropyridazine 誘導体と同様癌細胞および細菌に対する作用も強いものであった。

#### 文 献

- 1) 中村正夫他：衛生試験報，78，157(1960)
- 2) 宮沢文雄他：衛生試験報，79，307(1961)
- 3) 宮沢文雄他：衛生試験報，80，88(1962)
- 4) 夏目幸子：未発表
- 5) 佐子 茂：未発表
- 6) 板井孝信，佐子 茂：Chem. Pharm. Bull., 10, 933(1963)
- 7) 板井孝信，夏目幸子：Chem. Pharm. Bull., 11, 343(1963)
- 8) 板井孝信，神谷庄造：Chem. Pharm. Bull., 11, 348(1963)
- 9) 板井孝信，神谷庄造：Chem. Pharm. Bull., 投稿中
- 10) 板井孝信，佐子 茂，大草源三：Chem. Pharm. Bull., 投稿中
- 11) 板井孝信，中島利章：Chem. Pharm. Bull., 10, 936(1962)
- 12) 板井孝信，夏目幸子：Chem. Pharm. Bull., 11, 83(1963)
- 13) 板井孝信，夏目幸子：Chem. Pharm. Bull. 10, 643(1962)
- 14) K. Eichenberger et al. : Helv. Chim. Acta, 39, 1755(1956)
- 15) 板井孝信，夏目幸子：Chem. Pharm. Bull., 11, 85(1963)
- 16) 倉石 典：Pharm. Bull., 4, 497(1956)
- 17) 鈴木郁生，中島利章，板井孝信：未発表
- 18) 神谷庄造：未発表
- 19) 鈴木郁生，中島利章，板井孝信：Chem. Pharm. Bull., 11, 268(1963)
- 20) K. Schofield, R.S. Theobald : J. Chem. Soc., 1949, 2404
- 21) E.J. Alford, K. Schofield : J. Chem. Soc., 1953, 609
- 22) 中野三郎：薬誌，79，310(1959)

(昭和38年5月31日受付)

## 真菌に対する化学療法剤のスクリーニング試験成績 (第 1 報)

## 主として含窒素異項環化合物について

岩原 繁雄・倉田 浩・稲垣 尚起・板井 孝信  
鈴木 郁生・神谷 庄造・中島 利章

当所製薬研究部で合成された含窒素異項環化合物 22 種のサンプルについて、抗真菌力をスクリーニングしたので、その結果を報告する。

## 実験方法

検体を 100 µg/ml の濃度になるように加えた Waksman 液体培地 10 ml に、供試菌胞子の suspension

1 ユーゼを接種し、25° で 7 日間培養して、その抗真菌力を調べた。

供試菌: *Aspergillus niger*, *Fusarium moniforme*, *Helminthosporium oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichophyton mentagrophytes*

Table 1. Results of antifungal activity

Compound tested (100 µg/ml)	Antifungal effect				
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium moniforme</i>	<i>Helminthosporium oryzae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
3-aminopyridazine 2-oxide	—	—	±	—	—
3-acetylamino-pyridazine 2-oxide	—	—	—	—	—
3-aminopyridazine	—	—	+	—	—
3-acetylamino-pyridazine	—	—	+	—	±
4(5)-nitro-5(4)-styrylimidazole	—	—	+	±	—
3-amino-6-chloropyridazine	—	—	±	—	—
4-nitro-5-carboxymethylimidazole	—	—	±	—	—
3-hydroxypyridazine	—	—	±	—	—
4(5)-methyl-5(4)-nitroimidazole	—	—	±	—	—
5(4)-methyl-2-mercaptoimidazole	—	—	+	—	—
phenylazimido-p-quinone	—	—	—	+	+
8-hydrazinocaffeine	—	—	—	—	—
8-hydrazinoquinoline	—	—	—	—	—
4-hydrazinoquinoline	—	—	±	±	±
1-(4-quinolyl)-1-H-[1, 2, 3]triazole-4-methanol	—	—	—	—	—
1-phenyl-1H[1, 2, 3]triazole-4-methanol	—	—	—	—	—
8-azidocaffeine	—	—	—	—	—
8-azidotheophylline	—	—	—	—	—
7-azidomethyl-8-chlorotheophylline	—	—	—	—	—
4-azidoquinoline	±	—	—	—	+
4-azidoquinoline 1-oxide	+	+	+	+	+
4-azidopyridine 1-oxide	—	—	—	—	—

## 実験成績

このスクリーニングテストは第 1 回の結果であるが、表に示すとおり 4-azidoquinoline 1-oxide だけが 100 µg/ml の濃度において、供試した真菌類の全般に対して平均した抗菌力を示した。この他の化合物

では、やや特異的であり、たとえば 3-aminopyridazine を含む 4 化合物が *Helminthosporium oryzae* にたいし、また phenyl azimido-p-quinone は酵母である *Saccharomyces cerevisiae* や白癬菌類の *Trichophyton mentagrophytes* などに対してかなりの抗

菌力を示した。  
 その他、表中で ± で記録されているのは微弱ながら一応抗菌力を現わしたと認められたものであるが、これらの抗菌性は問題にならない。

以上の結果からでは、まだ化合物の構造と抗菌性との関連性について何等の示唆も得られていない。

(昭和38年5月31日受付)

## インスタント食品の細菌および真菌汚染度について

### 衛生微生物部

現在市場に多く出廻っているインスタント食品の中、ジュース類、コーヒー、ココア、紅茶、およびしるこなどの細菌および真菌の汚染状況を調べたので結果を報告する。

#### 材料および方法

全国1都、1道、2府、22県、3市より118検体を収去したが、ジュース類53、コーヒーおよび紅茶25、ココア17、しるこ23検体である。以上は厚生省食品衛生課よりの収去依頼によって各地より当所に送られてきた材料で、製造後30日以内で本試験に供した。製造期日は昭和36年12月から昭和37年3月までの間である。

微生物検査の方法は、衛生検査指針Ⅲ、食品衛生検査指針(I)の細菌学的検査法によった。すなわち調査項目は生菌数、大腸菌群、ブドウ球菌、真菌数およびpH、水分などを測定した。真菌はPDA培地、25°培養によった。

#### 調査結果

結果の大要は次のとおりである。

1) 一般細菌、大腸菌群、およびブドウ球菌の汚染状況

ジュース類：検査した53検体、いずれも生菌数は300以下、大腸菌群、ブドウ球菌陰性で、細菌学的には問題はなかった。

コーヒーおよび紅茶：検査した25検体中300以下のもの21検体(84%)で残りの4検体は $90 \times 10^1 \sim 11 \times 10^2$ であり、1検体生菌数は300以下であるにもかかわらず大腸菌群MPN 230のものがあつた。

ココア：検査した17検体中生菌数 $10 \times 10^2$ 以下のもの4検体で、他は $14 \times 10^2 \sim 52 \times 10^3$ で、なかには $280 \times 10^3$ のものがあつた。大腸菌陽性のもの3検体(MPN 20~330)で、これらはいずれも生菌数の多い検体である。

しるこ：検査した23検体中生菌数 $10 \times 10^2$ 以下のもの7検体、 $30 \times 10^2$ 以上のもの13検体(57%)であつた。大腸菌群陽性のものは23検体中17検体(74%)で、そのうちMPN  $24 \times 10^2$ のものが4検体認められた。

2) 真菌類(酵母およびカビ)の汚染状況

ジュース類：検査した53検体中、g当りの菌数が10~50までのものが11検体(20%)で、最も多い場合でも50を越える検体はなかった。

コーヒーおよび紅茶：検査した25検体中、300以上が1検体、200以上が1検体、100以上が5、10~90までの検体が11(40%)で、総検体の半数以上から真菌が検出された。

ココア：検査した17検体中、真菌の検出されなかったのは一例のみで、他は25~50、多いものでは700以上のものが2例あつた。コーヒー、紅茶に比べるとはるかに真菌汚染度が高い。

しるこ：検査した23検体中100以上のものが9検体(39%)で、800以上のものが2例あつた。前者同様真菌の検出率は極めて高い。

#### 考察

一般にジュース類はpH 2.0前後で、細菌の生育はある程度抑えられているようである。この場合真菌類の検出も少なく一応衛生的には問題がないようであつた。コーヒー、ココアおよび紅茶になるとpH 4~6付近となり、一般に細菌数が多く、大腸菌陽性のものが認められ、真菌の検出も増加している。しるこは想像以上に細菌汚染度が高く、かつ真菌も圧倒的多量に検出された。しるこの場合は砂糖が添加されていること、およびもなか形式の容器になっていることなどから微生物、特に真菌の汚染は当然高いものとみられる。真菌の大部分は *Panicillium*、*Aspergillus* 属菌などで、他に多種の酵母類が検出された。細菌と真菌

との検出頻度は、しるこに関しては細菌の多いものが、やはり真菌の検出が多い傾向がみられた。

今回のしるこの微生物学検査結果から今後砂糖生菓子類全般の食品衛生的な問題を再考することの必要性が暗示されているようである。

#### 摘要

全国的にインスタントジュース、コーヒー、ココア、紅茶、しるこ類などの微生物学的検査を実施した

結果、ジュース類については一応問題にならないが、その他のもの、特にしるこなどは極めて汚染度の高いことが指摘された。

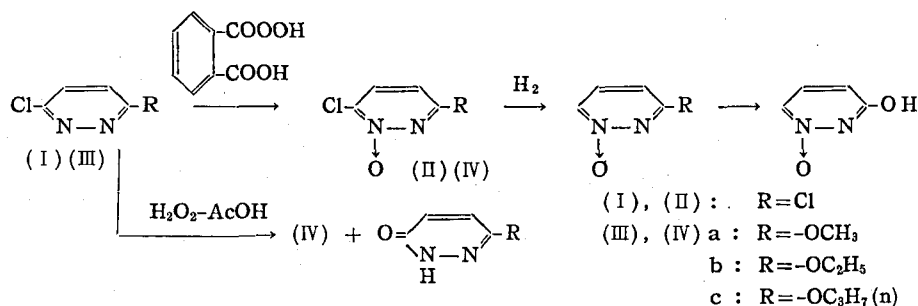
おわりに検体を送付下さった各地の食品衛生係官に対し深謝の意を表します。

(昭和38年5月31日受付)

## 抄 録

**Potential Anti-cancer Agents. IV. 3-Substituted 6-Chloropyridazine 1-Oxides.**Takanobu ITAI, Shigeru SAKO: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 989(1962).

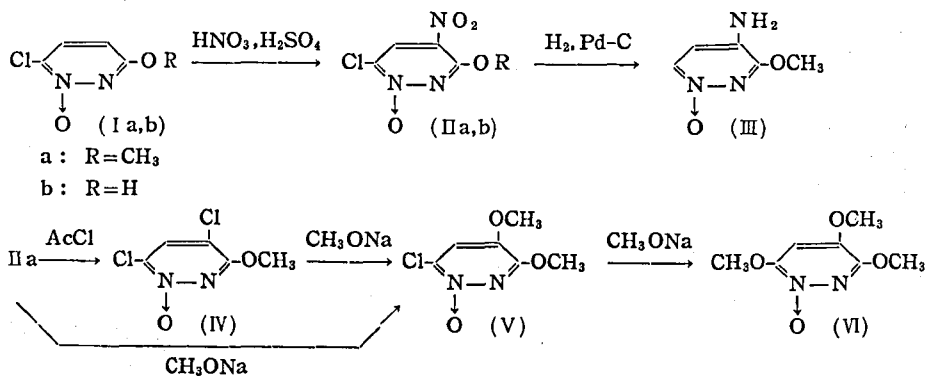
3,6-dichloropyridazine (I) をエーテル中 mono-perphthalic acid で酸化すると、得量は 9% であるが、3,6-dichloropyridazine 1-oxide (II) が得られる。3-methoxy-(IIIa), -ethoxy-(IIIb) あるいは -propoxy-(IIIc) pyridazine を同様エーテル中で酸化すると、いずれも N-オキシド (IV) を与える。IV を換触還元によって脱 Cl し、次に加水分解により脱アルキルすると 3-hydroxypyridazine 1-oxide に一

**Potential Anti-cancer Agents. V. 3,6-Disubstituted 4-Nitropyridazine 1-Oxides and their Derivatives.**Takanobu ITAI, Shigeru SAKO: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 933(1962).

3-methoxy-6-chloropyridazine 1-oxide (Ia) を硫酸と 50° に加温ニトロ化すると、3-methoxy-nitro-6-chloropyridazine 1-oxide (IIa) が得られる。IIa は還元すると 3-methoxy-4-aminopyridazine 1-oxide に一致するので、IIa のニトロ基は 4 位である。3-hydroxy-6-chloropyridazine 1-oxide (Ib) も同様硫酸でニトロ化すると、3-hydroxy-4-nitro-

6-chloropyridazine 1-oxide (IIb) を生じる。

IIa にアセチルクロリドを反応させると 3-methoxy-4,6-dichloropyridazine 1-oxide (IV) となり、これにナトリウムメトオキシド 1 モルを作用させるとクロルの 1 個がメトキシ基に置換される。このものは IIa にナトリウムメトオキシド 1 モルを作用させて得られた 3,4-dimethoxy-6-chloropyridazine 1-oxide (V) に一致する。IV の 4 位と 6 位のクロルでは 4 位の方が活性であると考えられる。V にさらに 1 モルのナトリウムメトオキシドを作用させると 3, 4, 6-trimethoxy-4-aminopyridazine 1-oxide (VI) が得られる。

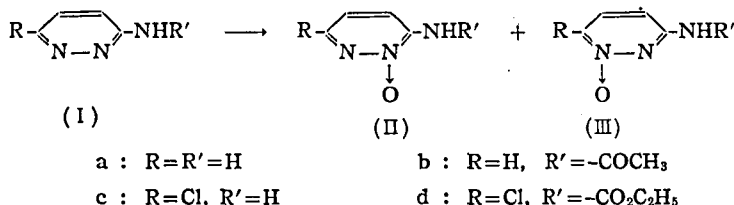




### Potential Anti-cancer Agents. VI. N-Oxidation of 3-Aminopyridazine Derivatives.

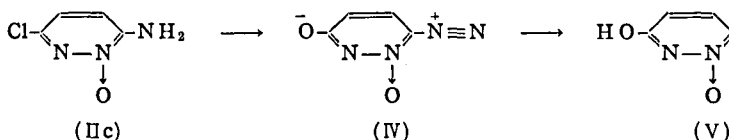
Takanobu Irai, Toshiaki Nakashima: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 936 (1962); *Ibid.*, 10, 347 (1962) (Communications to the Editor).

3-acetylamino-pyridazine (I b) を過フタル酸また

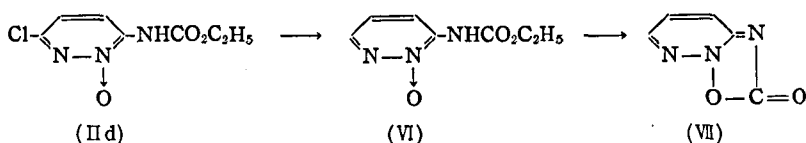


(IIa~d) は加水分解, 接触還元によって同位置に N-oxide 化されているのが確かめられ, (IIIb) は加水分解によって 3-aminopyridazine 1-oxide に一致する。(IIa), (IIc) は塩化第二鉄液により深青色を呈するから 2-oxide 体が推定される。

(IIc) を鉍酸中, -2~0° において亜硝酸ソーダで



さらに, (IId) を接触還元して得られた 3-carbethoxyaminopyridazine 2-oxide (VI) を加熱閉環し 2H-[1,2,4] oxadiazolo [2,3-b] pyridazin-2-one (VII)



### Potential Anti-Cancer Agents. VII. Azidopurine Derivatives.

Takanobu Irai, Genzo Ito: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 1141 (1962).

6-Azidopurine および 7-azidomethyl-8-chloro-theophylline が抗がん作用を有するのに興味を持ち, 2,6-dichloro-7-methylpurine (I) および 2,6,8-trichloro-7-methylpurine (II) より出発して種々の Azidopurine 誘導体を合成した。

はじめに (I), (II) を C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ONa と加熱して, 2-chloro-6-ethoxy-7-methylpurine (III), 2,6-dichloro-8-ethoxy-7-methylpurine (IV), および 2-chloro-6,8-diethoxy-7-methylpurine (V) を作り, これらも出発原料とした。原料の構造はつぎのとおりであ

は過酸化水素-酢酸で酸化し, 1-oxide 体 (IIIb) および 2-oxide 体 (IIb) を得た。また, 3-aminopyridazine (I a), 3-amino-6-chloropyridazine (I c) および 3-carbethoxyamino-6-chloropyridazine (I d) を過酸化水素-酢酸で酸化し, それぞれの 2-oxide 体 (II a), (II c) および (II d) を得た。

ジアゾ化し, -10° に 2 時間保つと 3-diazo-6-oxopyridazine 2-oxide (IV) が析出する。これをメタノール中で還流すると 3-hydroxypyridazine 1-oxide (V) が得られることにより, (IIa~d) が 2-oxide 体であること確かめられる。

を得て, (IIa~d) は 2-oxide 体であることを確認した。

る。

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
I	Cl	Cl	H
II	Cl	Cl	Cl
III	Cl	OEt	H
IV	Cl	OEt	OEt

原料 (A) をヒドラジン・エタノール溶液と水浴上に加熱するか, (B) 80% ヒドラジンと煮沸すれば, 6-位のクロル基は Hydrazino 基に変わり, (B) 法によれば 6-位 Ethoxy 基, または 2-位クロル基の Hydrazino 基への置換が起こる場合もある。こうして表1のような化合物を得た。

この Hydrazino 体に亜硝酸ナトリウムと塩酸を反応させると, Azido 体を生じる。表2に示した。

表 1

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	結晶形	融点(分解)	収率
VI	Cl	NH <sub>2</sub>	H	針晶	200°	70%
VII	Cl	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	針晶 <sup>a)</sup>	198	70
VIII	Cl	NH <sub>2</sub>	EtO	針晶	207	60
IX	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H	針晶	258~260	80(Iより)
X	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	針晶	260~262	77(IIIより)

a) 塩酸塩

表 2

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	結晶形	融点(分解)	収率
XI	Cl	N <sub>3</sub>	H	針晶	190~191°	82
XII	N <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>	H	針晶	175~180	83
XIII	Cl	N <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>	針晶	190~195	50
XIV	Cl	N <sub>3</sub>	EtO	針晶	160~163	81
XV	N <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>	針晶	155	44
XVI	8-Azidotheobromine			鱗片晶	170~180	50

表 3

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	結晶形	融点	収率
XVII	Cl	NH <sub>2</sub>	H	針晶	284	89
XVIII	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H	針晶	360	95
XIX	Cl	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	針晶	311~312	63
XX	Cl	NH <sub>2</sub>	EtO	針晶	242~243	99
XXI	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	板晶	335~340	58

(XI)~(XVI) を接触還元すると N<sub>2</sub> を発生して amino 体となるので、これを従来文献既知の Amino 体またはクロル体とアンモニアで作ったものと同定した。表 3 にまとめる。

前記 Azido 基は核の 3 級窒素のとなりにあるので、Tetrazolo 環形成の疑いがあるが、これら化合物の赤外吸収スペクトルに 2140 cm<sup>-1</sup> の吸収のあること、接触還元で容易に相当するアミノ体を与えることより考えて遊離の -N=N<sup>+</sup>=N<sup>-</sup> として存在するものと推論した。

当所衛生微生物部での試験管内試験によれば (XI) は抗がん、抗菌性を有し、(XIV) および (XVI) はよい抗がん作用を有する。

#### Potential Anti-cancer Agents. VIII. Nitration of Pyridazine 1-Oxide (I).

Takanobu ITO, Sachiko NATSUME: *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 83(1963).

Pyridazine 1-oxide (I) を混酸で強条件でニトロ化して得られる mononitropyridazine N-oxide (II)

は酸性でパラジウム炭かあるいは中性でラネーニッケルを用いて接触還元すれば 4-aminopyridazine (III) を与えるが、中性でパラジウム炭で還元すれば、その N- オキシド体 (IV) (mp. 130°) を得る。一方 (II) は sodium methoxide および acetylchloride または酸塩化リンで処理するとそれぞれ対応するメトキシ体 (VI) (mp. 124-4.5°) およびクロル体 (VIII) (mp. 121°) を生成する。(VI) または (VIII) をそれぞれ希アルカリで処理すると, hydroxypyridazine 1-oxide (IX) (mp. 285° (分解)) を生ずるが、このメチル化体 (X) (mp. 80°, ピクラート: mp. 133-4°) が、C-O Me 体 (VI) でなく、N-O Me 体 (1-methoxy-4(1H)-pyridazinone) であること、しかもその紫外吸収は 1-methyl-4(1H)-pyridazinone のそれに類似することなどより、(IV) は 4-hydroxy 体であり、したがってさきのニトロ体 (II) は 4-nitropyridazine 1-oxide であるとわかった。

さらにこれを化学的に確かめるために次の反応を行なった。すなわち、4-methoxy-3, 6-dichloropyridazine

(XI) を過酸で処理すると、二種の N- オキシド体 (XIIa, mp. 174~5°, および XIIb, mp. 162.5~4°) のほかに、4(or 5)-methoxy-6-chloro-3(2H)-pyridazinone (XIII) (mp. 286°(分解)) を得る。XIIa は sodium methoxide により既知の 3, 4, 6-trimethoxypyridazine 1-oxide (XIV) を与えるから、XI の 1- オキシド体、すなわち 4-methoxy-3, 6-dichloropyridazine 1-oxide であり、したがって、XIIb は 2-oxide 体である。なおこの反応の際副生する mp. 235~6° (分解) の化合物 (XVa) は、その赤外吸収 ( $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 2700, 1662), そのベンゾイル体 (XVb; mp. 169°) の赤外吸収 ( $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 1770, 1664) および XIV の塩酸加水分解によって容易に生成する事実などより、1-hydroxy-3, 4-dimethoxy-6(1H)-pyridazinone である。XVa は 4-nitro-3, 6-dimethoxypyridazine 1-oxide を sodium methoxide で処理して XIV を合成する際にも、かなりの量で生成する。さて、XIIa はアルカリ性でパラジウム炭触媒を用いて接触還元すると、2 モルの水素を吸収後、4-methoxypyridazine

1-oxide を生成するが、これはさきにニトロ化体を sodium methoxide で処理して得た VI と全く同一である。したがって、pyridazine 1-oxide の混酸によるニトロ化では 4 位にニトロ基が導入されることが明らかとなった。

**Potential Anti-cancer Agents. IX. Nitration of Pyridazine 1-Oxide (2).**

Takanobu ITAI, Sachiko NATSUME : *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 342(1963).

Pyridazine 1-oxide (I) を落合、金子の法で benzoylchloride-硝酸銀を用いてクロロホルム中ニトロ化すると、二種のニトロ化体 (II, mp. 169° および III, mp. 143°) を生ずる (得量 II, 33%, III, 0.8%) ニトロ化剤として、benzoylchloride の代わりに acetylchloride を用いると、II の得量が 18% に低下する。次に述べる一連の反応により II が 3-nitropyridazine 1-oxide であり、III が 5-nitropyridazine 1-oxide であることを決定した。

i) II および III を酸性でパラジウム炭を用いて接触還元すると、それぞれ 4 モルの水素吸収後、既知の 3-aminopyridazine (IV) および 4-aminopyridazine (V) を生ずる。ii) II は sodium methoxide により既知の 3-methoxypyridazine 1-oxide (VI) を、AcCl により既知の 3-chloropyridazine 1-oxide (VII) をそれぞれ与える。

ここに得た 3-nitropyridazine 1-oxide (II) の求核試薬に対する反応性を、前報の 4-nitropyridazine 1-oxide のそれと比較検討したところ、少なくとも酸性の試薬に関しては、4>3 であることが判明した。

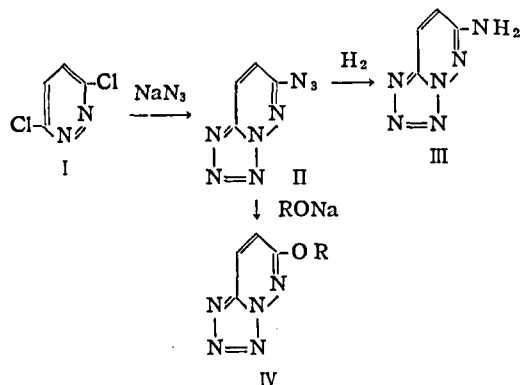
さらに (II) の中性溶液におけるパラジウム炭による接触還元を吟味し、(II) より段階的に 3-hydroxylaminopyridazine 1-oxide (VIII) [mp. 184° (分解)], 3-aminopyridazine 1-oxide (IX) [mp. 139~141° (分解)] を経て 3-aminopyridazine に至ることを明らかにした。VIII, IX, の構造は、3-chloro N-oxide (VII)

よりそれぞれ hydroxylamine または ammonia と処理して得たものと比較して、同一であることを確認決定した。一方、VII より sodium methoxide で 3-methoxy N-oxide (VI) を、また hydrazine hydrate で 3-hydrazino 体 (X) を得、(X) を亜硝酸で 3-azidopyridazine 1-oxide (XI) [mp. 155~6° (分解), IR:  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  2200  $\text{cm}^{-1}$ ] を単離したが、これら一連の反応により、(VII) の 3-位クロルの活性を吟味した。

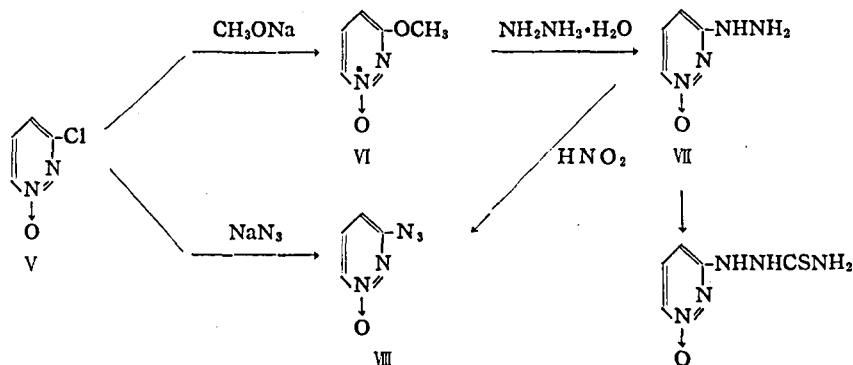
**Potential Anti-cancer Agents. X. Syntheses and Reactions of 3- and 6-Azidopyridazine 1-oxide.**

Takanobu ITAI, Shozo KAMIYA : *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 348(1963).

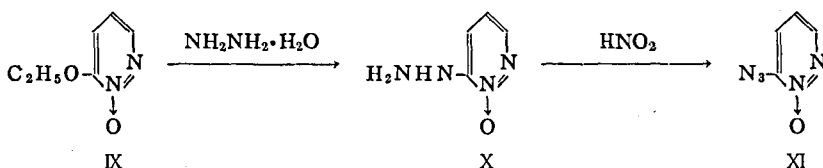
3,6-dichloropyridazine (I) と sodium azide を含水 ethanol 中で加熱すると、6-azidotetrazolo [1,5-b] pyridazine (II) を生成する。II の構造は 1) Pd 炭を触媒として接触還元すれば 6-aminotetrazolo [1,5-b]pyridazine (III) に、2) sodium alkoxide 類とでは 6-alkoxytetrazolo[1,5-b] pyridazine (IV) を生成することにより証明した。



3-azidopyridazine 1-oxide (VIII) は (V)→(VI)→(VII)→(VIII) および (V)→(VIII) のコースで合成した。



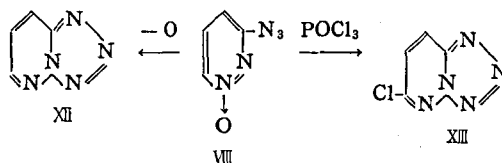
6-azidopyridazine 1-oxide (XI) は同様に 6-ethoxy-pyridazine 1-oxide (IX) より (X) を経て合成



(VIII) および (XI) について下記の反応を行なった。  
1) (VIII), (XI) を sodium alkoxide 類と処理すればそれぞれの alkoxy 体となる。

2) (VIII), (XI) を Pd 炭を触媒として接触還元すればそれぞれの aminopyridazine 1-oxide となる。

3) (VIII), (XI) を chloroform 中 phosphorus trichloride と加熱すれば脱酸素と閉環し tetrazolopyridazine (XII) となる。また (VIII) を phosphorus oxychloride と反応させると 6-chlorotetrazolo[1,5-b]pyridazine (XIII) となる。

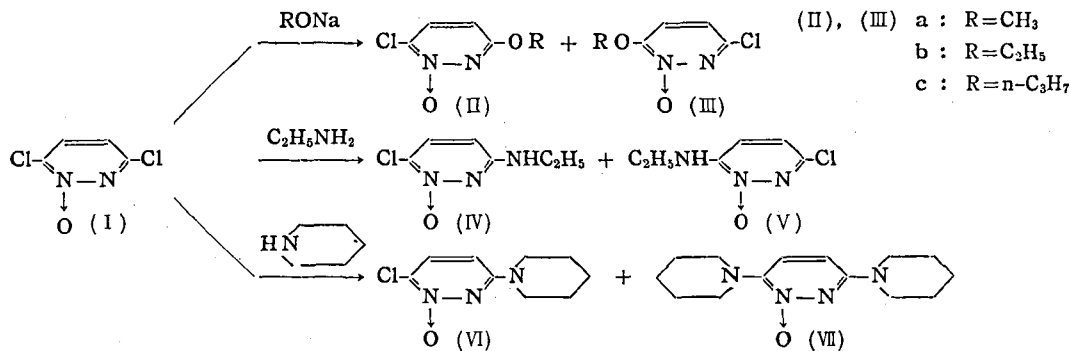


pyridazine 1-oxide における 3 位および 6 位 azido 基はいずれも ion 活性大である。しかるに radical 活性の点では明らかに 6 位 azido 基の方が活性で、3 位のそれは不活性であった。

**Syntheses of Pyridazine Derivatives. I. The Reactivity of Chlorine Atoms in 3- and 6-Positions of 3,6-Dichloropyridazine 1-oxide.**  
Shigeru SAKO: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 956 (1962).

2,6-dichloropyridazine 1-oxide (I) に 1 モルの

sodium alkoxide (methoxide, ethoxide, propoxide) あるいはアミン (エチルアミン, ピペリジン) を作用させると 3-置換体と 6-置換体が表に示される割合で得られる。



Reagents	3-Substituted product	Yield (%)	6-Substituted products	Yield (%)
CH <sub>3</sub> ONa	IIa	80	IIIa	7.5
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ONa	IIb	72	IIIb	11
C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ONa	IIc	57		
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	IV	54	V	14
Piperidine	VI	65	(3,6-dipiperidinopyridazine 1-oxide 11.5%)	

いずれの場合も 3-置換体の方が多く生成している。I は求核試薬に対して 3 位の Cl が 6 位の Cl より活性である。この結果は反応温度を高めても、また

エチルアミンとの反応でエタノール溶媒中の水の含量を変化しても変わらなかった。

これらの化合物の置換基の位置は前報で確認してある 3-alkoxy-6-chloropyridazine 1-oxide を標準とし、その誘導体に導いて決定した。

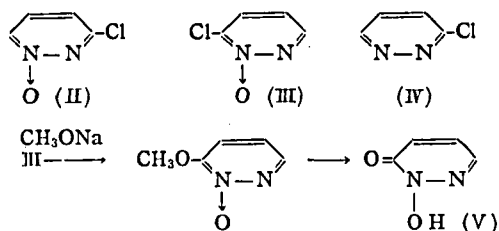
IIb および IV の 6 位の Cl も N-オキシドを持たない 3-ethoxy-6-chloropyridazine および 3-ethylamino-6-chloropyridazine のクロルよりは求核試薬に対して活性であり、N-オキシドの効果により α 位も活性化されていることがわかる。

### Syntheses of Pyridazine Derivatives. II. The Reactivity of Chlorine Atom in 3- or 6-Chloropyridazine 1-Oxide.

Shigeru SAKO: *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 261 (1963)

前報で 3, 6-dichloropyridazine 1-oxide (I) の二つのクロルのうち 3 位のクロルの方が活性であることがわかったので、今回は monochloropyridazine 1-oxide について 3 位と 6 位のクロルの活性を調べてみた。

3-chloropyridazine 1-oxide (II), 6-chloropyridazine 1-oxide (III) および 3-chloropyridazine (IV) に同じ条件下ナトリウムメトオキソドまたはエチルアミンを反応させ、反応物の得量を比較した。



求核試薬に対するクロルの活性は I の場合と異なり II と III では明らかな差は認められないが、II, III ともに IV より活性であった。

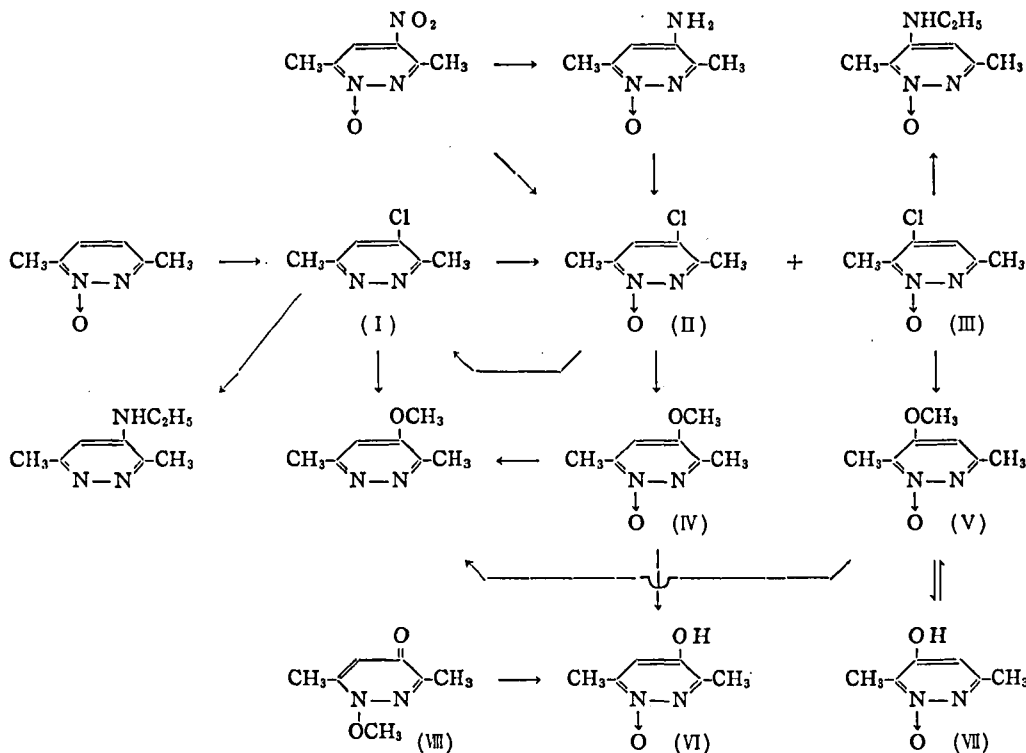
III より導かれた 6-hydroxypyridazine 1-oxide は UV および IR スペクトルより hydroxamic acid 構造, 2-hydroxy-3 (2H) pyridazinone (V), で存在することがわかるので、III のクロルの位置が 6 位 (dazine 1) であることが確認される。

### Syntheses of Pyridazine Derivatives. III.

#### 4- or 5-Chloro-3, 6-dimethylpyridazine 1-Oxide.

Shigeru SAKO: *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 337 (1963); 佐子 茂: 薬誌, 82, 1208 (1962) (速報)

今回は pyridazine 1-oxide の 4 位と 5 位の Cl の活性を検討する目的で、表記の化合物を合成した。3, 6-dimethylpyridazine 1-oxide を  $\text{POCl}_3$  と加熱すると 4-chloro-3, 6-dimethylpyridazine (I) を生じる。(I) をモノ過フタル酸で酸化すると mp 133° (II) と mp 127° (III) の二種の 4- or-5-chloro-3, 6-dimethylpyridazine 1-oxide が得られる。4-nitro-3, 6-dimethylpyridazine 1-oxide (未検討) に  $\text{AcCl}$  を反応させるか、あるいは還元してアミノ体とし、ジアゾ化して  $\text{C}_n$  粉を作用させて得られる Cl 体は II と一致する。II に  $\text{MeONa}$  を作用させて得られるメトキシ体 (IV) および III から得られるメトキシ体 (V) を  $\text{PCl}_5$  で脱オキソすると I から得られた 4-methoxy-3, 6-dimethylpyridazine と一致する。IV および V を 5%  $\text{NaOH}$  で加水分解して得られる



hydroxy 体 (VI), (VII) は MeI でメチル化したとき, 得量は悪いが, VII からは V が得られ, VI からは IV と異なるメトキシ体 (VIII) が得られる. VIII は UV スペクトルが 1-methoxy-4(1H)-pyridazinone と類似することから, 1-methoxy-3, 6-dimethyl-4(1H)-pyridazinone と考えられる. 以上の結果から II は 4-chloro-3, 6-dimethylpyridazine 1-oxide であり, III は 5-chloro-3, 6-dimethylpyridazine 1-oxide である. II を PCl<sub>5</sub> で処理すると I にもどる.

Cl 体と MeONa の反応では, MeOH 中 (Cl 体: 約 0.25 M, MeONa: 約 0.3 M) 19° で 2 時間反応させると, I は 55%, III は 80% のメトキシ体を与えるが, II からは 4 時間反応させて 61% もの原料を回収しメトキシ体は 20% しか得られない. また Cl 体と EtNH<sub>2</sub> の反応では, 封管中 EtOH 溶液 (約 0.3 M EtOH 溶液に約 7 当量の 70% EtNH<sub>2</sub> 水溶液を加える) を 130° に 6 時間加熱すると, I は 10.5%, III は 85% のエチルアミノ体を与えるが, II からは 150° に 6 時間反応させても原料を回収するのみである. I, II, III と求核試薬との反応においてはその Cl の活性の順序は III > I > II である.

#### On the Characterization of 4-Nitropyridazine 1-Oxide and the N-Oxidation of 4-Methoxypyridazines.

Takanobu ITAI, Sachiko NATSUME: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 643(1962) (Communications to the Editor).

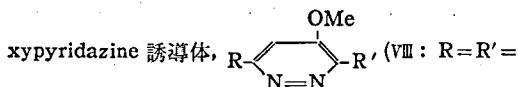
Pyridazine 1-oxide (I) を混酸中でニトロ化すると, 一種類のモノニトロ N- オキシド体 (II), (mp. 151°) を得るが, このニトロ体 (II) の構造決定のために次の反応を行なった.

4-Methoxy-3,6-dichloropyridazine (III) を過酸で処理すると, 二種類の N- オキシド体 (IV, mp 174~5° および V, mp 162.5~4°) のほかに, 4 (or 5)-methoxy-6-chloro-3(2H)-pyridazinone (VI) [mp 286° (decomp).] を得る. (IV) は sodium methoxide で処理すると構造既知の 3, 4, 6-trimethoxypyridazine 1-oxide を与えるから, 4-methoxy-3,6-dichloropyridazine 1-oxide である. この IV をパラジウム炭触媒でアルカリ性で接触還元して得た 4-methoxypyridazine 1-oxide (IX) (mp 124~124.5°) は, さきのニトロ化体 (IV) を sodium methoxide で処理して得た monomethoxy 体と全く一致する. したがって pyridazine 1-oxide の混酸によるニトロ化成績体は 4- ニトロ N- オキシド体であることが確定し

た.

一方, 4-methoxy-3,6-dichloropyridazine (III) よりのもう一方の N- オキシド体 (V) はしたがって 2- オキシド体であり, アルカリ性接触還元では, 4-methoxypyridazine 2-oxide (X) (mp 111°) を, 酸性接触還元では 4-methoxypyridazine (VII) を生成する.

また, (III) の N-oxide 化に関連して, 4-methoxy



H; XII: R=Cl, R'=OMe) の N- オキシド化を行ない (III) の場合と比較した. 4-methoxypyridazine (VII) の場合には 1-oxide 体 (IV) および 2-oxide 体 (V) をそれぞれ 11%, 8% の得量で生成し, ほかに 4(1H)-pyridazinone (XI) および 1-methyl-4(1H)-pyridazinone (XII) を副生するが, 3,4-dimethoxy-6-chloropyridazine (XIII) の場合には (III), (VIII) の場合と異なり, 選択的に 1-oxide 体 (mp 190°) のみを生ずることが判明した. これら化合物の構造は, それぞれ構造既知の化合物に誘導または直接比較して決定した.

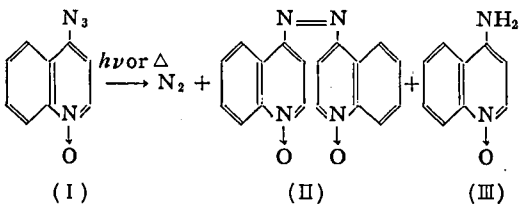
#### Azidoquinoline and Azidopyridine Derivatives. II. Reactions of 4-Azidoquinoline 1-Oxide. Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 471 (1962).

pyridine 1-oxide および quinoline 1-oxide の 4 位 azido 基は N-oxide 基の極性効果により活性大である. 4-Azidoquinoline 1-oxide (I) の反応は次のように 3 種に分類できる.

##### 1. Radical 反応

(I) は溶液中 熱により窒素ガスを放出して free radical を生成する. すなわち toluene 中の分解では主として radical の dimerization により 4,4'-azodiquinoline 1,1'-dioxide (II) を生成する.

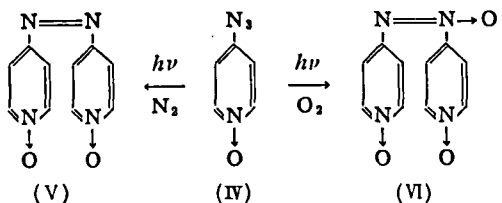
一方 xylene 中では (II) と radical の溶媒よりの水索引抜き反応により 4-aminoquinoline 1-oxide (III) を生成する.



(I) を溶液中, 日光により光分解すれば (III) を

生成する。4-azidoquinoline では回収する。

4-azidopyridine 1-oxide (IV) を benzene 溶液中窒素気流中で光分解すれば同様に 4,4'-azodipyridine 1,1'-dioxide (VI) となるが、酸素気流中では 4,4'-azoxydipyridine 1,1'-dioxide (VI) となる。

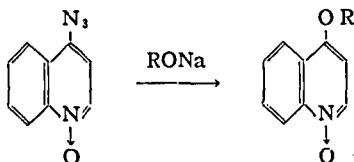


## 2. Addition 反応

(I) は sodium ethoxide の存在下, ethyl acetoacetate と反応して, きわめて低収率であるが triazolo 体が得られる。

## 3. Substitution 反応

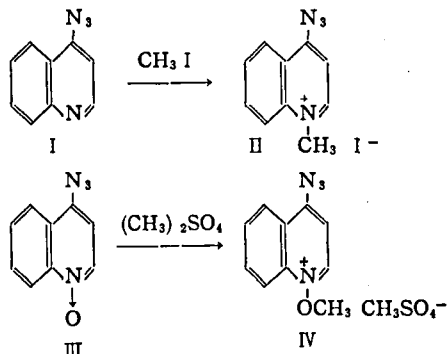
(I) は sodium alkoxide 類と容易に反応して定量的に 4-alkoxyquinoline 1-oxide となる。4-azidoquinoline では原料回収に終わる。



### Azidoquinoline and Azidopyridine Derivatives. IV. Reactions of Group in the Quaternary Salts of 4-Azidoquinoline, 4-Azidopyridine, and their 1-Oxides.

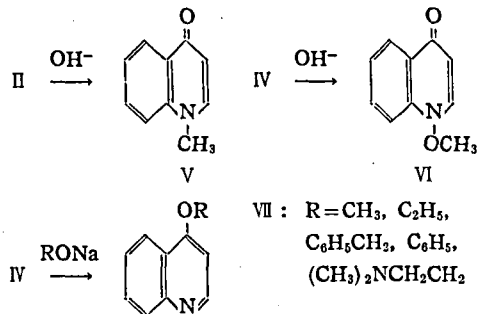
Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, 10, 669 (1962).

4-Azidoquinoline (I) を chloroform 中 methyl iodide で, また 4-Azidoquinoline 1-oxide (III) は同じ溶媒中 dimethyl sulfate で 4 級塩 (II), (IV) とし, (II) および (IV) の反応を検討した。

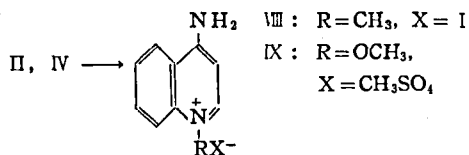


(II) および (IV) を 5% 水酸化ナトリウム液で処

理すれば, それぞれ N-methyl (or methoxy)-4(1H) quinolone (V, VI) となる。一方, (IV) を sodium alkoxide 類と処理すれば 4-Alkoxyquinoline (VII) となるが, (II) では (V) となる。



(II) および (IV) を sodium ethoxide の存在下, ethyl acetoacetate あるいは diethyl malonate と反応させると triazolo 閉環せず, それぞれ 4-Amino 体 (VIII, IX) となる。

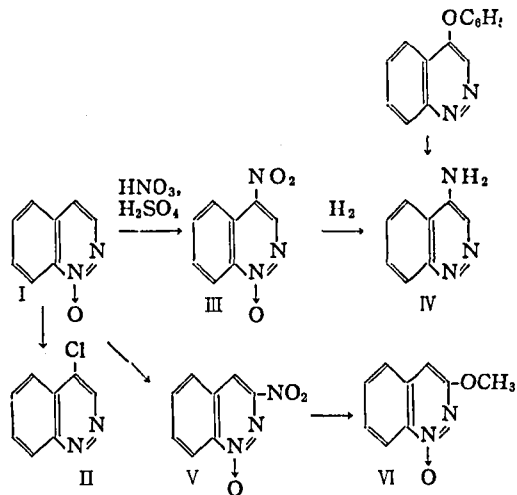


(VIII) および (IX) は (II), (IV) を Pd 炭を触媒として接触還元しても定量的に得られる。

### On Nitration of Cinnoline 1-oxide.

Ikuo SUZUKI, Toshiaki NAKASHIMA Takanobu ITAI: *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 268 (1963) (Communications to the Editor).

This paper deals with rearrangement reaction of cinnoline 1-oxide (I) with phosphoryl chloride and nitration of I with mixed acid and with benzoyl nitrate respectively.



On the treatment with phosphoryl chloride in chloroform at room temperature for 1 hour, cinnoline 1-oxide was converted into 4-chlorocinnoline (II), mp 76~77°, in 50% yield. This compound is also obtained by reaction of cinnolinol with phosphoryl chloride and it was identified by infrared spectra and mixed melting point.

Cinnoline 1-oxide gave a mononitro compound by treatment with mixed acid at 70° for 3 hours in 13% yield with 24% recovery of the starting material. At 10~15° for 5 hours, a mononitro cinnoline 1-oxide was obtained in 6% yield with 67% recovery of I. Catalytic hydrogenation of this mononitro derivative over Raney's nickel gave monoamino cinnoline, mp 208~209°, in 75% yield, which was found to be identical with 4-aminocinnoliné (IV) derived from 4-phenoxy-cinnoline and ammonium acetate by infrared spectra and mixed melting point, hence the structure of the mononitro derivative was confirmed to be 4-nitrocinnoline 1-oxide (III).

When I was treated with freshly prepared benzoyl nitrate in chloroform solution, a mononitro derivative was obtained as yellow needles, mp 214~215° in 71% yield. For proof of its structure, it was converted into a monomethoxycinnoline 1-oxide, mp 92.5~93.5°, by treatment with sodium methoxide in 95% yield. This compound was proved to be identical with 3-methoxycinnoline 1-oxide (VI) by comparing the infrared spectra. This fact has shown that cinnoline 1-oxide was nitrated with benzoyl nitrate to 3-position.

#### 薄層クロマトグラフィー

鈴木郁生：分析器機，1，33(1963)

薄層クロマトグラフィーの歴史，長所と短所，吸着剤，装置，薄層クロマトグラムの作り方，溶媒などに関する総説で，装置についてやや詳しく記してある。

#### 含水溶媒を用い遅延電極を使った直接微分滴定法によるハロゲンイオンの銀滴定

鹿島 哲：分析化学，11，831(1962)

含水溶媒を使ってハロゲンイオンの銀滴定を行なうときの有機溶媒（アルコール類）と水との混合割合が滴定に及ぼす影響を検討した。銀電極を指示電極とし，水溶液と含水溶液との間の大きな液間電位差の変動を避けるために，遅延電極を用いた直接微分滴定法

を使った。直接微分滴定には，スポイト電極に注射筒と三方ガラス管，または窒素ボンベと三方コックとを組合せた装置を考案し，在来の乳首を使ったスポイト電極を使う方法より迅速正確な測定を行なうことができた。

その結果，一般的にいて溶媒中の有機溶媒の含量が多いほど，また，溶媒の親水性が減るにつれて測定感度が向上するが，その反面，測定が困難不安定になることがわかった。80% イソプロパノールを溶媒として使うことによって，水のみを溶媒としたときより塩素イオンおよび臭素イオンの測定感度をそれぞれ7倍および3倍程度向上させることができたが，ヨウ素イオンのそれはあまり変化しなかった。

#### 含水溶媒を使った銀-ガラス電極を用いるハロゲンイオンの銀滴定—滴定中に試料液の溶媒組成を急に大きく変化させる分別滴定—

鹿島 哲：分析化学，11，835(1962)

含水溶媒を使い，無関係電解質としてフタル酸水素カリウム加えて，ハロゲンイオンを硝酸銀標準液で滴定するときの，使用する溶媒の種類（イソプロパノール，エチレングリコール，アセトンおよびジオキサン）とその含水量などの滴定におよぼす影響を，指示電極として銀線を，基準電極としてガラス電極を用いる電位差滴定で検討した。

硝酸銀標準液の溶媒としてイソプロパノールを使い，試料液の溶媒として含水アセトンあるいはイソプロパノールを使うことにより，溶媒として水のみを使ったときと比較して，塩素イオンの測定精度を4~10倍，臭素イオンのそれを2~3倍に向上させることができたが，ヨウ素イオンのそれはあまり向上しなかった。

2種のハロゲンイオンを含む試料を滴定するとき，まず，水のみを溶媒として一方のハロゲンイオンを滴定してから，多量のアセトンを加えて滴定を続けることにより残りのハロゲンイオンを滴定する方法を考案した。この方法により2種のハロゲン化銀の溶解度積の比を増大させることができるので，2種のハロゲンイオンを単一組成の溶媒を使う場合より正確にして精度のよい分別滴定を行なうことができた。

#### イオン交換樹脂を用いる芳香族第一アミン類の微量検出法

辻 章夫：日化誌，83，1203(1962)

イオン交換樹脂を発色担体とする芳香族第一アミン類の微量検出法をこころみた。[H]形強酸性陽イオン交換樹脂（Dowex 50 W-X1）数粒に換液中のアミ



ンを吸着濃縮させてから、4-ピリジルピリジニウム二塩酸試液から調製したグルタコンアルデヒド試液、または1,2-ナフトキノン-4-スルホン酸ナトリウム試液を発色試薬として作用させると樹脂粒は赤～橙色に呈色する。またジアゾ化しβナフトール試液を作用させるとアゾ色素となり樹脂粒は黄橙～赤色に呈色する。普通の点滴法にくらべてはるかに検出感度がすぐれている。

#### ニンヒドリンによるカルボン酸ヒドラジドの呈色反応

辻 章夫, 北条正躬: 分析化学, 11, 1255 (1962)

カルボン酸ヒドラジドはピリジン、アスコルビン酸の共存でニンヒドリンと反応して Ruhemann Purple を生成し、紫色に呈色する。呈色反応の中間体を合成し、その構造を推定した。また、呈色液中から酸アミドを分離確認し、α-アミノ酸のニンヒドリン反応と異なり、アスコルビン酸の存在が必要条件であることなどから本呈色反応の機構を推定した。

従来のイソニアジドの比色定量法はいずれも芳香族アミンの共存では利用できないが、本呈色反応を利用することにより、スルファミン剤との混合製剤中のイソニアジドを比色定量することができた。また、ヒドラジン類は本呈色反応に陰性であり、本呈色反応をカルボン酸ヒドラジドの選択的微量検出法として応用した。

#### 医薬品およびその類縁化合物のケイ光 (1)

##### o-ヒドロオキシカルボニル化合物のホウ素キレート

柴崎利雄: 分析化学, 12, 385 (1963)

芳香族 o-ヒドロオキシカルボニル化合物のホウ素キレートは濃硫酸中で生成しケイ光を発するが、著者は無水酢酸・氷酢酸溶液中について検討したところ十分な発ケイ光性を認めた。ケイ光強度の測定には試料液にできるだけ変化を与えないようなかつ持ち運びの便利なケイ光光度計を試作して用いた。全試料に適用できる発ケイ光条件は無水酢酸と氷酢酸の混合 (3ml + 7ml)、ホウ酸の量は 60mg/10ml で十分であった。安定性は 30 分以内に一定のケイ光量を示し、20~30 時間安定である。試料の中ニトロ化合物はケイ光を認めなかった。表に示すようにサリチル酸 0.008μg/ml、サリチル酸メチル 0.006μg/ml の微量検出が可能である。また、この二試料の紫外吸収およびケイ光スペ

クトルを測定したところ、鏡像関係にあり、スペクトルの型は振動構造を有しないものと思われる。

#### ナトリウムアルコラート溶液に溶かしたビタミン B<sub>1</sub> の酸化反応

笠原 閑: ビタミン, 25, 503 (1962)

塩酸チアミンのアルコール (エタノールまたはブタノール) 懸濁液に 2 モルの Na- アルコラートを作用させ遊離チアミンのアルコール溶液をつくり、この溶液に乾燥空気を通じチオクロム, thiamine disulfide を主産物とし、そのほかに少量の thiamine-thiazolone, thiothiamine, vitachrome, Rf 0.78 物質などに变化することを確認した。

つぎに上記遊離チアミン溶液に 1 モルの N-bromo-succinimide (NBS) を作用させチオクロムを、0.5 モルの NBS によっては thiamine disulfide をえた。一方アルカリ性水溶液からは 1 モルあるいは 0.5 モルの NBS によっても thiamine disulfide をえた。

以上の結果からアルコール溶液中の遊離チアミンが空気酸化されチオクロムに変化する経路は不安定な cyclic 型の sulfene 誘導体を経る閉環反応であろう。一方チオール型チアミンは sulfene 体に酸化されたのち thiamine disulfide に移行するというチアミンの空気酸化機構を提出した。

#### ベンゼン抽出法によるビタミン A の定量について

##### (1) 共同実験による各種製剤中のビタミン A の定量成績

中路幸男: ビタミン, 26, 417 (1962)

従来製剤中の VA の定量には日局 (E 法) 法が応用されているが、その操作が繁雑であることから、エーテルの代わりに一定量のベンゼンで抽出する方法 (B 法) が、簡単迅速に処理できるため、近年特に注目されてきた。

本法を実際に使用できるかどうか調べるため、5 種の製剤を用い、17 の試験室で E 法および B 法でそれぞれ定量し、その結果を比較検討した。その結果 B 法は油剤で 2%、粉末剤で 3~4%、更にゼリー剤では 5% も E 法に比較して高い定量値を示した。この事実、同時に行なった測定機についての誤差が僅少であったので、VA をベンゼンで抽出する際に、ベンゼンの一部がエタノール性カリ液・水の層に移行し、そのための VA 濃縮が起こったためであると予想される。

## ベンゼン抽出法によるビタミン A の定量について (II) 不けん化物抽出時におけるベンゼン溶液中 のビタミン A の濃縮

中路幸男：ビタミン，26，422(1962)

エタノール・ベンゼン・水からなる 2 相において、エタノール・水の層にベンゼンがどの程度移行するかについて、VA パルミテートのベンゼン溶液を用いて検討した。ベンゼン溶液を 50 ml とし、エタノール 20~50 ml および水を 10~150 ml に種々の割合の組み合わせで、それぞれ振盪したのち、ベンゼン層を水洗し、脱水したベンゼン溶液から VA の回収率を求めると、100~120% となり明らかにベンゼン中で VA の濃縮が起こったことを示した。また、前報における製剤を定量した際のろ液の容量比は油剤 20:50:20、粉末剤 50:50:100 であり、上記の実験から VA 回収率がそれぞれ 101% および 103% が得られ、製剤の場合とよく一致している。

そこで VA の濃縮を防ぐために、製剤の剤型に関係なく 3 液の比 20:50:60 (VA 回収率 100%) を用い、VA 定量を行なったところ、この改良法は日局法と一致する結果を得た。そこでこの方法は VA 定量に対する正確で、迅速簡便な新しい方法であることがわかった。

## オロツト酸の比色定量法 (I) *p*-Dimethyl aminobenzaldehyde 法の改良

足立 透：ビタミン，27，435(1963)；昭和 37 年度厚生科学研究報告

近年、市販の多くの製剤にオロツト酸 (OrA) が添加されるようになってきたのでその定量法を研究することが必要となった。著者は辻の *p*-Dimethylaminobenzaldehyde (*p*-DAB) による比色定量法を追試し、還元剤の種類と濃度など 2, 3 の点を改良して満足しうる結果を得た。この方法は OrA を臭素化し、還元剤としてアスコルビン酸 (AsA) を加えたのち *p*-DAB で発色させ 480 m $\mu$  における吸光度を測定するものである。なお 480 m $\mu$  付近に吸収を有する物質が共存するばあいには、*n*-酢酸ブチルで抽出し 458 m $\mu$  で測定する。この改良法を市販製剤に適用したところ満足な結果が得られた。

## オロツト酸の比色定量法 (II) 発色機構について

足立 透：ビタミン，27，438(1963)；昭和 37 年度厚生科学研究報告

OrA 比色定量法の発色機構について研究したところ臭素化により 5,5-Dibromobarbituric acid が得ら

れ、このものを AsA で還元すると脱臭素されて Barbituric acid になるものと思われる。この生じた Barbituric acid は活性メチレン基を有するため *p*-DAB と反応して *p*-Dimethylaminobenzylidene barbituric acid なるだいたい色の色素を生成するものと考えられる。

## *Saccharomyces cerevisiae* 菌浮遊液によるデスチオピオチンよりピオチンの生合成

新村寿夫，鈴木隆雄，佐橋佳一：ビタミン，26，38(1962)

*Sacch. cerevisiae* の菌浮遊液を用いてデスチオピオチン (DTB) よりピオチンの生合成を研究した。

1) 反応に使用する菌浮遊液の調製のためピオチン合成能を検討したところ、Suboptimal 量の DLDTB (20  $\mu$ g/dl) に培養した菌がもっともピオチン合成量が多く、1~3 日間培養菌では合成量は変わらなかったが、5 日間培養菌では合成量が低下する。

2) 菌浮遊液による DTB よりピオチン生合成にはイオウ源を加える必要はなく、菌体中に存するイオウ化合物が利用される。

3) 反応温度は 37° でピオチン合成がもっともよく行なわれ、30° および 20° では 67% および 22% に低下する。広い pH 範囲でピオチンを合成し、至適 pH は明らかでない。

4) 基質の DL-DTB 濃度  $2 \times 10^{-7}$  M でピオチン合成量が最大である。

5) 反応液中乾燥菌量 5~20 mg/10 ml の範囲ではピオチン合成量は菌量に応じて直線的に増加する。

6) ピオチンの生合成はブドウ糖の存在で顕著に促進され、無添加時の 4~10 倍に増加する。

7) 反応時間が 30 分および 1 時間では、静置で反応させた方が振盪したときよりピオチン合成量が大きい。

8) 合成されたピオチンは菌体内にのみ存在し、そのうち 13% が遊離型である。

## *Saccharomyces cerevisiae* 菌浮遊液によるデスチオピオチンよりピオチンの生合成 (II) ピオチン生合成における硫黄源

新村寿夫，鈴木隆雄，佐橋佳一：ビタミン，27，355(1963)

デスチオピオチン (DTB) の Suboptimal を含む培地で前培養した *Sacch. cerevisiae* の菌浮遊液、およびさらにイオウ欠乏培地に前培養をくりかえした菌浮遊液を用いて、DTB からのピオチン生合成に利用

されるイオウ源について研究し、メチオンが重要な役割を持つことを明らかにした。

1) ビオチンとイオウの欠乏菌浮遊液において、あらかじめイオウ化合物とブドウ糖で予温したのち DTB とブドウ糖を加えると、ビオチンをよく生合成するが、予温することなく、ブドウ糖、DTB およびイオウ化合物を加えて生合成を行なわせるとその生成は僅かである。

2) イオウ化合物の至適濃度は  $10^{-4} M$  である。

3) もっとも有効なイオウ化合物はメチオニンスルフォキサイドとメチオンで、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムおよび硫化ナトリウムでもビオチンをよく生成するが、システイン、シスチンおよびメチオニンスルフォンはわずかししかビオチンを生成しない。

4) 予温後 DTB を加えるとき、メチオンではブドウ糖を必ずしも加える必要はないが、硫酸ナトリウムではその必要を認めた。

5) ビオチン欠乏菌浮遊液によるビオチン生合成はメチオンにより阻害され、メチオンのみがそれを回復する。

### 3-Acetyl-4-hydroxycoumarin および Dehydroacetic Acid の抗菌作用機作 (第1報)

浮田忠之進, 江島 昭: 薬誌, 82, 1625, (1962)

同 上 (第2報)

江島 昭: 薬誌, 82, 1631, (1962)

3-Acetyl-4-hydroxycoumarin (AHC) および dehydroacetic acid (DHA) の乳酸菌および酵母に対する生長抑制作用を研究した。AHC は対数期と定常期を強く抑制し、誘導期に対しては影響を与えなかった。抑制効果は培地の pH が低い程強く、これらの  $pK'a$  すなわち AHC, 4.29; DHC, 5.12 の値から非解離型が解離型より抑制効果が強いと考えられる。培地中の種々のビタミン、アミノ酸および金属の量を増加した場合の抗菌作用におよぼす影響を調べた結果、ピリドキサミンを除いてはほとんど無関係であった。

ピリドキサミンは培地中の濃度  $4 \times 10^{-3} M$  において AHC,  $2.7 \times 10^{-3} M$  の抑制作用を弱めたが、その作用は僅か 10% であり、ピリドキサールは抑制回復作用を示さなかった。

アミノ酸は 19 種を試験したがほとんど回復作用なく、またヒスチジンと AHC との結合体の抗菌力を AHC のそれと比較した結果は AHC の方が強く、ヒスチジン-AHC 結合体を  $37^\circ$  に予温すると抗菌力が徐々に増大して行くことから、この結合体が培地中で徐々に解離して AHC を遊離し、これが抗菌力を現

わしたものと考えられる。Mg<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup>, Mn<sup>++</sup> は共に影響が見られなかった。

菌体の核酸と蛋白質の生合成、乳酸醗酵および呼吸に対する薬剤の抑制作用を比較したところ、*L. arabinosus* の核酸および蛋白質の合成抑制効果はほとんど同程度で、抑制が 50% 起こる濃度、AHC,  $2.5 \times 10^{-4} M$ ; DHA,  $3 \times 10^{-3} M$  では乳酸醗酵はむしろ促進がみられた (AHC, 7%; DHA, 2%)。また *Sacch. cerevisiae* に対しても同様の結果が得られた。すなわち、核酸および蛋白質の生合成作用は同程度に阻害されたが、これに比較して呼吸に対する抑制は甚だ弱かった。

これらの結果、AHC および DHA の生長抑制作用は異化過程によって得られるエネルギーを同化過程に利用することを妨げるところにあると考えた。そこで酸化反応に共軛したエネルギー産生反応、例えば酸化的磷酸化反応の阻害剤である 2, 4-dinitrophenol および AHC と同じく tricarbonylmethane 基を有する酸化的磷酸化反応非共軛剤のクロールテトラサイクリンについて同様の実験を行なって比較したところ、核酸と蛋白質の生合成、乳酸醗酵ならびに呼吸などに対する阻害像は AHC および DHA に基だ類似した結果が得られたので、この点からも AHC および DHA の抗微生物作用機作は酸化的磷酸化反応の阻害にあると推定した。

### グルコース転移によるウリジン・ニコリン酸・グルコースからのグルコシドの生合成

山羽 力: 日化誌, 83, 198 (1962)

大型フラクションコレクターを試作し、パン酵母から UDPG, UDPAG, GDPM を大量に分離精製し、UDPG をグルコシル供与体として、

(1) UDPG + ジフェノール  $\longrightarrow$  UDP + ジフェノール- $\beta$ -グルコシド

(2) UDPG + フェノール- $\beta$ -グルコシド  $\longrightarrow$  UDP + フェノール- $\beta$ -ゲンチオビオシドをそれぞれ触媒する二種類の酵素を小変胚芽から分離精製した。(1)の反応に関する酵素はジフェノール、トリフェノールに特異的に作用するが、モノフェノールには作用しない。(2)の反応に関する酵素は一般に、フェノールおよびその誘導体のグルコシドに作用する。その他両酵素の諸性質を調べた。

### $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase に関する 2, 3 の観察

朝比奈正人, 高橋昭江: 生化学, 35, 15 (1963)

$\beta$ -N-acetylglucosaminidase は N-acetylglucosamine の  $\beta$ -glycoside を加水分解する酵素で、種々の

動物組織のほか、エムルシン、タカジアスターゼ、カタツムリの消化腺中など、生物界に広く存在していることが知られている。

この酵素をリン酸カルシウムゲル吸着法や硫酸アンモニウム沈殿法などを用いてタカジアスターゼから部分的に精製した。また DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーによって  $\beta$ -glucosidase と分離した。

精製した酵素についてその性質を調べた。タカジアスターゼからのこの酵素の活性は基質 (phenyl- $\beta$ -N-acetylglucosaminide) の濃度が大きくなるといくらか減少する。卵白からのこの酵素やタカジアスターゼからの  $\beta$ -glucosidase ではこのようなことはない。もっとも高い活性を示す温度は 60° である。pH 8 以上ではいちじるしく不安定である。Ag<sup>+</sup> (0.001M), Hg<sup>2+</sup> (0.001M) でそれぞれ 100%, 43% 阻害される。この酵素は phenyl- または *p*-nitrophenyl- $\beta$ -N-acetylglucosaminide から、メチル-, エチル-, プロピル-, イソプロピル-, ブチル-, イソアミルアルコールなどへの糖転位作用がある。この酵素は aniline-N-acetylglucosaminide を分解せず、またこの酵素によるアニリンへの糖転位作用も認めることができなかった。

#### 多糖類製剤の物理化学的および化学的分析法の研究

長沢佳熊, 朝比奈正人, 山羽 力, 木村俊夫,

高橋昭江: 昭和 36 年度厚生科学研究報告

(1) 医薬品に関係のある多糖類の旋光分散が、それらの起源、純度、および生物活性の差異を知る一手段として役立つかどうかを検討する目的で、種々の条件下にこれらの多糖類の旋光分散を測定した。ここでとりあげた多糖類はコンドロイチン硫酸 (ウシ, クジラ, サメ), ヘパリン (ウシ, クジラ), ヒアルロン酸, アミロース, デキストランである。これらの旋光分散曲

線はいずれも単純曲線であったが、コンドロイチン硫酸の場合、旋光度の絶対値は哺乳動物 (ウシ, クジラ) の方が魚類 (サメ) より大きい傾向にあった。コンドロイチン硫酸とヒアルロン酸の旋光度は、酸性にすることおよび尿素の添加により減少した。酸性による影響は可逆的でかつ pH 2 以下では平衡に達したが、尿素による影響は尿素量の増加に比例した。

(2) コンドロイチン硫酸 (ウシ, クジラ, サメ) およびヘパリン (ウシ, クジラ) の赤外線吸収スペクトルをとり、それぞれの特長を比較した。その吸収帯の比較からウシ, クジラはコンドロイチン A に、サメはコンドロイチン C に相当することを確認した。またヘパリンの場合はウシとクジラでの差異は認められなかった。

(3) ヘパリンとプロタミンの結合については既に報告した [衛生試験, 80, 15(1962)]

#### アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (ABS) による酵素阻害試験

山羽 力, 高橋昭江: ABS 研究成績, 厚生省環境衛生局食品衛生課 (昭和 37 年 10 月)

ABS, 粉石けん, ステアリン酸ナトリウムによるパンクレアチン (たん白消化力, でん粉消化力, 脂肪消化力) およびペプシン (たん白消化力) の阻害試験の結果を総合すると、

(1) ABS によるこれら酵素の阻害の特長は、その阻害曲線 (阻害剤の濃度を横軸にとり、阻害度を縦軸にとる) が、ABS の比較的低濃度のところで急激に立って、ほとんど完全阻害近くになってしまうことである。一方粉石けんやステアリン酸ナトリウムは、その濃度の増加にしたがって徐々に阻害がおり、ある場合には阻害度が 20% 前後でとまってしまう。

(2) ABS のようなアニオン活性剤は酵素たん白と

酵 素	A B S			粉 石 け ん			ステアリン酸ナトリウム		
	10%阻害を起させる濃度	最 高 阻害度	最高阻害を起させる必要最小濃度	10%阻害を起させる濃度	最 高 阻害度	最高阻害を起させる必要最小濃度	10%阻害を起させる濃度	最 高 阻害度	最高阻害を起させる必要最小濃度
たん白消化酵素 (パンクレアチン)	0.005	80	0.5	0.08	20	0.5	0.1	15*	0.2
たん白消化酵素 { pH 2.6 (ペプシン) } { pH 6.0	0.012	95	0.1	—	—	—	—	—	—
	0.060	73*	0.5	0.21	65*	0.5	0.13	50*	0.5
でんぷん消化酵素 (パンクレアチン)	0.005	95	0.05	0.02	95	1.0	0.13	16*	0.2
脂肪消化酵素 (パンクレアチン)	0.012	100	0.5	0.06	99	1.0	0.05	86*	0.5

\* これ以上の濃度の阻害剤を用いれば、さらに最高阻害度は大きくなると思われる。

イオンの結合することによりその酵素活性を阻害すると思われるが、その程度も反応時の pH, 共存物質などによりかなり左右される。そこで同一条件下でそれら阻害剤による前記酵素の阻害のようすを比較すると次表のようになる。

一般的に ABS は、粉石けんやステアリン酸ナトリウムに比して、これらの酵素に対して数倍から 20 倍うすい濃度で阻害するが、共存する基質、混在たん白質、カチオン性の物質と非特異的に結合するため、実際にははるかにその阻害は低くなる。たとえば、あらかじめ基質と ABS を混合しておいてから酵素を加えれば、直接 ABS と酵素を接触させた場合よりはるかに高濃度の ABS でもたいした阻害を与えない。

#### Effets physiologiques de la tombozine, alcaloïde du *Diplorrhynchus mossambicensis*-Benth-Apocynacees.

A. QUEVAUVILLER, Y. TAKENAKA : *Jour. de Physiologie de la France*, 54, 403 (1962).

1961 年 Stauffacher は熱帯アフリカ産キョウチクトウ科植物 *Diplorrhynchus Condylorcarpon s. sp. mossambicensis* から yohimbine,  $\beta$ -yohimbine, condylorcarpine, nor-fluorourarine, tombozine および mossambine を単離した。1961 年 Goutarel らはほとんど同時に上記の 2 アルカロイドを得て化学構造を研究したところ、インドール核を含むアルカロイドであることが判明した。

われわれはこの tombozine 塩酸塩について生理作用を研究した。

マウスを用いての静脈注射による LD<sub>50</sub> は 70mg/kg (塩基として)、最大耐量は 40~50 mg/kg, また最小致死量は 80~100 mg/kg で、動物はけいれんを起したのち呼吸停止によって死亡する。

クロラローズ麻酔した猫の股静脈から 10 mg/kg を注射するとき、30 分間持続する低血圧作用がみられ、同時に向心筋性の効果がみられた。

自律神経系の領域においては、中枢性の高血圧作用は阻止されるかまたは減退させられ、10  $\mu$ g/kg の adrenaline による高血圧作用は常に逆転される。10  $\mu$ g/kg の nor-adrenaline による高血圧作用は常に減退させられ、あるときは作用の初期に逆転される。acetylcholine (10  $\mu$ g/kg) による低血圧作用には変化がみられない。1 mg/kg の atropine を投与したのち 500  $\mu$ g/kg の acetylcholine を与えて得られるニコチン性効果は逆転される。瞬膜の収縮には変化がみられなかった。家兎の耳を用いての実験から、tombozine は

50  $\mu$ g で血管を拡張させ、また adrenaline の血管収縮作用を消失させる。

中枢神経系の領域では、tombozine は procaine の約 2 倍の局所麻酔作用をもつが、morphine で呼吸を抑制させた家兎に対して中枢興奮作用を示さない。バルビツール酸による催眠状態は 30 mg/kg の tombozine によっても強化されず、したがって本アルカロイドはトランキライザー作用をもたないと考えられ、このことは Julou-Courvoisier 試験法で確認された。

tombozine は 10<sup>-5</sup> で腸管の平滑筋を収縮させる。

これらの結果から tombozine は非トランキライザー性交感神経まひ性アルカロイドのグループに属し、その生理作用は yohimbine に類似する。

#### Sur la pharmacodynamie de la rauvanine, nouvel alcaloïde du *Rauwolfia vomitoria* apocynacees.

A. QUEVAUVILLER, O. BLANPIN, Y. TAKENAKA : *Ann. Pharmaceutiques francaises* 21, No. 5 399~404, (1963).

夾竹桃科植物のアルカロイド rauvanine の生理作用を調べたところ、低血圧作用およびわずかな鎮静作用を示したが、交感神経まひ作用、抗プリンメルン作用およびかいよう発現作用はみられず、生理作用の点からは raumitorine (rauvanine はこれの 10-methoxy 誘導体) に類似しているが、その立体異性体 reserpiline, isoreserpiline とは異なり、また  $\delta$ -yohimbine (ajmalicine, raubasine) と異なることが判明した。

#### Effect of dietary cholesterol on its biosynthesis in parabiotic rats.

Yoshihito OMORI, Ervin SCHWENK : *Endocrinol. Japon.*, 9, 268 (1962)

The experiments revealed that in parabiotic rats cholesterol which was fed to one of the partners was carried evidently by the blood stream to the companion. When both partners were fed cholesterol an even distribution of this substance was found and both animals of the pair showed the known effect of cholesterol feeding on the incorporation of radioactivity from injected acetate-1-<sup>14</sup>C, in a considerably decreased incorporation of radioactivity into the newly synthesized cholesterol of the liver. In other tissues however there were much less incorporation of

the label into this substance. The experiment suggests that if there is any extrahepatic biosynthesis of cholesterol in intact animal, it may be of quite minor importance in the total picture.

Even an amount of cholesterol which does not visibly increase the deposition of this material in the liver has a very definite depressing effect on the incorporation of  $^{14}\text{C}$  from acetate- $1-^{14}\text{C}$  into liver cholesterol.

#### Japanese laws and regulations concerned with pesticide and food-additive residues in food-stuffs.

Ikuro Suzuki: Residue Reviews, 4, 9(1963).

There is no law in Japan concerned with tolerances for residues of pesticides and food additives on and in foodstuffs. However, there is the Food Sanitation Law, which prohibits use and sale of hazardous foods and food additives. The majority of pesticides are considered to be poisonous and deleterious chemicals and as such they are enumerated in a list attached to the Law for the Control of Poisonous and Powerful Agents. Particularly, methods of use and intervals between last application and harvest are regulated for several pesticides listed there as Specified Poisonous Agents by notifications from prefectural governors under authority of the Minister of Agriculture and Forestry and the Minister of Health and Welfare.

The number of food additives is increasing year after year. To assure maintenance of good qualities in foods the Japanese Official Standards of Food Additives was issued in 1960 as the first such standard in the world. These standards regulate the quality and assay of 230 substances. Problems of tolerances for pesticide residues on and in food are now under careful consideration in the Ministry of Health and Welfare, and in the near future a law concerned with tolerances will be issued.

#### 野菜、果実中の中性洗剤の残留について

川城 巖, 岡田太郎, 辰濃 隆: 食衛誌, 3, 392 (1962)

野菜、果実などを中性洗剤の主剤、アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (ABS) を用いて一定条件で

洗浄し、これを水洗したのち残留している ABS を化学的および  $\text{S}^{35}$  でラベルした ABS を用いる放射化学的方法で定量した。

#### 1. 化学的方法

ABS の定量法としてはメチレンブルー法、パラトルイジン法、その他赤外線吸収スペクトル分析による方法などがあり、上下水中に含まれている ABS については種々調査がなされている。しかし野菜、果実中の定量法についてはあまり報告はみられない。

著者らは最初 Jones 法を参考として ABS の定量を行なったところ、この方法は食品の複雑な組成や含有成分によって妨害を受けやすいことがわかった。

それゆえ野菜中に存在するクロロフィルなどの妨害を除くため、まず抽出の際酸処理を行ないこれらできるだけ分解すること、次に石油エーテル抽出によって野菜中の油分やなお残留するクロロフィルを除くこと、第三にこれでも除去し切れない微量のクロロフィルや無機塩をアルカリ性で抽出する Longwell & Maniece 法を採用すること、などの改良を行なって次のような定量法を考案した。

野菜を細切りし、塩酸含有のアルコールにて抽出し、アルコールを留去したのち残留物を pH 10 に調節し濾過する。濾液を石油エーテルで抽出したのち一定量とし、これを分液ロートにとり Longwell & Maniece 法にて定量する。

この方法で定量した結果、野菜中の ABS の残留量はキャベツでは 0.05% ABS 溶液に 1, 2, 5 分間浸漬したとき、20.5, 24.5, 40.5 ppm 程度の ABS が残留し、例えば 1 回水で洗浄すると 4.0, 5.0, 7.0 ppm に減少した。

またイチゴなどの場合には同様の液に 10 秒、1 分、5 分間浸漬したのち 3 回水洗したとき、0.8, 1.3, 2.1 ppm と ABS が残っていることがわかった。残留量が少ないのは野菜に比較して単位重量当りの表面積が小さいためと思われる。

#### 2. 放射化学的方法

$\text{S}^{35}$  でラベルした ABS を用い残留量を測定した。

野菜 10 g をとり  $\text{ABS}^{35}$  含有の 300 ml の 0.1, 0.05% の ABS 溶液に浸漬し、一定時間後引上げ留水で洗浄した。その後赤外線乾燥器にて乾燥粉末とし、その一定量を用いてカウント数を測定し ABS の量を求めた。その結果ホーレン草中 ABS の残留量は次のようであった。

1, 5, 10, 30 分間 0.05% ABS 溶液に浸漬したのち、例えば 1 回水洗したものは 3.7, 7.0, 7.7, 11.7 ppm 程度の ABS が残っていることがわかった。

## 容器、包装の衛生試験

岡田太郎：食衛誌，3，254(1962)

食品の容器，包装材料としては古くから金属，陶磁器および紙などが用いられているが，最近合成樹脂が相当使用されるようになり，衛生上の問題も多少みられるようになった。食品の容器，包装材料としては熱硬化性樹脂ではフェノール樹脂，尿素樹脂，メラミン樹脂，熱可塑性樹脂ではポリエチレン，スチロール，塩化ビニールなどである。

熱可塑性樹脂については薬学会協定衛生試験法により温度 25°~100°，時間 10~360 分にわたって水，4% 酢酸など 10 種類の液を用い試験を行なった。

その結果フェノール樹脂では 4% 酢酸で浸出した場合，フェノール，ホルマリンの溶出も少なかった。しかし尿素樹脂では他の樹脂に比較して非常に多量のホルマリンの溶出がみられ衛生的にも好ましいものではない。これに対してメラミン樹脂では耐酸性がフェノール樹脂には劣るが，高温の場合でもホルマリンの溶出はあまり認められず，尿素樹脂の代わりに使用することが望ましい。

熱可塑性樹脂についても同様の試験を行なったが，酸性溶液による分解も少なく，浸出液中の蒸発残留物，KMnO<sub>4</sub> 消費量も一般に少量であった。

ポリエチレンではエーテル抽出物が多少認められたが，これは不純物および添加物によるものであることがわかった。またスチロールでは通常スチレン単量体など不純物が 0.2~0.8% 含まれており，これらはアルコール溶出物として求められる。

塩化ビニールでは可塑剤，安定剤などが添加されており，その組成はいろいろのものがある。そして可塑剤の添加量は 30% 以上にも達するものがある。

これら可塑剤中には衛生上有害なものも含まれており，最近食品用には無可塑塩ビがよく使用されるようになった。無可塑塩ビも安定剤として現在多少とも毒性のある有機スズ化合物を用いているので脂肪食品に用いるときは注意することが必要である。

## 食品添加物の分析について (第2報) I. 防腐剤 B

川城 巖，細貝祐太郎：食衛誌，3，No. 2，182 (1962)

前報に引続き安息香酸，サリチル酸，バラオキシン安息香酸エステル類など法定防腐剤の食品中からの分離，定性，定量などについて記した総説。文献 107

## 食品添加物の分析について (第3報) II. 抗酸化剤

川城 巖，細貝祐太郎：食衛誌，3，No. 3，297

(1962)

現在，わが国で許可されている抗酸化剤の性状，18 カ国における許可抗酸化剤の使用基準，赤外，紫外，ガスクロマトグラフィー，ろ紙クロマトグラフィー，定量法など食品中からの分析法総説。文献 86，表 3。図 1。

## 食品添加物の分析について (第4報) III. 人工甘味料 IV. 漂白料

川城 巖，細貝祐太郎：食衛誌，3，No. 4，402 (1962)

シクロヘキシルスルファミン酸ナトリウムなどの人工甘味料と過酸化ベンゾイルおよび亜硫酸塩類などの漂白料について，食品中からの分析法，諸外国での使用基準などを記した総説。文献 III. 68，IV. 58，表 1。

## ABS の除去方法ならびに 砂ろ過層内浸透力に関する研究

市川重春，山手 昇：中性洗剤特別研究報告 (各論 4)，科学技術庁，昭和 38 年 3 月

## 除去法

活性炭，アニオン交換樹脂，その他の吸着剤および凝集剤による ABS の処理法を検討した。

1. 活性炭 活性炭は ABS の吸着に強力な選択性を示した。JIS 規格メチレンブルー脱色率の良好な活性炭は ABS の吸着も良好であった。1g の粉末炭および破砕炭の ABS 吸着量はそれぞれ 550 mg および 375 mg であった。ABS の吸着量は温度，pH および吸着時間などによって影響をうける。吸着時間 60 分，温度 28~30°，pH 6.1 の条件において，2~10 ppm の ABS を 95% 除去するに必要な活性炭量は ABS 濃度の 10 倍量であった。カラム法による連続試験の除去率は，10g の破砕炭は 10 ppm ABS 溶液 100 L 処理後において 100%，300 L 処理後においてなお 77% を示した。

2. アニオン交換樹脂 強塩基性，多孔性の大きい Amberlite IRA-402 が最も ABS の吸着が良好で，吸着量は g 当り 967 mg を示し，活性炭の 2 倍であった。カラム法による連続試験の除去率は 10g の IRA-402 は 10 ppm ABS 溶液 65 L 処理後において 100%，300 L 処理後においてなお 87% を示した。樹脂のコストの高い点，再生に有機溶媒を使用する点などから，処理費が高つくので，実用性は活性炭におとるものと考えられる。

3. その他の吸着剤による処理 15 種類の中で比較的有效なものには酸性白土と木炭末であった。この

程度の吸着力では実用性に乏しい。

4. 凝集剤による処理 硫酸アルミニウム、硫酸第二鉄はほとんど効果がない。若干の効果を示した硫酸第一鉄は添加量が多く、 $Fe^{2+}$  が処理水に残る欠点があるので実用性に乏しい。

#### 砂ろ過層内浸透力

蒸留水、10, 100 および 1,000 ppm の ABS 溶液を各種土粒子カラム (砂 3, 土 2, カラムの長さ 104 cm, 径 6 cm) を通し、透水係数を測定した結果、蒸留水の透水係数が最も大きく、ABS 濃度が高くなるにしたがい小さくなった。透水係数が小さいことは水の透りが悪いことを示すから、ABS を含む水を地面に流した場合の透水性は含まない水より減少し、減少率は高濃度の ABS 溶液ほど高い。また透水の際、土はかなりの ABS を吸着する。ABS 10 ppm, 100 ppm および 1,000 ppm 溶液に対する土 100 g の ABS 吸着量はそれぞれ 3~5 mg, 27~43 mg および 350~650 mg であった。土層 (赤土 1 kg, カラ層 45 cm) の ABS 吸着試験において、ABS 10 ppm, 100 ppm および 1,000 ppm 溶液各々 19 L 流出後における吸着率はそれぞれ 8%, 37%, および 62% であった。

本要旨は第 16 回日本薬学会 (昭和 38 年 4 月) において講演した。

#### 火災時における空気成分の変化

山手 昇: 日本火災学会誌, 火災 Vol. 12, No. 4 (1962)

昭和 37 年 3 月 5 日 日本住宅公団赤羽団地における耐火建築アパート (5 階建) 火災実験に参加し、空気成分の変化を測定し若干の知見をえた。火災空気は 2 階の火災室 5 点 (6 帖は中央床上, 床上 1.5 m, 天井下の 3 点, 4.5 帖および台所は中央床上 1.5 m の各 1 点), 階段室 2 点 (2 階および 3 階階段室天井下) の計 7 点に鉄管を導き、点火後 5 分間隔で捕集し、全試料は検知管で一酸化炭素と炭酸ガスを測定し、さらに 6 帖中央床上 1.5 m の試料はガスクロマトグラフで成分組成を測定した。一般に火災空気の変化は点火 25 分と 30 分に大きなピークが見られた。組成は 10~15 分にかけて著しく変化し、25 分で最高値を示し、30 分で若干減少し、35 分で再び増加し、以後徐々に減少し、注水により若干増加した。これらの変化は火災の進行状況とよく一致がみられた。

1. 火災空気はおもに窒素, 酸素, 炭酸ガス, 一酸化炭素, 水素, メタンおよび重炭化水素から成り, 成分の割合は火災の進行状況によって変動する。この実験では点火 25 分後にもっとも著明な空気成分の変化

を示した。このときの組成は窒素 70.49%, 酸素 2.27%, 炭酸ガス 15.00%, 一酸化炭素 5.61%, 水素 3.65%, メタン 1.90%, 重炭化水素 (13 種) 0.69% であった。

2. 火災室は点火後 15 分間は安全であるが 15 分以後は危険である。観察によるこの限界はフスマに着炎, 火災天井に達するころであった。

3. 2 階階段 (火災戸階段) は火災室と同様, 点火後 10~15 分以後は使用できない。

4. 3 階階段 (火災戸上階段) は火災中使用できる。ただし煙の少ない (視界のきく限度), 耐熱限度内の時期において呼吸量を少なくして早く通過する場合。

5. 火災中玄関ドアは閉鎖すべきである。そのことにより 3, 4 の心配は解消でき, 階段は避難に利用できる。

6. バルコニーは避難などに最適である。火災のときは隣戸に行けるように仕切板のとりつけにくふうを要する。

本要旨は日本火災学会 昭和 37 年度春季学術大会 (第 21 回) において講演した。

#### *Microascus* Species new to the Mycoflora of Japan.

Shun-ichi UDAGAWA: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 8, 39 (1962).

*Microascus* 属は 1885 年に Zukal が設定した子のう菌で, Barron ら (1961) が報告するまで総合的な分類研究は行なわれていなかった。筆者が研究に着手した 1958 年当時は未だ Barron らの研究もなく, また東洋からの本属分離は皆無の状態であった。その系統学上の位置は, 子のうの発生の観察を根拠とすれば *Plectomycetes* と考えられるが, 一方子のうの性質は典型的な *Pyrenomycetes* の特徴である。最近では *Ophiostoma* と併せて *Microascales* 目を独立させているが, いずれにしても *Plectomycetes* と *Pyrenomycetes* との中間的な性格を有することは事実で, これらの属が *Pyrenomycetes* の原始形と考えられる点で興味もたれている。

14 種, 1 変種あり, その生態は糞, 土壌, 植物体, 種子などにみられるが, 特に社会生活上で問題とされるのは, 貯蔵穀類にしばしば認められ, とりわけ *M. trigonosporus* が大麦の発芽を著しく害すること, 人間の病原菌として中南米において *M. cinereus*, *M. trigonosporus*, *M. manginii* が皮膚病の疾患部から分離されていることであろう。後者の点では, 本属の



不完全時代である *Scopulariopsis* 属と共通している。上記のようにすべて欧米でのみ採集されていたが、近年になりアジアの各処、すなわちイスラエル、インド、マリアナ諸島などから分離されるようになった。また南米でも空気中から得られている。したがって、本属は余り数は多くはないが世界各地に広く分布すると考えられる。タイプ種は *M. longirostris* Zukal.

著者は輸入米および小麦粉から次の3種4株を分離し、海外の研究機関から分譲された6種10株とともに比較研究を行なった。*M. trigonosporus* Emmons et Dodge, *M. cirrosus* Curzi, *M. cinereus* (Emile-Weil et Gaudin) Curzi. これらの種の記載を本邦未知種としてあたえたほか、子のう胞子の形態、大きさをもって本属の種を分類するのが最も妥当であることを認め種の検索表を提出した。また、本属のうち *Scopulariopsis* 属の不完全時代を有する菌は biological methylation の性質を示し、培地中に arsenous oxide を加えれば trimethylarsine を生ずる。

#### (一)-Sclerotiorin, A Major Metabolite of *Penicillium hirayamae* Udagawa.

Shun-ichi UDAGAWA: *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 366 (1963).

*Penicillium sclerotiorum* v. Beyma など Monoverticillata に属する数種の青かびから分離されている黄色色素 sclerotiorin,  $C_{21}H_{23}O_5Cl$ , m. p. 206~207°,  $[\alpha]_D^{25} + 493^\circ$  は, *Monascus* 属から得られた一連の代謝物質とともに化学的には azaphilones と称せられる菌類色素として知られている。これまで得られた sclerotiorin はすべて右旋性であったが、著者のかつて発表した一新種 *P. hirayamae* Udagawa の代謝物質を研究したところ (一)-sclerotiorin の存在を認めた。その化学的諸性質を *P. multicolor* G.-M. et P. から得られた (+)-sclerotiorin と比較した結果、(一)-sclerotiorin が m. p. 203~204°,  $[\alpha]_D^{25} - 482^\circ$  であることを除けば UV および IR (Nujol,  $CHCl_3$ ) など全く一致し、また両者を混融した結果は 170~174° に融点降下を示した。さらに(一)-sclerotioramine に導いて同様の結果を確認した。上記(一)-sclerotiorin と同時に azaphilones 化合物の一種として  $C_{21}H_{21-23}O_5Cl$ , m. p. 172°, 文献未記載の赤色針状結晶の色素を分離して rubrotiorin と名付けた。

本物質は試料少量のため今回は精査することができなかった。

#### Metabolic Products of Fungi. XIX. Isolation of Rugulosin from *Penicillium brunneum* Udagawa.

Shoji SHIBATA, Shun-ichi UDAGAWA: *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 402 (1963).

菌類シアントラキノン類の1種、rugulosin は skyrin とともに *Penicillium* 属の Biverticillata Symmetrica section に属する数種の菌からしばしば分離されている。著者の一人が発表した新種 *P. brunneum* (*P. funiculosum* series に所属し褐色の分生胞子を形成する) から skyrin, emodin とともに rugulosin が多量に生産されることを明らかにした。

#### *Carpenteles brefeldianum* and *Myxotrichum chartarum*, Two Japanese Records.

Shun-ichi UDAGAWA: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, **IV**, 11 (1962).

山形県の土壌から分離された *Carpenteles brefeldianum* (Dodge) Shear と、東京都の兔糞から分離された *Myxotrichum chartarum* (Nees) Kunze について記載した。両種とも Eurotiales 目に属する子のう菌で本邦では未記録のものである。前者はブラジル、ニカラガ、南アフリカ連邦、エジプトなどの土壌から分離された報告があり、土壌に広く存在するようである。子のう果は麦芽寒天培地上でよく形成される。不完全時代は *Penicillium javanicum* series に属する。後者は *Myxotrichum* 属の最も代表的な種で、欧州各地、北米に分布し、繊維質の材料、皮、糞、土壌から分離されている。子のう果形成に関しては、セルロース寒天培地が比較的よい結果をおさめた。生育はきわめて遅く 2~3 カ月を要する。

#### 菌類代謝物質がもつ系統上の意義について

宇田川俊一：日本菌学会報, **III**, 92 (1962)

菌学の立場から有機化学の領域で集積された菌類代謝物質に関する業績を整理した結果、これらの代謝物質が菌学上の系統と関連性のあることを認めた。この関係を考察することにより、分類上の位置から菌類の未知代謝物質発見の手がかりを得ることができると同時に、産生物質の面からは菌類の系統的由来を実証することが可能となる。主として次の各項に分けて説明した。菌類代謝の特徴、代謝物質の類別化、子のう菌類・担子菌類の系統との関連性、代謝物質研究への応用。

最近の生合成研究の結果から、菌類代謝物質の分類に際しては化学構造上の類似性よりもその生成経路の

共通性を重視しなければならぬことが明らかとなってきた。このような観点で従来の総説にみられる代謝物質の分類をまず再編成した。これに基づいて 35 項目に細分された代謝物質のグループと子のう菌類・担子菌類の菌類各目との相互関係を追及した結果つぎのような関連性を主として認めた。

テトロン酸類は lower Ascomycetes に分布しているが、地衣成分としても発見されているので、今後 Sphaeriales, Helotiales などのより高等な菌類にも認められるであろう。ポリアセチレン類は高等菌類から分離されている。7 員環化合物は少数ながら、トロポロン誘導体が Eurotiales から、アズレン誘導体が Agaricales からそれぞれ得られている。フェノール類はその生成経路からみても複雑でいくつかの組み合わせによる場合も少なくないが、一般的にいて単環性フェノール類では酢酸由来のものが比較的 Eurotiales に多く、シキミ酸経路のものが担子菌類にしばしばみられる。このことはシキミ酸経路と考えられるテルフェニールキノンがまったく担子菌類にのみ見いだされていることと共通するところがあって興味深い。アントラキノン色素は普遍的に存在し、地衣類からも多数発見されているが、担子菌類からは余り分離されていない。含窒素ヘテロ環状化合物としては高等菌類の毒素、麦角アルカロイドなどが特色のある代謝物質である。また担子菌類から多数のトリテルペノイドが分離されていることも見逃がせない。代謝物質研究への応用としては *Penicillium* 属についてその可能性を確めた。なお今後の期待性についても言及した。

#### 貯蔵穀類の変質と菌類

宇田川俊一：醸酵協会誌, 20, 127(1962)

菌類による貯蔵穀類の変質現象については古くから研究されているが、この問題が重要なものとして深い関心をもたれるようになったのは極く最近のことである。日本では戦後の食糧不足の対策として、輸入された食糧の品質が食品衛生上問題となったことが、この分野の研究の発展に大きく反映されている。現在、菌類の汚染が穀類の変質を決定的なものとし、ひいては

経済的に大きな損害を与えるにいたることは疑問の余地がない。貯蔵米の菌類に関する著者の菌学的研究結果を中心として、主として次の各項につき総論的考察を述べた。穀類から分離される菌類の種類、菌類検索の方法、穀類の微生物相と特色、穀類における菌類の分布とその推移、変質の実態。

穀類から分離される菌類約 63 属 177 種のうち、変質上最も重要とされる菌は *Aspergillus*, *Penicillium* の 2 属である。また、穀類の菌をその性格から大別すると field fungi と storage fungi に分けることができる。収穫から貯蔵への段階において穀類の微生物相は大きな推移がみられる。すなわち、field fungi といわれる、穀類が圃場で成熟過程に侵入した菌のほとんどはこの期間を通じて激減し、代わりに storage fungi が侵入し増殖してくる。この状態を、日本産米の調製段階別に調査した資料および外国産輸入米の輸入時と貯蔵(3~4年)後との菌類分布調査の比較資料から明示した。貯蔵中の穀類における菌類の消長は環境条件によって大きく左右されるが、最も支配的な因子は穀物自体の含有水分(空気中の水蒸気圧と平衡関係にある)である。多くの場合は hydrophytes から xerophytes へという変遷であり、貯蔵中の変質は xerophytes に属する菌類によって引き起こされると考えられるが、変質の実態は必ずしもこればかりとはいえない。特殊な例として、日本産米の *Fusarium* 属による変質と外国産米の輸送中の変質をとりあげ、とくに考察を試みた。

これらの考察から、storage fungi をその生態的特徴をもって xerophytic なグループと hydrophytic なグループに群別する必要を認めた。前者には *Aspergillus glaucus*, *A. versicolor*, *A. fumigatus*, *Penicillium rugulosum*, *P. decumbens* などが、後者には *A. flavus-oryzae*, *A. niger*, *P. cyclospium*, *P. funiculosum*, Mucorales などが挙げられる。後者の菌は、乾燥状態の貯倉中では不活発な存在であるけれども、管理の事情で湿度が上昇したときは急激な増殖を始める。なお例外的な存在として、field fungi と storage fungi との両方の性格を備えた *Fusarium* 属があることも見落すことができない。

## 講 演 要 旨

板井孝信・神谷庄造：制ガン剤の研究（第11報）

## 4- および 5-Azidopyridazine 1-Oxide の合成

第16回日本薬学会（1962. 11. 3）

3,4,5-trichloropyridazine (I) に1モルの sodium methoxide を反応させると、3,4-dichloro-5-methoxypyridazine (II) が30~40% の得量で得られる。(II) を脱塩素し 4-methoxypyridazine (III) とし、(III) を酢酸中 60% 過酸化水素水により N-oxidation すれば、N-methyl-4(1H)pyridazinone を30~40%、1-oxide (IV) を7% また 2-oxide (V) を13% 生成する。

IV および V を ethanol 中、80% hydrazine hydrate と加熱すれば 4(5)-hydrazinopyridazine 1-oxide (VI, VII) となる。(VI, VII) を亜硝酸で処理し、それぞれ 4(5)-azidopyridazine 1-oxide (VIII, IX) とした。

VIII および IX の azido 基はイオン反応の結果、それぞれ 4(5)-alkoxypyridazine 1-oxide となる。

## 板井孝信・佐子 茂：Mehtylpyridazine N-Oxide のメチル基の活性について

第16回日本薬学会（1962. 11. 3）

3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (I), 3-, 4-, 5-, 6-methylpyridazine 1-oxide (II), (III), (IV), (V), とベンズアルデヒドの縮合反応を検討し、この反応に対するメチル基の活性を調べた。

I, II, III, IV, V にメタノール中ナトリウムメトオキシドの存在下1モルのベンズアルデヒドを反応させると、それぞれ 3,6-distyrylpyridazine 1-oxide, 3-, 4-, 5-, 6-styrylpyridazine 1-oxide を生じる。

I では3位と6位のメチル基で活性の差は認められないが、II は III, IV, V に比べて活性が乏しいようである。

## 小川俊太郎・笠原 閑：2-Ethyl-4-aminopyrimidine 類の合成

第139回ビタミンB委員会（1962. 12. 7）

propioamide と 2-methoxymethylene-3-ethoxypropionitrile から 2-ethyl-4-amino-5-ethoxymethylpyrimidine (I) および副産物として 2-ethyl-4-amino-5-propioamidomethylpyrimidine (II) をえた。(I) を氷酢酸に溶かし臭化水素ガスを通じ 5-bromo-methyl 体 (III) とし、ついで接触還元して 2-ethyl-

4-amino-5-methylpyrimidine (IV) とした。(IV) は propioamide と 2-ethoxymethoxymethylpropionitrile から低収率ではあるがえられた。

つぎに propioamide と ethyl- $\alpha$ -cyanobutyrate とを縮合させ、2,5-diethyl-4-amino-5-hydroxypyrimidine をつくり、これをオキシン塩化リン・5塩化リンで 6-chloro 体 (VI) に導き、さらに接触還元して 2,5-diethyl-4-aminopyrimidine とした。

辻 楠雄：定電位電解法の研究（パラジウムの電解分析）第14回日本歯科材料器械学会大会（1962. 5. 20）

衛生試報 80, 報文中の同題目のものと同じ。

小川俊太郎・小林 正：製剤中のビタミン D 定量法の検討（第2報~第5報）東・山川法の検討（1~4）

第76, 78, 79 回脂溶性ビタミン総合研究委員会（1962. 3. 17, 7. 7, 9. 29）

東海区水産研究所の東・山川氏によって提出された2段階クロマトを用いる D 定量法を検討した。第1クロマトに用いる酸性白土の加熱温度と D 回収率との間には密接な関係があり、100° 以下の温度なら回収率は100% であるのに100° をこえると著しく悪くなり、180° で0% となる。しかし100~130° の加熱白土なら水を加えたのち再び100° 以下の温度で加熱すると回収率は100% に回復する。これは白土の結晶構造の変化によることを X 線回折像より確認した。第2クロマトに用いるアルミナはロット差が大きく、原報指定の Brockmann アルミナでもロットが異なると含水量を一定としても再現性のある D の回収は得られず、使用するアルミナのロットの指定が必要なることを確認した。

小川俊太郎・小林 正：製剤中のビタミン D 定量法の検討（第6報）塩化アセチルによるビタミン A および D の化学的変化

第79回脂溶性ビタミン総合研究委員会（1962. 9. 29）

D の三塩化アンチモン呈色は塩化アセチルの添加によって著しく増感されるのにはたいし、A の呈色はほとんど影響を受けない。これは両者の塩化アセチル

により受ける化学的变化の差異によるためではないかと考えて紫外外部吸収スペクトルより調べた。まずDの塩化エチレン溶液に塩化アセチルを加え、室温で10分間放置したのち苛性ソーダ液を加えて反応を止め、反応物のエタノール溶液について紫外外部吸収スペクトルを測定したところ iso-tachysterol のそれが得られた。つぎに A について同様の反応を行なったところ iso-anhydro A のスペクトルが得られた。

#### 小川俊太郎・小林 正：製剤中のビタミン D 定量法の検討 (第7報)

##### ビタミン D の三塩化アンチモン 呈色における塩化アセチルの役割

第79回脂溶性ビタミン総合研究委員会 (1962.9.29)

D の 0~400 I.U. に塩化アセチルを含まない三塩化アンチモン・塩化エチレン試薬を加えたがまったく呈色せず、塩化アセチルの添加によって初めて呈色した。D は塩化エチレン溶液中塩化アセチルの作用により瞬間的に iso-tachysterol に変化するので、三塩化アンチモンによって呈色するのは D ではなくて D より生成した iso-tachysterol ではないかと考えて iso-tachysterol を作り、三塩化アンチモン試薬を加えたところ D と同様に塩化アセチルの存在がなければ呈色しなかった。この事実から塩化アセチルの役割は D→iso-tachysterol の変化にあるのではなく、呈色時になんらかの補助因子として作用するのである。

#### 柴崎利雄・太幡利一：製剤中ビタミン A の異性体の分離にかんする研究 (1) 活性リン酸一水素カルシウムを用いるクロマトグラフィー

第15回日本ビタミン学会 (1963. 4. 23)

オランダ国立栄養研究所、デンマーク国立ビタミン研究所等において開たくされたビタミン A 異性体の分離法の検討を行なって来たが、その実用性のために若干の改良を行なった。

実験は Hjarde 等の行なった活性リン酸一水素カルシウムのカラム (n-ヘキサン) を用い、約 500 IU 相当量のビタミン A 異性体混合物を、n-ヘキサン、次いで 2%, 4%, 8~13% エーテル含有 n-ヘキサンで異性体を誘出し、その区分は誘出液の蛍光の増減によって見当をつけ、分離した異性体について、特に neo-A について吸収スペクトル、蛍光スペクトルおよびマレイン価を測定した。

本分離の重要性は、A 異性体の各々が相対生物効

力に相異があること、および all-trans A の異性化する過程の検索を行なう上に便利であるという2点である。

#### 太幡利一：製剤中ビタミン A の異性体の分離にかんする研究 (II) 活性アルミナを用いるビタミン A エステル中のネオ A エステルの分離法

第15回日本ビタミン学会 (1963. 4. 23)

製剤または食品添加物原料としての高単位 A エステル中のネオ-A エステルは、マレイン価の測定によってその含量を知ることができる。しかしながら高単位濃縮 A エステル中には、カールブライス反応により  $SbCl_5$  クロロホルムで呈色する非 A 画分が若干含まれており、それが無水マレイン酸と反応しにくいことから、マレイン価が高くなり、従って相対生物効力は低く評価されてしまう場合がある。

演者は、水分 10% を含ませて失活した Merck の Brockmann アルミナを、コレステロールで処理し、それを内径 8 mm、高さ 15 cm のカラムとして、n-ヘキサンとともにつめこんだものを用いて neo-A エステルを分離した。

試料は 400~4000 IU を用い、誘出溶媒は n-ヘキサン (A 酸化物、無水物およびネオ-A エステルの順に誘出、蛍光により分画)、次いで 4% エーテル含有 n-ヘキサン (オールトランス A エステルのみ) および 13% エーテル含有 n-ヘキサン (A アルコール型混合異性体誘出) を順次用いる。

クロマト時の室温は、 $10^\circ$  以下がもっとも能率よく分離する。誘出の過程の観察は、約 3 ml ずつの誘出液を試験管にとり、紫外線燈下で発する蛍光の増減、色調の変化によって行なう。以上の方法により、分離したネオ-A エステル、オールトランス-A エステルおよび A アルコールの画分をそれぞれ合わせて減圧で蒸発させ、残渣について、マレイン価、吸収スペクトル、蛍光スペクトル等を測定して検討を行なった。これ等の分画の 326 m $\mu$  における吸光度に、ネオ-A エステル分画の換算係数として 1540、オールトランス-A エステル分画には、1900 を用いたところ、Ames 等の方法による相対生物効力の評価法より正しい値が得られることを知った。

#### 足立 透：オロツト酸の比色定量法

(I) p-Dimethylaminobenzaldehyde 法の改良

(II) 発色機構について

第15回日本ビタミン学会大会 (1963. 4. 23)

本誌抄録中の同題目のものと同じ。

谷村頭雄・竹下隆三(公衆衛生院)・奏 邦男(東北バルブ)：トルラ酵母の成分について (第1報)

第17回日本薬学大会 (1963. 4. 9)

亜硫酸バルブ廃液を原料として製造されたトルラ酵母は、多くのビタミン類を含有しているが、これ以外に更に、動物の生長を促進する未知物質 (UGF) を含むことが報告されている。演者らは、この UGF の本体を究明する目的で実験を行なった。

先ずトルラ酵母のエタノール抽出液を、種々の方法で分画し、D-galactitol, ergosterol, myristic acid のほかに、mp 87° の針状品が 0.11% の収量で得られた。この針状品は、元素分析、IR、アセチル数、分子量、過ヨウ素酸消費量などから、1, 2, 3, 5, 6-pentacetyl- $\alpha$ -D-galactofuranose であることがわかった。本品は、従来、天然物中には存在しないとされていたものであり、このように多くのアセチル基が入ったものが、酵母中に発見されたことは、生化学的にみても興味ある問題である。

佐藤佳一・鈴木隆雄・新村寿夫： *Saccharomyces cerevisiae* 菌浮遊液による ビオチン 生合成 に対する硫黄の形態

第140回ビタミン B 研究委員会 (1963. 1. 19)

本誌抄録中の *Sacch. cerevisiae* 菌浮遊液によるデスチオビオチンよりビオチンの生合成 (II) ビオチン生合成における硫黄源と同じ。

江島 昭・浮田忠之進： 3-Acetyl-4-hydroxycoumarin および Dehydroacetic Acid の抗菌作用機作

第16回日本薬学大会 (1962. 11. 2)

本誌抄録中の同題目のものと同じ。

鹿島 哲・川村次良：エフェドリン類の旋光分散曲線におよぼす pH の影響

第16回日本薬学大会 (1962. 11. 3)

ルドルフ分光電位旋光計を使い、エタノール、水および 48 v/v% エタノールを溶媒とし、塩酸および水酸化ナトリウムで試料溶液の pH を変化させたときのエフェドリン類の旋光分散曲線の変化を検討した。

溶媒を水からエタノールにしても旋光分散曲線はあまり変化しないので、遊離塩基およびその塩の双方を溶かす 48% エタノールを溶媒とし、試料の 0.05 M 溶液の旋光度を測定した。I (D<sub>2</sub> or D<sub>0</sub>)-エフェドリン、I-デヒドロオキシメチルエフェドリンおよび D<sub>2</sub>-

フェニルアラニンは正のコットン効果曲線を示したが、それらの塩酸塩および酸性溶液では旋光分散曲線の形が逆転し負のコットン効果を表わした。それに対して、I (D<sub>2</sub> or D<sub>0</sub>)-メチルエフェドリンおよび d (D<sub>2</sub> or D<sub>0</sub>)-ブソイドエフェドリンは、それぞれ正および負のコットン効果を示したが、その塩および酸性溶液でも曲線の形はあまり変化しなかった。なお、L-フェニルアラニンは正のコットン効果曲線を示し、その酸性溶液は負のコットン効果曲線を示した。

長沢佳熊・越村栄之助：クリーム中の卵胞ホルモンの化学的定量法

第17回日本薬学大会 (1963. 4. 9)

本誌報文中の同題目のものと同じ。

西崎征夫：カツオおよびマグロ類・インシュリンの化学構造について

日本薬学会関東支部 9 月例会 (1962. 9. 15)

カツオおよびマグロ類・インシュリンを CM セルローズクロマトグラフィーによってそれぞれ 1 種の不活性区分と 2 種の活性区分に分離した。2 種の活性区分については K $\alpha$ , K $\beta$ , T $\alpha$  および T $\beta$  インシュリンと称することにし、以上 4 種のインシュリンについて N- および C- 末端アミノ酸を定量的に分析し、なおそれらの若干の物理化学的性質を哺乳動物インシュリンのそれと比較することによって、魚類インシュリンの化学構造の特徴を述べた。

長沢佳熊・中山豪一・山羽 力・木村俊夫・高橋昭江・柴田哲夫(大洋漁業)・井谷 彰(大洋漁業)：クジラヘパリンに関する研究

第16回日本薬学大会 (1962. 11. 3)

クジラから製造したヘパリンはウシヘパリンに比し抗凝血活性が高いにもかかわらずイオウ含量は比較的低い。このことからクジラヘパリンはウシなどの他の哺乳動物から製造したヘパリンとその化学構造および作用機序がどのように異なるかを調べる目的で、まず Dowex-1 によるイオン交換クロマトグラフィーを行ない、ウシでは 2.0 M NaCl, クジラでは 1.5 M NaCl で溶出するそれぞれの区分が、収量、活性ともに高いことを認めた。これらの区分について比旋光度およびイオウ、窒素、ヘキソサミン、ウロン酸のそれぞれの含量について分析を行ない、両者の間かなりの差を認めた。また抗凝血活性測定の際使用する硫酸塩全血液の保存日数が経過するにしたがい、クジラヘパリンの活性が次第に低く現われることが認められた。

### 大森義仁：コレステロールの生合成と生体内分布に関する実験的研究

第79回成医学会 (1962. 10. 5)

ラットに酢酸- $1-^{14}C$ を腹腔内注射したのち、4時間までの間にその肝臓、消化管その他の臓器組織よりコレステロール- $^{14}C$ を分離精製した結果、その酢酸よりの生合成には肝臓が主な役割を演ずるもので、この生合成はあらかじめ1%コレステロール含有食餌摂取(7日間)で著明に抑制されることを認めた。

またパラビオセラットを用い、コレステロール- $^3H$ を与え、更に酢酸- $1-^{14}C$ を注射する実験で、経口投与コレステロールは血行を介して他側の動物にも運ばれ平等に分布し、微量の本物質摂取すらも、その後の生合成に影響があることを認めた。

粥状硬化を起こしたウサギでは、 $^3H$ および $^{14}C$ でラベルしたコレステロール両者間に、その大動脈への沈着量の差を示さなかった。

池田良雄・大森義仁・糸嶺篤一・武藤輝・吉本浜子：中性洗剤(ABS)の中毒学的研究

第1報 ABSの毒物ならびに局所刺激作用について

第2報 AB $^{35}S$ の経口および経皮吸収に関する研究

第27回日本薬理学会関東部会 (1962. 11. 11)

ABSの主成分であるABSのマウス、ラット雌雄のLD50はともに2g/kg以上で、その0.05, 0.25, 1.25および5.9%水溶液をラットおよびウサギの粘膜および背部皮膚に投与した際の刺激症状はほとんど認められぬ程度の軽度のもので、市販洗剤や固形石鹼とも差を認めなかった。モルモットによる皮膚感作試験も陰性であった。ラットにABS含有食餌を与え長期飼育したところ2.5%ABS含有食餌群に下痢体重減少等が現われ12~21週の間約50%が死亡した。

AB $^{35}S$ をラットに経口投与( $2.11 \times 10^6$ cpm/100g)すると、ラベルはすべての臓器に分布した。1日後肝臓が最も高いとりこみを示したが、その他の臓器同様14~17日の間にほとんど消失した。

排泄物のラベルを検索した結果、投与AB $^{35}S$ は主として消化管より、また僅かながら尿路から排泄され、1月以内に約93%、また7日後までにほとんどすべてが排泄を終わるという結果を得た。

またAB $^{35}S$ をウサギに経口投与すると、微量が吸収され、尿および尿より検出された。

### 川城 巖・二郷俊郎：マヒ性貝毒に関する研究

I. かき毒の分離、精製について

第17回日本薬学会 (1963. 4. 9)

マヒ性貝毒による中毒は作用激烈で死者を出す例も多いが、わが国ではこの毒素の本態はまだ明確にされていない。昭和37年2月、京都府宮津市においてかきによる中毒が発生した際、著者等は現地より入手した試料について毒素の化学的分析および薬理学的試験を行なった。すなわちかき中腸腺からメタノールによって毒物を抽出し、抽出液を濃縮したのちpH7.0に調整し、同じくpH7.0に調整したAmberlite IRC-50およびXE-64のカラムを通し、1M酢酸で溶離させ、次に活性アルミナのカラムを通し、無水メタノールで展開を行ない、最後に凍結乾燥によって白色粉末を得た。本毒素は紫外線に吸収を示さず、きわめて吸湿性が強い。DD系 $\delta$ マウスで動物実験を行なった結果、末梢マヒ、呼吸興奮、挙尾、しんせんが現われ混睡状態ののち死亡し、マヒ毒特有の症状を呈する。

細貝祐太郎：わが国牛初乳脂肪の性状について

第17回日本薬学会 (1963. 4. 9)

従来まで研究の行なわれていない牛初乳脂肪についてその組成、不飽和酸の分離、燐脂質、臭気成分の分離確認など初乳脂肪に関する一連の研究を行なった。

まず、ホルスタイン種牛の分べん後48時間以内の初乳について東京、館林、松本など日本各地より集めた20試料について脂肪、蛋白質、乳糖などの成分分析を行ない、これらの異常性を確認したのち、分離精製した初乳脂肪についてけん化価など各種の性状を初めて明らかにした。なお、本報告はわが国牛初乳脂肪に関する研究(第1報)の一部である。

岡田太郎：最近のプラスチックの衛生試験について

第9回合成樹脂工業技術発表講演会 (1963. 3. 26)

プラスチックが最近食品の容器包装に多量に使用されるようになったので、これら衛生試験について述べた。

セロファンは防湿性を付与するために各種のプラスチックを塗布したものがあり、衛生検査指針の方法で試験したところ多少溶出物がみられた。

ポリエチレンは一応衛生上無害なものと考えられるが、重合する際生ずる低分子量成分や安定剤などが衛生上の問題になる。そして低分子量成分の食用油に移行する量は30ppmから350ppmに達するものがある。

ポリプロピレンは耐熱性があり、滅菌消毒ができるので衛生的に優れているが、一定量の安定剤が加えられており、これがアルコールなどに溶けるので、その種類と溶出量が衛生上の問題になる。

ステロール樹脂では発泡ステロールが最近容器包装に使用されているが、発泡剤のほかステレン単量体が含まれており、これはアルコールなどに溶けることがわかっている。ポリエステルは添加物も少なく溶出物もきわめて少量で衛生的にもよいものである。

#### 坂部フミ：ペプトンの種類と糸状菌の生育

昭和 38 年度日本菌学会大会 (1963. 4. 3)

植物性ペプトン、毒索用ペプトン、カゼイン製ペプトン、混合ペプトンなど 10 サンプルについて、医真菌、植物病原糸状菌の中の、*Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Hormodendrum pedrosoi*, *Phialophora verrucosa*, *Sporotrichum sche-*

*nckii*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Epicoccum nigrum*, *Helmintosporium turcicum*, *Penicillium claviforme*, *Trichoderma viride* の 12 種類の菌を培養し、菌の生長度、菌叢の状態、色調、形状、胞子の形成度などに関して、比較観察した結果、概して植物性ペプトンが良好で、ついで混合ペプトンがよく、毒索用とカゼイン製は劣るようであった。

#### 倉田 浩：Curvularia 属菌の分類私見

昭和 38 年度日本菌学会大会 (1963. 4. 3)

今日までに *Curvularia* 属は 28 種が記載されているが、この中多くのものは同一種とみなされるものであつて、確かな分類基準がない。そこで同属菌の 120 分離系統を再検討した結果、8 種のみが一応独立種と認められることに確信を得たので新しい分類基準を提示した。

## 衛 試 例 会

所員の研究、試験および検査に関する発表を主とする「衛試例会」が昭和36年6月から毎月本所講堂において開催されているが、昭和37年4月から昭和38年3月まで下記の発表を行なった。また講演会についてもあわせて記す。

## 第11回(昭和37年4月16日)

1. 1314 Th の抗菌性について  
衛生微生物部 橋本 泰 而
2. 合成保存料混合製剤の分離定量法  
食品添加物部 原田 基 夫
3. 定電位電解法による金属の分析  
療 品 部 辻 楠 雄
4. 歯科用合金線の耐蝕性の電気化学的測定法について  
療 品 部 堀 部 隆
5. 植物生薬の糸状菌の区系について  
衛生微生物部 倉 田 浩

## 第12回(昭和37年5月14日)

1. 猫の正常体温とその体温変化に作用すると思われる諸条件について  
薬 理 部 田 中 悟
2. 魚類のインシュリンについて  
特殊薬品部 西崎 笹夫
3. ナツズイセン *Lycoris squamigera* MAIM の球茎中のガランタミン定量  
生 薬 部 小 川 秀 子
4. タール色素の非水溶媒における可容化について  
環境衛生化学部 南 城 実

## 第13回(昭和37年6月11日)

1. 多糖類の旋光分散について  
特殊薬品部 高橋 昭江
2. Pyridazine ayido 誘導体について  
製薬研究部 神谷 庄造
3. 菌類代謝産物の化学構造と生合成—とくに *Oospora sulphurea-ochracea* の代謝産物について  
生 薬 部 名 取 信 策
4. 脳下垂体後葉ホルモン  
特殊薬品部 中山 豪一

## 第14回(昭和37年7月9日)

1. ニンヒドリンによるヒドラジドの呈色反応機構について  
医 薬 品 部 北 条 正 躬
2. *Saccharomyces cerevisiae* 菌浮遊液によるデスチオビオチンよりビオチンの生合成

ビタミン化学部 新村 寿夫

3. 食品添加物としての食塩について  
食品添加物部 鹿間 嘉久蔵
4. 有機化合物のポーラログラフによる研究  
療 品 部 佐 藤 寿
5. 国際薬局方について  
製薬研究部 板井 孝信

## 第15回(昭和37年8月13日)

1. 微量フェノールの定量法の検討  
環境衛生化学部 島 峯 望 彦
2. 硫化水素泉のガス中毒防止対策の一例について  
環境衛生化学部 小幡利勝・松井啓子
3. ヒドラジン化合物の新微量検出法  
医 薬 品 部 小 林 茂 子
4. インシュリンとグルカゴンの拮抗作用について  
特殊薬品部 白井 浄二
5. 標準品について  
特殊薬品部 長 沢 佳 熊

## 第16回(昭和37年9月10日)

1. アルキルベンゼンスルホン酸による野菜洗浄時の残留量について  
食 品 部 辰 濃 隆
2. ベンゼン抽出法によるビタミンA定量法の検討(II)  
ビタミン化学部 中 路 幸 男
3. 3,6-Disubstituted pyridazine 1-oxide およびその誘導体について  
製薬研究部 佐 子 茂
4. 中性洗剤に関する2, 3の薬理学的知見について  
薬理部 糸嶺篤一・武藤 輝・吉本浜子
5. 細菌の薬剤耐性の伝達について  
衛生微生物部 松野 満子
6. 動脈硬変と大動脈におけるコレステロール沈着について  
薬 理 部 大 森 義 仁

## 第17回(昭和37年10月8日)

1. 食品中の Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide の定量  
食 品 部 近 藤 竜 雄
2. 3-Acetyl-4-hydroxy-coumarin および dehydroacetic acid の pka について  
ビタミン化学部 足 立 透
3. 含水溶媒を使ったハロゲンイオンの銀滴定  
特殊薬品部 鹿 島 哲



## 第18回 (昭和37年11月12日)

1. クロルテトラサイクリンの毒性に関する研究  
薬理部 篠田 光雄
2. 細菌の薬剤耐性の伝達について  
衛生微生物部 松野 満子
3.  $^{90}\text{Sr}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の分析について  
特殊薬品部 亀谷 勝昭
4. 3-アセチル-4-ヒドロオキシクマリンおよびデ  
ヒドロ酢酸の抗菌作用機作  
ビタミン化学部 江島 昭
5. アテロスクレロージスと磷および硫黄  
衛生微生物部 田辺 俊

## 第19回 (昭和37年12月10日)

1. クジラヘパリンに関する研究  
特殊薬品部 木村 俊夫
2. エフェドリン類の旋光分散について  
特殊薬品部 川村 次良
3. 桔梗根の成分について  
生薬部 伊藤 己代子

## 第20回 (昭和38年1月21日)

1. 各種吸着剤による水中の放射性物質( $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ )除  
去試験および最近の灯台飲料用天水の分析結果に  
ついて  
特殊薬品部 城戸靖雅・池淵秀治
2. テクニコン, オートアナライザー  
特殊薬品部 竹中 祐典
3. ナロルフィンの薬理について  
薬理部 吉本 浜子
4. ジベブタイドについて  
医薬品部 庄司 初枝
5. 学術映画「女王蜂の神秘」

## 第21回 (昭和38年2月11日)

1. PAS の分析  
医薬品部 中村 晃忠
2. 実験的胃潰瘍に関する研究  
薬理部 武藤 幸子
3. Mycological notes for 1962  
衛生微生物部 松島 崇
4. 病原性好塩菌の海洋分布について  
衛生微生物部 小島 秩夫

## 5. 歯磨中 ABS の試験について

環境衛生化学部 狩野 静雄

## 6. 製剤のビタミン A 異性化に関する研究

ビタミン化学部 太幡 利一

## 第22回 (昭和38年3月31日)

1. 食品中の農薬の残留と中性洗剤による洗浄効果に  
ついて  
食品部 藤巻 昌子
2. 有機酸による内毒素の減毒  
衛生微生物部 石岡 忠一
3. 大気汚染監視用自動一酸化炭素測定器の試作  
環境衛生化学部 山手 昇
4. オロット酸の比色定量法  
ビタミン化学部 足立 透
5. ホウ素を用いる蛍光分析について, I  
o-Hydroxycarbonyl 化合物のホウ素キレート  
の蛍光  
医薬品部 柴崎 利雄

## 第23回講演会 (昭和37年5月16日)

ウィルスの構造とその核酸

国立予防衛生研究所 西村 千昭

## 第24回講演会 (昭和37年8月6日)

最近の分析化学の動向

東京大学教授 鎌田 仁

## 第25回講演会 (昭和37年9月24日)

電子顕微鏡について

日本電子株式会社 四本 晴夫

## 第26回講演会 (昭和37年11月19日)

癌の生化学

東京大学助教授 寺山 宏

## 第27回講演会 (昭和37年12月4日)

酵素の基質特異性, 特にリボヌクレアーゼにつ  
いて

東京大学教授 浮田 忠之進

## 第28回講演会 (昭和38年2月5日)

とりかぶと塩基: プソイドコブシンの構造研究

東京大学教授 夏目 充隆

## 国家検定，国家検査などの試験成績報告

### 総務部業務課

昭和37年(1月～12月)における試験検査などの状況はつぎのとおりである。

国家検定については，昨年同様ブドウ糖注射液がもっとも多く，全体の約36%をしめ，ついでイソニアジド，イソニアジド錠，リンゲル液，イソニアジドメタンスルホン酸ナトリウム，避妊薬(セリー剤)の順で，全体の約38.2%におよんでいる。本所，大阪支所とも昨年とほぼ同数の件数となっている。

国家検査については，脱脂綿，衛生サック製造業者に対する検査命令解除に伴ない，昨年約1/3(648件)に減少した。また製品検査については，本所，大阪支所とも減少し，全体として昨年に比し約17%(2,522件)の減少となった。

以上のほか輸出検査および特行試験については増となったほかはいずれも昨年より減少し，全体としては6.51%(1,976件)減の28,379件に減少した。

#### 衛生試験所における検査状況

(昭和37年)

件名	試 験 機 関		合 計
	東 京	大 阪	
	件	件	件
国 家 検 定	1,537	1,137	2,674
国 家 検 査	366	282	648
製 品 検 査	5,939	6,213	12,152
輸 出 検 査 (医療用具)	3,981	373	4,354
輸 入 検 査	66	64	130
	970	566	1,536
特 行 試 験	1,022	3,451	4,473
一 般 依 頼 試 験	818	1,047	1,865
一 斉 取 締 試 験	329	218	547
合 計	15,028	13,351	28,379

国 家

品名	種別	1		2		3		4		5		合格					
		合格	不合格	合格	不合格	合格	不合格	合格	不合格	合格	不合格						
		計		計		計		計		計							
イソニアジド	東京 大阪	18 16	0 0	18 16	11 11	0 0	11 11	3 9	0 0	3 9	4 15	0 0	4 15	12 7	0 0	12 7	20 14
イソニアジド錠	東京 大阪	10 16	0 0	10 16	8 9	0 0	8 9	9 13	0 0	9 13	5 10	0 0	5 10	5 14	0 0	5 14	11 9
イソニアジド注	東京 大阪	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	2 1	0 0	2 1	— —
イソニアジドメタンスルホン酸ナトリウム	東京 大阪	9 —	0 —	9 —	11 —	0 —	11 —	9 —	0 —	9 —	9 —	0 —	9 —	8 —	0 —	8 —	8 —
イソニアジドメタンスルホン酸ナトリウム錠	東京 大阪	15 —	0 —	15 —	16 —	0 —	16 —	22 —	0 —	22 —	17 —	0 —	17 —	12 —	0 —	12 —	14 —
イソニアジドメタンスルホン酸ナトリウム顆粒	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
イソニアジドグルクロン酸ナトリウム	東京 大阪	18 —	0 —	18 —	5 —	0 —	5 —	4 —	0 —	4 —	7 —	0 —	7 —	11 —	0 —	11 —	9 —
イソニアジドグルクロン酸ナトリウム錠	東京 大阪	8 —	0 —	8 —	5 —	0 —	5 —	5 —	0 —	5 —	14 —	0 —	14 —	6 —	0 —	6 —	6 —
ビルビン酸カルシウムイソニアゾン	東京 大阪	— 1	— 0	— 1	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— 2	— 0	— 2	— 2
ビルビン酸カルシウムイソニアゾン錠	東京 大阪	— 3	— 0	— 3	— —	— —	— —	— 2	— 0	— 2	— 3	— 0	— 3	— 1	— 0	— 1	— 4
ピラジナミド	東京 大阪	— —	— —	— —	2 —	0 —	2 —	— —	— —	— —	5 —	0 —	5 —	4 —	0 —	4 —	4 —
ピラジナミド錠	東京 大阪	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	2 —	0 —	2 —	6 —	0 —	6 —	5 —
アルミノバスカルシウム・イソニアジド錠	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
イソニアジド・スルフィソミジン散	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
2-エチル-チオイソニコチナミド	東京 大阪	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— 1
2-エチル-チオイソニコチナミド錠	東京 大阪	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— 2	— 0	— 2	— 1
避妊薬 (ゼリー剤)	東京 大阪	9 —	0 —	9 —	18 —	0 —	18 —	11 —	2 —	13 —	10 —	0 —	10 —	6 —	0 —	6 —	15 —
避妊薬 (錠剤)	東京 大阪	2 —	0 —	2 —	7 —	0 —	7 —	2 —	0 —	2 —	6 —	0 —	6 —	2 —	0 —	2 —	— —
避妊薬 (親水性坐剤)	東京 大阪	3 —	0 —	3 —	3 —	0 —	3 —	2 —	0 —	2 —	3 —	0 —	3 —	1 —	0 —	1 —	— 1
避妊薬 (液剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
インシュリン注	東京 大阪	2 —	0 —	2 —	4 —	0 —	4 —	3 —	0 —	3 —	7 —	0 —	7 —	10 —	0 —	10 —	— 4





検 定 (No. 2) (昭和37年)

6		7			8			9			10			11			12			合 計		
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	計
0	1	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	1	0	1	7	0	7
0	1	1	0	1	3	0	3	2	0	2	1	0	1	3	0	3	2	0	2	22	0	22
0	2	2	0	2	2	0	2	3	0	3	2	0	2	2	0	2	3	0	3	27	0	27
0	1	1	0	1	—	—	—	2	0	2	1	0	1	1	0	1	—	—	—	9	0	9
—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	1	0	1	1	0	1	—	—	—	7	0	7
0	3	—	—	—	4	0	4	—	—	—	1	0	1	1	0	1	4	0	4	25	1	26
0	1	2	0	2	3	0	3	1	0	1	4	0	4	3	0	3	2	0	2	24	0	24
0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	2	0	2
0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
1	32	23	1	24	32	2	34	22	0	22	28	0	28	22	1	23	29	0	29	304	5	309
0	62	49	0	49	59	0	59	46	0	46	70	1	71	69	1	70	52	1	53	648	4	652
0	5	6	0	6	3	0	3	5	0	5	9	0	9	7	0	7	6	0	6	67	0	67
0	15	6	0	6	15	0	15	7	0	7	9	0	9	13	0	13	13	0	13	121	0	121
1	147	140	1	141	127	2	129	93	0	93	134	0	134	113	1	114	139	0	139	1,529	8	1,537
0	108	78	0	78	102	0	102	78	1	79	117	2	119	125	1	126	97	1	98	1,131	6	1,137

検 査 (No. 1) (昭和37年)

6		7			8			9			10			11			12			合 計			
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	計	
0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	0	9	
10	27	8	0	8	7	1	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	161	33	194	
—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	0	9	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	0	12	
0	1	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	0	7	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2	

## 国 家

品名	試験機関	月 別		1			2			3			4			5			合格
		種 別	別	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	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	
アンプルに充填されている内服用強肝栄養剤	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	4	11	0	11	21	0	21	17
頭髮用のエアゾル化粧品	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	2	0	2	5	0	5	4
日本薬局方生理食塩液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	2	0	2	—
国民医薬品集 診断用クエン酸ナトリウム注	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—
アルコールを70%以上含有する 頭髮用化粧品	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	2	7	2	9	6	
BHC からなる殺虫剤	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	2	
抗ヒスタミン剤含有解熱鎮痛剤	東京 大阪	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
グリセリン浣腸剤	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
日本薬局方ケイ皮末	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	東京 大阪	15 7	0 0	15 7	41 2	11 0	52 2	47 7	7 1	54 8	42 37	2 5	44 42	64 110	5 4	69 114	51 —		

検

査 (No. 2)

(昭和37年)

6		7			8			9			10			11			12			合 計		
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	計
0	17	12	1	13	12	0	12	6	0	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83	1	84
-	-	23	0	23	30	0	30	16	0	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	169	6	175
0	4	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	0	13
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	2	0	2	-	-	-	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	0	6
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	1
0	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	3	17
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	0	10
0	2	-	-	-	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0	4
-	-	14	0	14	3	0	3	3	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42	1	43
0	3	3	0	3	5	0	5	4	0	4	1	0	1	1	0	1	3	0	3	20	0	20
-	-	-	-	-	1	0	1	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	3
-	-	5	0	5	5	0	5	7	0	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	3	38
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	1
10	61	28	1	29	25	1	26	11	0	11	1	0	1	1	0	1	3	0	3	329	37	366
-	-	43	0	43	39	0	39	27	0	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	272	10	282



## 製 品

品名	試験機関	月 別		1			2			3			4			5			合格
		種 別	別	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	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	
サッカリンナトリウム	東京 大阪	172 113	0 0	172 113	152 178	0 0	152 178	221 170	0 10	221 180	202 115	0 0	202 115	318 210	0 0	318 210	224 172		
ズルチン	東京 大阪	47 97	0 0	47 97	77 116	0 0	77 116	106 129	0 0	106 129	150 138	0 0	150 138	115 192	0 0	115 192	207 118		
タール色素	東京 大阪	21 51	0 0	21 51	94 70	0 0	94 70	79 104	0 0	79 104	89 96	0 1	89 97	95 79	0 0	95 79	110 126		
希釈過酸化ベンゾイル	東京 大阪	81 —	0 —	81 —	92 —	0 —	92 —	76 —	0 —	76 —	78 —	0 —	78 —	80 —	0 —	80 —	77 —		
ニトロフリルアクリル酸 アミド	東京 大阪	— 10	— 0	— 10	— 15	— 0	— 15	— 35	— 0	— 35	— 24	— 0	— 24	— 28	— 0	— 28	— 28		
ニトロフリルアクリル酸 アミド10倍散	東京 大阪	— 5	— 0	— 5	— 12	— 0	— 12	— 47	— 0	— 47	— 19	— 0	— 19	— 23	— 0	— 23	— 15		
ニトロフリルアクリル酸 アミド、ニトロフラゾン 混合10倍散	東京 大阪	— 22	— 0	— 22	— 19	— 0	— 19	— 34	— 0	— 34	— 31	— 0	— 31	— 46	— 0	— 46	— 45		
ニトロフラゾン	東京 大阪	— 3	— 0	— 3	— 6	— 0	— 6	— —	— —	— —	— 2	— 0	— 2	— 5	— 0	— 5	— 7		
ソルフラン散	東京 大阪	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— —		
保鮮プラスチック末	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —		
保 鮮 Z	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —		
合 計	東京 大阪	321 302	0 0	321 302	415 416	0 0	415 416	482 521	0 10	482 531	519 426	0 1	519 427	644 583	0 0	644 583	618 511		

検 査 (昭和37年)

6		7			8			9			10			11			12			合 計		
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	計
0	224	273	0	273	92	1	93	140	1	141	243	0	243	202	0	202	341	0	341	2,580	2	2,582
0	172	140	0	140	173	0	173	147	0	147	220	0	220	293	0	293	286	0	286	2,217	10	2,227
0	207	116	0	116	74	0	74	104	0	104	111	0	111	108	0	108	151	0	151	1,402	0	1,402
0	118	177	0	177	184	0	184	145	0	145	192	0	192	103	0	103	208	16	224	1,799	16	1,815
0	110	48	0	48	66	1	67	99	1	100	64	0	64	104	0	104	91	1	92	960	3	963
5	131	105	0	105	91	0	91	129	0	129	88	2	90	140	2	142	75	0	75	1,154	10	1,164
0	77	85	0	85	71	0	71	92	0	92	104	0	104	77	0	77	79	0	79	992	0	992
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	28	25	0	25	39	0	39	30	0	30	19	0	19	18	0	18	11	0	11	282	0	282
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	15	9	0	9	28	0	28	8	0	8	6	0	6	-	-	-	-	-	-	172	0	172
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	45	51	0	51	54	0	54	59	0	59	39	0	39	50	0	50	37	0	37	487	0	487
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	7	4	0	4	7	0	7	4	0	4	8	0	8	5	0	5	4	0	4	55	0	55
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	2	0	2	1	0	1	-	-	-	1	0	1	-	-	-	6	0	6
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	1	0	1	-	-	-	-	-	-	1	0	1	1	0	1	-	-	-	4	0	4
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	1
0	618	522	0	522	303	2	305	435	2	437	522	0	522	491	0	491	662	1	663	5,934	5	5,939
5	516	512	0	512	578	0	578	523	0	523	573	2	575	611	2	613	621	16	637	6,177	36	6,213

## 日本薬局方標準品および国立衛生試験所標準品

総務部，生物化学部，食品添加物部

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。

別表 日本薬局方標準品(1)

	標準品目	単位	価格	使用目的
1	アスコルビン酸	1g入 1本	1,000 <sup>円</sup>	アスコルビン酸散，同錠，同注射液，注射用コルチコトロビンおよび持続性コルチコトロビン注射液の定量法
2	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の純度試験，安息香酸エストラジオール注射液の定量法
3	インシュリン	20mg入 1本	1,100	インシュリン注射液，インシュリン亜鉛水性懸濁注射液，結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液，無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液，プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液，イソフェンインシュリン水性懸濁注射液およびグロビン亜鉛インシュリン水性懸濁注射液の定量法，イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
4	エストラジオール	20mg入 1本	900	エストラジオールの純度試験
5	塩酸チアミン	200mg入 1本	1,200	塩酸チアミン，同散，同錠，同注射液，乾燥酵母，硝酸チアミン，同散，同錠の定量法
6	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	1,300	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
7	含糖ペプシン	20g入 1本	1,000	含糖ペプシンのたん白消化力試験
8	ジゴキシン	20mg入 1本	1,500	ジゴキシン，同錠，同注射液の純度試験
9	血清性性腺刺激ホルモン	1,000 単位入アンプル 1本	3,700	血清性性腺刺激ホルモンおよび注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
10	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の確認試験，酢酸デスオキシコルトン注射液の定量法
11	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，同注射液の定量法
12	ジギタリス	1g入アンプル 3本	1,200	ジギタリス，同末の定量法
13	ジギトキシン	50mg入 1本	1,700	ジギトキシン錠の純度試験，ジギトキシン，同錠，同注射液の定量法
14	ジゴキシン	50mg入 1本	2,100	ジゴキシン，同錠，同注射液の確認試験および定量法
15	酒石酸水素エピレナミン	20mg入 1本	600	エピレナミンの純度試験
16	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000 単位入アンプル 1本	3,300	胎盤性性腺刺激ホルモンおよび注射用胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法
17	トロンビン	10mg入 2本	2,600	トロンビンの定量法
18	ニコチン酸	500mg入 1本	1,000	ニコチン酸錠，同注射液の定量法
19	ニコチン酸アミド	500mg入 1本	1,000	ニコチン酸アミド錠，同注射液の定量法

## 日本薬局方標準品(2)

	標準品目	単位	価格	使用目的
20	脳下垂体後葉	10 mg入2本	600	脳下垂体後葉注射液, オキシトシン注射液およびバソプレシン注射液の定量法, オキシトシン注射液およびバソプレシン注射液の純度試験
21	パラアミノベンゾイルグルタミン酸	500 mg入1本	1,100	葉酸, 同錠, 同注射液の定量法
22	ヒアルロニダーゼ	500 mg入1本	1,600	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
23	ヘパリンナトリウム	1,200 単位入アンプル1本	1,300	ヘパリンナトリウム, 同注射液の定量法, 硫酸プロタミン, 同注射液の抗ヘパリン試験
24	マレイン酸エルゴメトリン	20 mg入1本	1,500	酒石酸エルゴタミン, 同錠, 同注射液, バッカク, バッカク流エキス, マレイン酸エルゴメトリン, 同錠, 同注射液およびマレイン酸メチルエルゴメトリンの定量法
25	リボフラビン	200 mg入1本	1,200	リボフラビン, 同散, 同錠, リン酸リボフラビン注射液の定量法
26	硫酸プロタミン	100 mg入1本	1,200	イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
27	リン酸ヒスタミン	20 mg入1本	600	注射用コルチコトロピンおよび持続性コルチコトロピン注射液の純度試験
28	ルチン	500 mg入1本	1,100	ルチン, 同錠, 同注射液の定量法

## 国立衛生試験所標準品

	標準品目	単位	価格	使用目的
1	エストロン	20 mg 入 1 本	800	エストロン製品の確認および定量法
2	塩酸チアミン液	1 mg 入アンプル 10 本	400	デカビタミンその他チアミン製品の定量法
3	デソキシコルトン	20 mg 入 1 本	1,300	デソキシコルトン製品の確認および定量法
4	パレイショデンプン	100 g 入 1 本	1,200	パンクレアチン, ジアスターゼ製品のデンプン消化力試験の参考
5	ビタミン A 油	1 g (10,000 単位) 入アンプル 10 本	1,300	デカビタンその他ビタミン A 製品の定量法
6	プロゲステロン	10 mg 入 1 本	900	プロゲステロン製品の確認および定量法
7	プロピオン酸テストステロン	20 mg 入 1 本	900	プロピオン酸テストステロン製品の定量法
8	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}	1 g 入 6 本	2,500	融点測定用温度計, 同装置の補正
9	アマラونس	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアマラونسの確認試験
10	インジゴカルミン	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のインジゴカルミンの確認試験
11	オイルエロー AB	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー AB の確認試験
12	オイルエロー OB	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー OB の確認試験
13	オイルレッド XO	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のオイルレッド XO の確認試験
14	サンセットエロー FCF	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のサンセットエロー FCF の確認試験
15	タートラジン	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のタートラジンの確認試験
16	トルイジンレッド	1 g 入 1 本	300	医薬品, 化粧品および製剤中のトルイジンレッドの確認試験
17	ニューコクシン	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のニューコクシンの確認試験
18	パーマネントオレンジ	1 g 入 1 本	300	医薬品, 化粧品および製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
19	ハンサエロー	1 g 入 1 本	300	医薬品, 化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験
20	ボンソー SX	1 g 入 1 本	200	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー SX の確認試験

昭和37年度における標準品の払出しは下記のとおりである。

品名	払出数量	自家消費数量	計	品名	払出数量	自家消費数量	計
安息香酸エストラジオール	10	0	10	ニコチン酸	7	0	7
インシュリン	34	5	39	ニコチン酸アミド	40	0	40
ビタミンA油	170	24	194	パレイショデンプン	20	2	22
血清性性腺刺激ホルモン	21	0	21	塩酸チアミン	137	3	140
ジギタリス	17	0	17	塩酸チアミン液	387	7	394
胎盤性性腺刺激ホルモン	41	3	44	リボフラビン	239	0	239
脳下垂体後葉	46	2	48	アスコルビン酸	358	19	377
パラアミノ ベンゾイルグルタミン酸	27	0	27	プロゲステロン	0	1	1
塩酸ピリドキシン	60	1	61	硫酸プロタミン	2	0	2
プロピオン酸テストステロン	1	0	1	融点測定用	19	0	19
ヘパリンナトリウム	89	0	89	アマランス	47	0	47
ルチン	12	0	12	タートラジン	47	0	47
エストロン	2	0	2	トルイジンレッド	283	0	283
酒石酸水素エビレナミン	26	0	26	ニューコクシン	26	0	26
含糖ペプシン	8	0	8	パーマネントオレンジ	6	0	6
酢酸デスオキシコルトン	2	1	3	ハンサエロー	15	0	15
				計	2,199	68	2,267

国立衛生試験所

薬用植物栽培試験場報告

昭和 38 年

## 春日部において栽培された若干の麻黄の アルカロイド含有量について (続報)

川谷豊彦・藤田早苗之助・久保木憲人\*・真木義次\*

さきに著者らは数種の *Ephedra* 属植物の総アルカロイド含有量について報告した (1959)<sup>1)</sup>。本報においては、その後、1956年から1960年の間諸外国から入手したものについての生育、総アルカロイド含有率について報告する。

### 実験材料

供試した *Ephedra* 属植物は8種、延べ18点で入手先は Table 1 に記載のとおりである。播種はいずれも春期で、Ep-13~19は1956年、Ep-21~30は1959年、Ep-34~42は1960年である。

播種は木箱に行ない苗をあらかじめ養成しておき、うね幅120cm (通路30cm)の床上に条間60cm株間45cmの2条植として定植した。定植はEp-13~29は1960年3月29日、Ep-30~42は1961年4月11日であった。ただしEp-13~19は木箱から圃場に仮植したものを定植した。肥料は毎年4月下旬10アール当り堆肥187.5kg、油粕75kg、硫安15kg、過石20.6kg、塩加7.5kgを施した。

### 収穫

1962年10月10日地上約10cmのところから刈取り緑色部分のみを選別し収草量とし、これについて分析した。

### 総アルカロイド定量

第六改正日本薬局方の方法に従い各サンプルを均一に混合したものにつきおのおの3回定量の平均値を算出。

### 生育

いずれも生育良好で収穫時の草丈は Table 1 のとおりである。Ep-14 (*E. gerardiana*) は1962年からEp-26 (*E. altissima*) は1961年から開花結実した。他はいずれも開花を見ない。

### 収草量

1株当り風乾収草量は Table 1 のとおりで、Ep-14 (*E. gerardiana*) の1,616g、Ep-24 (*E. intermedia*) の384g、Ep-17 (*E. sp.*) の338g、Ep-13 (*E. distachya*) の305g、Ep-28 (*E. distachya*) の246gなどは特に繁茂が著しい。

### 総アルカロイド含有率

Table 1 に総アルカロイド含有率 (エフェドリンとして) を示す。Ep-42 (*E. procera*) の1.37%、Ep-40 (*E. intermedia*) の1.31% は含有率高く、*E. equisetina* の6点は入手先により含有率はまちまちであったが、Ep-35 (0.34%)、Ep-34 (0.46%) をのぞきいずれも1%以上で注目される。Ep-30 (*E. ciliata*, 0.21%)、Ep-41 (*E. regeliana*, 0.18%) は含有率著しく低い。

日局六に規定するエフェドリン確認試験 (長井反応) はいずれも皆陽性であった。

### 摘要

*Ephedra* 属植物8種、延べ18点 *E. altissima*, *E. ciliata*, *E. distachya*, *E. equisetina*, *E. gerardiana*, *E. intermedia*, *E. procera*, *E. regeliana*, *E. sp.* (Pakistani origin) の試作栽培を行なった。秋期1962年10月に収穫の総アルカロイド含有率 (エフェドリンとして) はそれぞれ0.54%, 0.21%, 0.28~0.79%, 0.34~1.61%, 0.56%, 1.10~1.31%, 0.64~1.37%, 0.18%, 0.97% であった。

### 文献

- 1) 川谷豊彦, 藤田早苗之助, 久保木憲人, 星崎和子: 薬誌, 79, 392 (1959)

### Summary

On the Alkaloidal Content in Ephedras Cultivated at Kasukabe. II.

Toyohiko KAWATANI, Sanaenosuke FUJITA, Norito KUBOKI, and Yoshitsugu MAKI

Eight species of *Ephedra*, totaling 18 samples of various origin from the world, cultivated at Kasukabe, i. e., *E. altissima*, *E. ciliata*, *E. distachya*, *E. equisetina*, *E. gerardiana*, *E. intermedia*, *E. procera*, *E. regeliana*, and *E. sp.* (Pakistan) were harvested in October, 1962. The content of total alkaloid (as ephedrine) in the green portion was 0.54%, 0.21%, 0.28~0.79%, 0.34~1.61%, 0.56%, 1.10~1.31%, 0.64~1.37%, 0.18%, and 0.97%, respectively.

(昭和38年5月31日受付)

\* 群馬大学医学部付風病院薬局



Table 1. Growth and alkaloidal content in Ephedras cultivated at Kasukabe

(Harvested on October 10, 1962)

Exp. no.	Plant name	Seed origin	Date sown	No. of plants examd.	Air-dried wt. per plant (g)	Plant height at harvest (cm)	Total alkaloid (as ephedrine) (%) <sup>a)</sup>
Ep-13	<i>E. distachya</i>	Washington, DC.	19/IV 1956	1	305	35	0.28
" 14	<i>E. gerardiana</i>	"	"	1	1,616	63	0.56
" 17	<i>E. sp.</i>	Pakistan	"	3	338	61	0.97
" 19	<i>E. distachya</i>	Montpellier	4/V 1956	4	184	42	0.79
" 21	<i>E. equisetina</i>	Ashkhabad	22/IV 1959	16	16	51	1.40
" 23	<i>E. equisetina</i>	Alma-Ata	"	5	24	43	1.61
" 24	<i>E. intermedia</i>	"	"	3	384	81	1.10
" 26	<i>E. altissima</i>	Genoa	"	11	72	69	0.54
" 28	<i>E. distachya</i>	Baku	25/V 1959	3	246	75	0.30
" 29	<i>E. procera erythrocarpa</i>	"	"	19	46	65	0.64
" 30	<i>E. ciliata</i>	"	"	17	113	104	0.21
" 34	<i>E. equisetina</i>	Moscow	1/IV 1960	6	16	57	0.46
" 35	<i>E. equisetina</i>	"	"	5	29	22	0.34
" 37	<i>E. equisetina</i>	Tashkent	"	2	90	58	1.26
" 39	<i>E. equisetina</i>	Moscow (VILAR)	"	18	43	52	1.18
" 40	<i>E. intermedia</i>	"	"	4	160	97	1.31
" 41	<i>E. regeliana</i>	"	"	10	65	27	0.18
" 42	<i>E. procera</i>	Erevan	"	22	29	39	1.37
							M.D. (0.05) <sup>b)</sup> 0.118
							M.D. (0.01) 0.122

a) on moisture free basis

b) minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

## 放射線照射のケシの発芽におよぼす影響

川谷 豊彦・藤田早苗之助

さきに著者らは放射線照射のケシの発芽および初期生育におよぼす影響を調べ 5,000 r, 10,000 r ではこれらに著しい障害を受けることを報告した<sup>1)</sup>。この実験は 1960年 3月~6月に行なったもので、発芽は植木鉢に播いてガラス室で観察したものである。以上を予備実験として、今回は、照射線量を 320,000 r まで増量し、温度を一定として、放射線の発芽におよぼす影響についてさらに詳細な観察を試みたので報告する。

この実験を実施するに当り、γ線照射につき御配慮を賜った本所特殊薬品部長沢住熊部長、ならびに照射を行なわれた城戸靖雅技官に謝意を表する。

実験材料および方法 一貫種。照射の方法は既報と同様である。発芽は 20°, 縮切 14 日とし、定温器内で観察した。1区 100 粒。第 2 実験のみ 2 連制、他はすべて 4 連制。

第 1 実験 1960 年 10 月実施。照射線量は 500 r, 1,000 r, 1,500 r, 2,000 r, 2,500 r および対照区の 6 区。(Table 1)。

発芽率は各区の間に有意差を認めない。

第 2 実験 1961 年 10 月実施。照射線量は 3,000 r, 3,500 r, 4,000 r, 4,500 r, 5,000 r および対照区の 6 区。その結果は Table 2 に示すとおりで、発芽率は各区の間に有意差を認めない。

Table 1. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the germination of *Papaver somniferum* L.

(Radiated on October 19, 1960)

Treatment	Germination (%)
K (Control)	80.25
A 500 r	83
B 1,000 r	81.25
C 1,500 r	76.25
D 2,000 r	82.5
E 2,500 r	73.25
M. D. (0.05) <sup>a)</sup>	17.9

a) minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

Table 2. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the germination of *Papaver somniferum* L.

(Radiated on October 25, 1961)

Treatment	Germination (%)
K (Control)	94
F 3,000 r	95.5
G 3,500 r	95
H 4,000 r	90
I 4,500 r	93.5
J 5,000 r	92
M. D. (0.05)	9.3

第3実験 1962年1月実施。照射線量は1,250 r, 2,500 r, 5,000 r, 10,000 r, 20,000 r, 40,000 r, 80,000 r および対照区の8区。その結果は Table 3 のとおりで、1,250 r, 2,500 r, 5,000 r の3区は対照区と有意差なく、10,000 r 以上では発芽率は著しく低下した。

第4実験 1962年2月実施。照射線量は40,000 r, 80,000 r, 160,000 r, 320,000 r および対照区の5区。その結果は Table 4 に示すとおりで、40,000 r, 80,000 r, 160,000 r, 320,000 r の各区の間には有意差が認められない。

総括 5,000 r までの  $\gamma$  線照射はケンの発芽率に有意の影響をおよぼさない。

Table 3. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the germination of *Papaver somniferum* L.

(Radiated on January 16, 1962)

Treatment	Germination (%) <sup>a)</sup>
0 (Control)	69.08
1,250 r	67.15
2,500 r	68.10
5,000 r	67.83
10,000 r	20.33
20,000 r	15.25
40,000 r	4.1
80,000 r	9.18
M. D. (0.05)	7.90
M. D. (0.01)	9.60
M. D. (0.001)	11.43

a) value of angular transformation

Table 4. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the germination of *Papaver somniferum* L.

(Radiated on February 13, 1962)

Treatment	Germination (%) <sup>a)</sup>
0 (Control)	68.78
40,000 r	11.78
80,000 r	14.25
160,000 r	8.78
320,000 r	15.38
M. D. (0.05)	7.75
M. D. (0.01)	9.86
M. D. (0.001)	12.80

a) value of angular transformation

### 摘 要

- 1) あらかじめ室温において約 24 時間吸水させたケン種子に  $\gamma$  線を照射して、その発芽率におよぼす影響について試験した。照射線量は 1,250 r, 2,500 r, 5,000 r, …… , 320,000 r である。
- 2) 照射のすべての区に発芽が認められた。
- 3) 照射線量 5,000 r までの発芽率は対照区と有意の差を認めない。
- 4) 照射線量 10,000 r 以上では発芽率は極めて低い。

### 文 献

- 1) 川谷 豊彦, 藤田早苗之助, 大野 忠郎: 衛生試

報, 80, 162 (1962)

### Summary

**Influence of  $\gamma$ -Ray Radiation on the Germination of *Papaver somniferum* L.** Toyohiko KAWATANI and Sanaenosuke FUJITA

1) Seeds of *Papaver somniferum* L. were pre-soaked for about 24 hours at room temperatures prior to  $\gamma$ -ray radiation, influence of which on

the germination percentage were tested. The doses were 1,250, 2,500, 5,000, ....., 320,000 r.

2) Germination was observed at the whole dose levels.

3) Significant difference in the germination percentage was not observed between the doses below 5,000 r and the control.

4) Germination percentage was very low at the doses above 10,000 r.

(昭和 38 年 5 月 31 日受付)

## 放射線照射がケンのアヘン生産におよぼす影響 (第1報)

川谷豊彦・藤田早苗之助・大野忠郎

さきに著者らはケン種子に  $\gamma$  線を照射し照射がケンの発芽および初期生育におよぼす影響について報告したり、今回は実験の範囲をさらに拡大し、ケン種子に  $\gamma$  線を照射しこれを普通の方法で栽培してアヘン採取を行なうとき、 $\gamma$  線照射のアヘン収量、品質におよぼす影響について詳細な観察を試みた。実験は1960~61年に行なわれたものである。

この実験を実施するに当り  $\gamma$  線照射につき御配慮を賜った本所特殊薬品部長沢住熊部長、ならびに照射を行なわれた城戸靖雅技官に謝意を表する。

### 実験材料および方法

#### 1. 材料

一貫種。

#### 2. 照射

ケン種子はあらかじめ室温において満1昼夜吸水せしめ  $^{60}\text{Co}$  による  $\gamma$  線の照射処理を行なった。照射日、1960年10月19日。照射線量は下記のとおりである。

K	A	B	C	D	E
対照区	500 r	1,000 r	1,500 r	2,000 r	2,500 r

#### 3. 栽培概要およびアヘン採取

1960年10月20日、1うね(10m)当りに1g播種。各試験区3うねずつとしランダム配置。条間90cm。基肥、10アール当り。(以下同じ、単位kg) 硫安 8.2, 過石 8.2; 塩加 3.0。第1回追肥、1961年1月24日、硫安 5.3, 過石 5.3, 塩加 1.0。第2回追肥、4月26日、堆肥 750, 魚油粕 30, 硫安 22.5, 過石 30, 塩加 15, 尿素 3.7。薬剤散布5回。

アヘン採取は慣行により切取4回。着手5月23日、

終了5月30日。

#### 4. 調査項目

1) 個体別観察 各試験区からランダムに1うねを選び、個体的に下記について調べた。

1果当りアヘン収量	風乾重
採汁可能回数	
さく果の横径	6月2日~6日調査
さく果の縦径	"
さく果の柱頭片の数	"
さく果の重量	
さく果当りの種子重	9月25日調査
地上部全重	6月2日~6日調査
収穫時の草丈	"

2) うね別観察 各試験区2うねずつについて、うね全体としてアヘンを採取し下記を調査した。

モルヒネ含有率	絶対乾燥重に対する%。 日局六により、各区2分析
1果当りアヘン収量	うね当りアヘン収量から算出
1果当りモルヒネ収量	うねとしてのアヘン収量、モルヒネ含有率から算出

### 実験結果

実験結果は Table 1, 2 のとおりである。

#### 1. 1果当りアヘン収量

線量  $A_i$  が増大するにつれて1果当りアヘン収量  $\bar{A}$  は減少する。この関係は直線的で次式が求められた。

Table 1. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the opium and seed yields per capsule, development of capsules, etc.

(Radiation of seeds, Oct. 19, 1960 ; opium collection and measurement per plant)

Dose	n <sup>a)</sup>	Opium yield per capsule (mg)	Possible no. of opium collection	Capsule				Seed yield per capsule (g)	Wt. of tops (g)	Plant height at harvest (cm)
				Diameter (cm)	Height (cm)	No. of rays	Wt. (g)			
K(Control)	66	235.61	3.30	5.43	8.26	12.83	40.76	1.102	286.96	129.65
A 500 r	80	221.06	3.38	5.49	8.26	12.76	43.10	1.371	290.14	127.83
B 1,000 r	79	217.60	3.25	5.37	8.06	12.87	40.71	1.499	294.83	129.28
C 1,500 r	78	211.06	3.46	5.46	8.00	12.91	41.01	1.151	287.21	129.00
D 2,000 r	85	177.54	3.00	5.16	8.01	12.65	38.19	1.363	254.97	128.91
E 2,500 r	84	193.17	3.13	5.31	8.01	12.57	39.53	1.149	259.59	127.04
A.M.D. (0.05) <sup>b)</sup>		39.13	0.29	0.25	0.26	0.37	3.80	0.375	35.35	3.09
A.M.D. (0.01)		46.28	0.34	0.29			4.49	0.444	41.80	
A.M.D. (0.001)		53.27	0.40	0.33			5.23			

a) number of plants examined

b) approximate value of minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

Table 2. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the morphine percentage, and, opium and morphine yields per capsule

(Radiation of seeds, Oct. 19, 1960; opium collection per row (10 m in length))

Dose	Morphine content (%) <sup>a)</sup>	Opium yield per capsule (mg)	Morphine yield per capsule (mg)
K (Control)	12.09	245.65	28.40
A 500 r	11.04	227.95	24.01
B 1,000 r	11.09	221.50	23.52
C 1,500 r	11.64	207.20	22.99
D 2,000 r	12.70	191.70	23.29
E 2,500 r	11.16	162.60	17.23
M.D. (0.05)	4.06	53.16	.827
M.D. (0.01)		75.25	11.07
M.D. (0.001)		103.32	17.00

a) on moisture free basis

$$\hat{\mu} = 208.04 - 0.0200 (A_i - 1, 250) \quad \text{mg}$$

信頼限界は、危険率 (0.05) のとき

$$\hat{\mu} \pm 1.965 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

" (0.01) のとき

$$\hat{\mu} \pm 2.587 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

$$\text{ここに, } V(\hat{\mu}) = 15.41614 + 2.13 \times 10^{-5} \times$$

$$(A_i - 1, 250)^2$$

うね別にアヘンを採取し1果当りアヘン収量を算出した場合も Table 2 に示すとおり  $\hat{\mu}$  は  $A_i$  が増大するにつれて直線的に低下する。

$$\hat{\mu} = 209.43 - 0.03076 (A_i - 1, 250) \quad \text{mg}$$

信頼限界は、危険率 (0.05) のとき

$$\hat{\mu} \pm 2.447 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

" (0.01) のとき

$$\hat{\mu} \pm 3.707 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

ここに、 $V(\hat{\mu}) = 14.856 + 2.04 \times 10^{-6} \times (A_t - 1, 250)^2$

なお上記の関数は、各区の観察個体数が不等なのでその代表値として調和平均をとり求めたものであるから、近似的なものであることを断わっておかねばならない。

各区間の観察個体数が不等の場合、任意の2つの水準を比較する Duncan の新しい方法 (1957) に従えば次のようになる。

まずアヘン収量 (mg) を少ないものから多い方に並べると、

D	E	C	B	A	K
177.54	193.17	211.06	217.60	221.06	235.61

有意水準 (0.05) において、下記の同一のカッコに含まれない任意の2水準の比較は有意であり、同一のカッコに含まれるものは有意でない。

(DE) (ECBA) (CBAK)

有意水準 (0.01) のときは、

(DEC) (ECBA) (CBAK)。

Table 1 に示した Tukey 法 (q 検定) の近似 A.M.D. (0.05) により Duncan (1955) 流に図示すれば、

D	E	C	B	A	K
---	---	---	---	---	---

となる。下線をつけた任意の2水準間の比較は有意でない。

A.M.D. (0.01) のときは、

D	E	C	B	A	K
---	---	---	---	---	---

2. モルヒネ含有率

各区間に有意差は認められない。

3. 1果当りモルヒネ収量

線量  $A_t$  が増大するにつれて、1果当りモルヒネ収量  $\hat{\mu}$  は減少する。この関数形として次式が求められた。

$$\hat{\mu} = 23.24 - 3.346 \times 10^{-3} (A_t - 1, 250) - 3.603 \times 10^{-6} \times \{(A_t - 1, 250)^2 - 1.2625 \times 10^6 (A_t - 1, 250)\}$$

mg

信頼限界は、危険率 (0.05) のとき

$$\hat{\mu} \pm 2.447 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

" (0.01) のとき

$$\hat{\mu} \pm 3.707 \sqrt{V(\hat{\mu})}$$

ここに、 $V(\hat{\mu}) = 0.3215 + 4.409 \times 10^{-7} (A_t - 1, 250)^2 + 1.905 \times 10^{-18} \times \{(A_t - 1, 250)^3 - 1.2625 \times 10^6 (A_t - 1, 250)\}^2$

4. アヘン採取可能回数

A.M.D. (0.05) のとき、D E B K A C

K, A, B, C 相互間には有意差は認められないが、D区 (2,000 r) E区 (2,500 r) は分泌中止さく果が増加するため、採取可能回数は減少する。

5. さく果の横径

A.M.D. (0.05) のとき、D E B K C A

6. さく果の縦径

区間に有意差は認められない。

7. さく果の柱頭片の数

区間に有意差は認められない。

8. さく果重量

A.M.D. (0.05) のとき、D E B K C A

9. さく果当り種子収量

A.M.D. (0.05) のとき、K E C D A B

B区 (1,000 r) のものは対照区より収量が多い。

10. 地上部全重

A.M.D. (0.05) のとき、D E K C A B

11. 収穫時の草丈

区間に有意差は認められない。

摘 要

1) あらかじめ1昼夜吸水させたケン種子に  $\gamma$  線を照射し、照射の1果当りアヘン、モルヒネ、および種子収量、モルヒネ含有率、採汁可能回数、生育特にさく果のそれなどにおよぼす影響について観察した。線量は 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500 r である。

2) 1果当りアヘンにおいては、線量 ( $A_t$ ) とアヘン収量 ( $\hat{\mu}$ ) との間には直線的関係が認められた。

$$\hat{\mu} = 208.04 - 0.0200 (A_t - 1, 250) \quad \text{mg}$$

3) モルヒネ含有率には照射の影響は認められなかった。

4) 1果当りモルヒネ収量は線量が増すにつれて減少する傾向が認められた。

5) 柱頭片の数、さく果の縦径、収穫時の草丈には照射の影響は認められなかった。

6) 採汁可能回数は 2,000 r 以上の線量照射のとき減少する傾向が認められた。

- 7) 1果当り種子収量は1,000 r 区は対照区より多収であった。  
 8) さく果の横径、重量、地上部全重は線量との間に一定の傾向は認められぬようである。

### 文 献

- 1) 川谷 豊彦, 藤田早苗之助, 大野 忠郎: 衛生試験, 80, 162 (1962)

### Summary

**Influence of  $\gamma$ -Ray Radiation on the Opium Production of *Papaver somniferum* L. I.**  
 Toyohiko KAWATANI, Sanaenosuke FUJITA, and Tadaro OHNO

1) Seeds of *Papaver somniferum* L. were presoaked for about 24 hours prior to  $\gamma$ -ray radiation, influence of which on the opium, morphine, and seed yields per capsule, morphine percentage, possible number of milky juice collection, growth of tops especially capsule, etc.

were observed. The doses were 500 r, 1,000 r, 1,500 r, 2,000 r and 2,500 r.

2) With regard to the opium yield per capsule, relationship between the dose ( $A_i$ ) and the opium yield ( $\hat{\mu}$ ) was shown to be linear.

$$\hat{\mu} = 208.04 - 0.0200 (A_i - 1,250) \text{ mg}$$

3) The morphine percentage was not affected by the radiation.

4) The morphine yield per capsule showed a tendency to reduce with increase of the doses.

5) The number of rays and height of capsules, and the plant height were not affected by the radiation.

6) The possible number of milky juice collection showed a tendency to reduce at the doses above 2,000 r.

7) The seed yield per capsule was higher in the dose 1,000 r than in the control.

8) A certain definite relationship of the diameter and weight of capsules, and the weight of tops to the dose did not seem to exist.

(昭和38年5月31日受付)

## ブルガリヤ産 *Artemisia maritima* L. var. *salina* KOCH の試作栽培について

川谷 豊彦・大野 忠郎

*Artemisia maritima* L. var. *salina* Koch はブルガリアの黒海海岸に自生する植物で, Tomowa (1951, 1955)<sup>1,2)</sup> によりサントニンを含み, その有望な資源植物であることを見出されたものである。

著者らは本邦における栽培の価値を検討する目的で, 1960年ブルガリアの上記 Tomowa 氏より入手した本植物の種子を, 1961年春期露地苗床に播種し, 同年6月本圃に定植し, その形態, 染色体数およびサントニン含量などについて調査した。

種子を分譲されたブルガリア科学アカデミー Wissenschaftliches Forschungsinstitut für Pharmazie の Dr. M. Tomowa に謝意を表する。

### 材料および方法

#### 1. 材 料

1960年6月ブルガリアの Wissenschaftliches Forschungsinstitut für Pharmazie の Dr. M. Tomowa より分譲されたもの。

#### 2. 方 法

1) 栽培の概要 1961年3月29日露地苗床に播種し管理はクラムヨモギに準じて行なった。同年6月14日, 草丈12~20 cm, 主茎の葉数15~20枚のとき本圃(条間60 cm, 株間30 cm)に定植した。肥料は10アール当り(以下同じ)硫安39 kg, 過石54.5 kg, 塩加18.4 kgを苗の活着後に, 生育2年目には4月5日, 堆肥375 kg, 硫安48.75 kg, 塩加15 kgを施した。

収穫は1年株(1961年)は5うねをランダムに選り, 10月9日うね別に収穫した。また別に個体別に *salina* 型(枝先の下垂するもの)のものと, *monogyna* 型(枝の直立するもの)のものとを各20個体ずつ選り収穫した。2年株(1962年)については6月1日から9月11日まで10日ごとに2うねずつ11回収穫し, 収草量, サントニン含量の時期的変化を追求した。

2) 染色体数の観察 Tjio & Levan (1950) の方法で処理した根端細胞を用いた。ただし 8-oxy-

quinoline (0.002 mol) 液処理は6時間, 加水分解は N-HCl 60° で7分, 染色は acetic orcein によった.

3) サントニン定量 定量は有用部(風乾草からこき落した花らい, 葉, 小枝からなる)について, 柴田, 三橋, 原岡, 川谷<sup>3)</sup>の方法によった. 含有率は絶対乾燥重に対するパーセントで表わした. サントニンの同定は融点によった.

4) 水蒸気蒸留 風乾草中のサントニン含量におよぼす影響を知るため2年株について小型蒸留器(1回の仕込量 2~4 kg 程度のもの)で水蒸気蒸留を行ない, 同一検体につき蒸留前後のサントニン含量を定量比較した.

実験結果および考察

染色体数 1961年6月16日, 2n=36 を観察決定した.

形態 1961年12月から1962年1月の間に行なった形態調査の結果は下記のごとくで, *salina* 型を主として少数の *monogyna* 型を混じている. 根の不定

芽はほとんど発育しない.

	<i>salina</i> 型	<i>monogyna</i> 型
枝	上方または水平に開出, 枝先は下垂	直立
頭花	下垂	直立
包の数 <sup>a)</sup>	8~14, 平均11.3	6~16, 平均10.9
小花の数 <sup>a)</sup>	1~9, 平均5.0	1~9, 平均6.1
種子の数 <sup>b)</sup>	0~5, 平均1.21	0~3, 平均1.07

a) 観察頭花数: 200

b) " : 100

生育, 収草量およびサントニン含量 1961年10月9日収穫の1年株の生育, 収草量, サントニン含量は Table 1 のとおりである. 1年株の10アール当り風乾収草量: 69.1 kg, サントニン含量: 0.76% で, 収草量はクラムヨモギ程度であるが, サントニン含量はクラムヨモギには劣るがミブヨモギ(最高7月11日~20日収穫の0.66%)<sup>3)</sup>にまさっている.

Table 1. Yield of crop and santonin content in *A. maritima* L. var. *salina* Koch cultivated at Kasukabe (1961)

(First year crop, sown on March 29, 1961; harvested on Oct. 9, 1961)

Height (Width) of plants (cm)	Yield of crop per 10 ares (kg)			Santonin <sup>a)</sup> (%)
	Fresh crop	Air-dried crop	Air-dried useful crop	
63 (42)	223.4	69.1	39.1	0.76

a) Santonin % ; samples analysed were air-dried material of useful crop consisting of flower-heads, leaves, and tender stems, freed from thick and coarse ones, and santonin percentage was calculated on absolute dry basis.

また1年株の *salina* 型のもと *monogyna* 型のもとを個別にサントニン含量を定量した結果は下記のごとくで両者の間に有意差は認められない.

	<i>salina</i> 型	<i>monogyna</i> 型
分析個体数	20	20
サントニン含量(%)		
範 囲	0.42~1.54	0.30~1.40
平 均	0.973	0.790
L.S.D. (0.05)	0.195	

各個体のサントニンの融点を測定しすべて α サントニンであることを確認した.

生育2年株(1962年)について6月1日から9月11日まで10日ごとに11回収穫し, 生育, 収草量, サントニン含量の時期的変化を追求した結果は Table 2 のとおりである. 10アール当り風乾収草量の変動は176 kg (9月11日)~425 kg (7月11日), サントニン含量の変動は0.45% (9月11日)~0.94% (8月1日, 同11日)で, 風乾収草量の最高期は7月中旬, サントニン含量の最高期は8月上中旬であった. 収草量とサントニン含量をとともに考慮すれば7月中旬から8月上中旬が収穫の適期ではないかと思われる. サントニン含量は1年株と同様にクラムヨモギには劣るが, ミブヨモギにはまさっている. また収草量はクラムヨモギ, ミブヨモギに匹敵する. また2年株でも豊

Table 2. Seasonal variation of santonin content and yield of crop of *A. maritima* L. var. *salina* Koch cultivated at Kasukabe (1962)

(Second year crop, sown on March 29, 1961)

Serial No. of harvest	Date of harvest	Height of plants (cm)	Yield of air-dried crop per 10 ares (kg)	Santonin <sup>a)</sup> (%)
1	VI 1	55	192	0.57
2	VI 12	62	229	0.55
3	VI 21	64	287	0.81
4	VII 2	66	331	0.54
5	VII 11	78	425	0.69
6	VII 21	69	299	0.69
7	VIII 1	76	342	0.94
8	VIII 11	71	310	0.94
9	VIII 21	85	259	0.62
10	IX 1	87	215	0.63
11	IX 11	81	176	0.45
M.D. (0.05) <sup>b)</sup>			218	0.25
M.D. (0.01)				0.33
M.D. (0.001)				0.42

a) Santonin %; analysed and calculated in the same way as shown in Table 1

b) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

富な結実が認められ採種が可能であったことは注目される。(クラムヨモギ, ミブヨモギはともに春日部では結実しにくい。)

本種はサントニン含量はミブヨモギにまさり収草量も多いので、本邦におけるサントニンの1原料植物と

なり得る可能性がある。

水蒸気蒸留試験 1962年収穫の風乾草(各収穫時期のものを合併したもの)につき、水蒸気蒸留4回を行なった結果0.65~0.95%、平均0.787%の精油を得た。

Table 3. Influence of vapour distillation on the santonin content in *A. maritima* L. var. *salina* Koch

Before distillation	After distillation	L.S.D. (0.05)
0.633 <sup>a)</sup>	0.650	0.065

a) Santonin %; analysed and calculated in the same way as shown in Table 1

また同一検体につき蒸留前後のサントニン含量を定量した結果はTable 3のとおりで、蒸留の前後の間に有意差は認められなかった。すなわち、風乾草中のサントニン含量は蒸留によって影響を受けない。

### 摘 要

1961~1962年春日部においてブルガリア原産の

*Artemisia maritima* L. var. *salina* Koch の試作を行なった。

1) *Artemisia maritima* L. var. *salina* Koch の染色体数は $2n=36$ であることを決定した。

2) 生育1年株(1961年10月9日の収穫)で10アール当り風乾草69.1kg、サントニン含量0.76%であった(Table 1)。



3) 生育2年年株について1962年6月1日から9月11日まで収草量, サントニン含量の時期的変化を追求した。風乾収草量の最高は7月11日(425 kg), サントニン含量の最高は8月1日, 8月11日(ともに0.94%)であった(Table 2)。

4) 風乾草について水蒸気蒸留を行なった結果, 0.65~0.95%, 平均0.787%の精油を得た。

5) 風乾草中のサントニン含量は水蒸気蒸留によって影響されない(Table 3)。

### 文 献

- 1) M. Tomowa : *Bull. Inst. bot., Acad. bulg. Sci.*, 2, 141 (1951)
- 2) M. Tomowa : *Ibid.*, 4, 277 (1955)
- 3) 柴田, 三橋, 原岡, 川谷 : 薬誌, 71, 161 (1951)

### Summary

#### On the Trial Cultivation of *Artemisia maritima* L. var. *salina* Koch of Bulgarian Origin

Toyohiko KAWATANI and Tadarō OHNO  
Trial cultivation of *A. maritima* L. var. *salina*

Koch of Bulgarian origin was carried out during 1961~1962 at Kasukabe.

1) It has been determined that the somatic chromosome number of *A. maritima* L. var. *salina* Koch is 36.

2) Yield of air-dried crop per 10 ares of the first year growth, harvested on October 9, 1961 was 69.1 kg, the santonin content being 0.76% on absolute dry basis (Table 1).

3) Seasonal variation of the yield of crop and the content of santonin in the second year growth was followed during June 1 to September 11, 1962. The largest yield of air-dried crop per 10 ares was on July 11 (425 kg), and the highest content of santonin on August 1 and 11 (both 0.94%) (Table 2).

4) The content of essential oil was 0.65~0.95%, the average being 0.787%.

5) The santonin content in air-dried crop is not affected by vapour distillation (Table 3).

(昭和38年5月31日受付)

### 春日部における *Duboisia myoporoides* R. Br. の栽培について

川谷豊彦・藤田早苗之助・久保木憲人\*・原定雄\*・真木義次\*

*Duboisia* は主としてオーストラリアに自生する植物で *D. myoporoides* R. Br., *D. Leichhardtii* F. MUELL., *D. Hopwoodii* F. MUELL. の3種があるが, 前2種はヒヨスチアミン(アトロピン)および/あるいはヒヨスチン(スコポラミン)の含有率がきわめて高く, 注目されている。また第3の種はこれらのアルカロイドを含有せず, ニコチンを多量に含有する。川谷・宮崎<sup>1)</sup>は *Duboisia* の栽培についての総説を紹介したが, ここには春日部において1958年から始めている *D. myoporoides* の栽培(生育とアルカロイド含量)について報告する。

種子を分譲された深州 Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization の William Hartley 氏に感謝する。また分析について多大の御援助を戴いた群馬大学内分秘研究所 滝川教授に厚く御礼申し上げる。

#### 実験材料

D-2 入手: 1958年7月19日, 産地: Acacia Plateau, N.S.W.

D-3 入手: 1960年2月10日, 産地: Stock at Darra, suburb of Brisbane, Q'ld

#### 発芽について

無燂房温室内で3月(4月), 8月, 10月, 12月に木箱に播種し観察した結果, 発芽率はおおむね, 2~3%, 最もよいもの(D-3を1960年3月下旬に播種したもの)で8%であった。

発芽所要日数は18日~60日, 前記D-3(1960年3月下旬播種)の場合35日~80日, 平均48.4日であった。

このように発芽率のわるいのは, 種子の充実がよくなかったためと思われる。Hillsら(1946)によれば個々の成木より得られた一連の種子のサンプルのなかで充実種子の数は0~80%, 平均13%であったとい

\* 群馬大学医学部付属病院薬局

うり。また良好な種子で温度が 60°F 以上ならば播種後 6 週間以内にかなりの発芽が得られるというり。

#### 生育について

生育は非常に盛速である。D-3 を春期播種したの 39 株の観察によれば、年内伸長の停止するまでに草高 54cm (株張 43cm)、翌年 (2 年株) で 210 cm (株張 110cm) となった。D-2-B (後述) の 3 年株は 1961 年 5 月頃開花したが結実には至らなかった。

#### 越冬について

1. 1 年株 D-3 の 1 年株 5 個体を用い冬期間露地で越冬試験を行なったが全部枯死し越冬不能であった。

2. 2 年株以上の経年株 D-2 の 2 株 (個体 B, D) についての観察では 2 株ともに越冬した。もちろん冬期間は生長を停止するが、D-2-D は落葉することなく完全に越冬、D-2-B は全枝条は枯死したが、春期になって主幹の下半部から萌芽しおう盛な生育を再開した。かくて 3 年株となった D-2-D は 1961 年夏期枯死 (後述) したが、D-2-B は次の冬期間落葉することなく完全越冬した。

D-3 の 2 年株 27 個体 (1961 年夏期の湿害に堪えたもの) についての観察では、冬期間全枝条が枯死したが、内 4 株が翌春株元から萌芽し生長を再開した。この湿害により株が多少衰弱の傾向があったから、もし湿害がなければ越冬歩合は完全かあるいはもっと高かったであろう。

3. 総括 春日部においては 1 年株では越冬不能、2 年株以上の経年株ならば、大体において、越冬可能と思われる。

#### 湿害について

1961 年夏期のいわゆる集中豪雨は未曾有の激甚なものであった。

	雨量 (mm)	雨天日数
6 月下旬	342.3 (62.72)	7 (5.64)
7 月上旬	104.2 (42.96)	5 (5.16)

カッコ内は当場の 1927~51 年の 25 箇年の平均数字

これによって、同年 8 月 D-3 (1960 年 3 月播種) を 1961 年 4 月本圃に定植 (1.8m × 1.8m) した 2 年株 39 株中 12 株が枯死した。なお 3 年株 D-2-D もこの集中豪雨によって枯死した。

本植物は過湿に敏感というほどではないが、未曾有の豪雨に加えて当場の土壌が粘土質で排水不良の傾向があって、湿害を助長したと考えられる。

#### 挿木繁殖について

D-2 の 2 年株の枝の先端部約 10cm をとり 1960 年

6 月挿木を行なった。約 2 箇月の後活着は殆んど 100% であった。

#### アルカロイド含量

1. 実験材料 D-2 の 2 年株 4 個体 A, B, D, D<sub>1</sub> を、1960 年 8 月 13 日および 8 月 30 日に収穫した風乾葉である (歩留約 20%)。

収量はそれぞれ 13, 15, 16, 8; 54, 52, 60, 10 (単位 g) であった。

2. 総アルカロイド含量の定量 乾燥葉を粉末としその 10g を正確に計り、円筒ろ紙にとりソクスレー抽出器に入れ、強アンモニア試液 3ml, エタノール 10ml およびエーテル 20ml の混液を加えて潤しよく混和し、1 夜放置したのち、エーテルを用いて抽出液がアルカロイドの反応を呈しなくなるまで 3 時間以上抽出する (指示薬 マイヤー試液)。抽出液を水浴上で蒸発し残留物をエーテル 10ml に溶かし、これに 0.5N 硫酸 30ml を加えてよくふりまぜながら水浴上でエーテルが完全に除かれるまで加温する。冷後ろ過し残留物を水 5ml ずつで 2 回洗液と洗液を合し、アルカリ性とし (アンモニア試液) 直ちにクロロホルム 10ml ずつで 3 回抽出する。

クロロホルム液を合し、無水硫酸ナトリウム 2g を加えよくふりまぜ、10 分間放置後ろ過し、容器およびろ紙上の残留物をクロロホルム 5ml ずつで 2 回洗い込む。全ろ液を水浴上で蒸発し、15 分加熱したのちクロロホルム 5ml に溶かし再び水浴上で蒸発乾固し 15 分間加熱する。

この残留物をクロロホルム 5ml に溶かし、0.02N 硫酸 10ml を加え水浴上で加熱しクロロホルムを除き、冷後過じようの酸を 0.02N-NaOH で滴定する (指示薬 メチルレッド試液)。

0.02N 硫酸 1ml = 5.787mg ヒオスチアミン

3. アルカロイドの種類とその比率 総アルカロイドを滴定したあとの液に希アンモニア溶液 3ml を加え分液漏斗に移し、水 10ml, 5ml ずつで 2 回、クロロホルム 25ml で 1 回滴定容器を洗い、洗液を分液漏斗に合する。ふりまぜてクロロホルム層を分け、水層は更にクロロホルム 20ml ずつで 3 回抽出し、各クロロホルム層は同じ水 10ml を用いて洗ったのち合し、クロロホルムを留去する。この残留物にエタノール 3ml を加え、水浴上で蒸発乾固した残留物を総アルカロイドが約 1% (w/v) になるように、正確に一定量のクロロホルムに溶解する (Table 1 から計算)。

このクロロホルム溶液 (以下試料クロロホルム液という) を用いてペーパー・クロマトグラフィーを行ない、含有アルカロイドの種類決定、ならびに含有ア

ルカロイド相互間の比率を求めた。

ペーパー・クロマトグラフィーには東洋ろ紙 No. 51 をあらかじめ Sørensen リン酸緩衝液 (pH 7.4) に約 5 分間浸し 5 時間以内風乾したものをを用いた。展開溶媒は水飽和ブタノール、展開の時間は 10 時間とし、下降法で一定条件のもとで行なった。

試料クロロホルム液はろ紙の原線上に幅 3mm 以内の帯状に 0.005~0.07ml のものまで塗布し展開した。なお対照としてヒヨスチアミンおよびスコポラミンのクロロホルム標準液を同様条件下で展開した。

展開後風乾したろ紙に Dragendorff 試液を噴霧すると、試料を展開したろ紙から 2 個のダイダイ色の著明なスポットが認められ、Rf 値からヒヨスチアミンとスコポラミンのそれに一致した。また色調も一致した。

試料スポット	No. 1	Rf=0.61
"	No. 2	Rf=0.84
ヒヨスチアミン		Rf=0.61
スコポラミン		Rf=0.84

このことから試料は明らかにヒヨスチアミン、スコポラミンを含有し、両者が主成分と考えられる。

Dragendorff 試液で発色した展開ろ紙は速かに風乾

し、直ちに面積計算装置付の自記濃度計 (カヤガキ Lumicon P 型) にかけてスポットの測定を行なった。(フィルターは 430mp を用いた。)

前述のごとく試料中に含まれるアルカロイドはヒヨスチアミン、スコポラミンが大部分と考えられるので、ヒヨスチアミン量のみについて検討し、その量を総アルカロイド量から差引いたものをスコポラミンとした。

すなわちヒヨスチアミン・クロロホルム標準液の種々の量について、同一条件下でクロマトグラフィーを行ない、Dragendorff 試液で発色せしめたクロマトグラムを試料におけると同様に濃度計にかけて測定した。このときヒヨスチアミン量と測定値の関係の検量曲線を作ると 50~150 $\gamma$  の範囲内で直線の関係が得られた。この関係から試料中のヒヨスチアミン量を定め、試料中のヒヨスチアミン以外のアルカロイドはスコポラミンとして計算した。

4. 実験結果 Table 1 のとおりで総アルカロイド含量は 0.35~0.70%, スコポラミン対ヒヨスチアミンは 5~7:1 で総アルカロイド中スコポラミンが圧倒的に優勢である。

Table 1. Content of total alkaloid, scopolamine versus hyoscyamine in the leaf of *Duboisia myoporoides*, cultivated at Kasukabe (1960)

(Second year growth)

Sample no.	Plant	Harvest	Total alkaloid (as hyoscyamine %) <sup>a)</sup>	scopolamine : hyoscyamine
26	A	13 VIII	0.35	6.5~7.0 : 1.0~1.5
27	B	"	0.70	6.5~7.0 : 1.0~1.5
28	D	"	0.59	7.5~8.0 : 1.0~1.5
29	D <sub>1</sub>	"	—	—
30	A	30 VIII	0.37	7.0 : 1.0
31	B	"	0.42	7.0 : 1.0
32	D	"	0.61	7.5~8.0 : 1.0~1.5
33	D <sub>1</sub>	"	0.45	7.5~8.0 : 1.0~1.5

a) on moisture free basis

Hills らによれば本種には 三つの遺伝型があることが分かっている<sup>1)</sup>。

i) 北部型 一般的な型でヒヨスチン型とも呼ばれ、ニューサウスウェールズからクインズランドの北部にかけて東海岸に分布する。総アルカロイド 1.0~4.6%, スコポラミンは総アルカロイドに対し (以下同じ) 4~67%, ヒヨスチアミン 0~38%, ノルヒヨ

スチアミン 0~57%。

ii) 南部型 南部ニューサウスウェールズすなわち Gosford から Shoalhaven River の間に分布する。総アルカロイド 0.6~5.3%, スコポラミン 0~22% (大体 10% 以下), ヒヨスチアミン 22~66%, ノルヒヨスチアミン 11~36%。

iii) 中間型 *Leichhardtii* のしめる南東クイン

スランドの最南端の地域で、両種が一緒に生育している場所にある。両種の種間雑種とみなされ、スコポラミンと／あるいはヒヨスチアミンを含有し、更におそらくノルヒヨスチアミンと思われるアルカロイドを多量含有することがしばしばある。

著者らの得た成績は明らかに北部系に属している。また季節的变化はまだ検していないけれども総アルカロイド含量は少ないようである。ちなみに、Hillsら(1946)によれば葉のアルカロイド含量は発芽後9箇月ぐらいで、成木と同じ程度に高くなるという。

### 総 括

*D. myoporoides* は耐寒性強く、2年生ならば露地で越冬可能である。著者らの得たデータは総アルカロイド含量低く(0.35~0.70%)、またスコポラミン対ヒヨスチアミンの比率は5~7:1でヒヨスチン型であった。しかし南部型には総アルカロイド5.3%しかもほとんどアトロピンよりなるという個体もあることが分かっている。

栄養繁殖はきわめて容易であるから個体選抜により本邦のアトロピン資源となし得る可能性をもっている。

## ガラントミン原料としてのナツズイセンの試作栽培について

川谷 豊彦・石原 活磨・大野 忠郎

小児麻痺の後遺症の緩解に効果のあるガラントミンの資源として本邦に自生するヒガンバナ科のナツズイセン(*Lycoris squamigera* MAXIM.)の栽培価値を検討する目的で、1961年長野県および群馬県から自生のリン茎をしう集して試作を行ない開花、生育、ガラントミン含量の時期的変化、リン茎の増量性などについて調査したので報告する。

ガラントミン定量につき御配慮を賜った本所生薬部山ロー孝部長、小川秀子技官に謝意を表する。

### 実験材料および方法

#### 1. 材 料

1961年7月下旬から8月上旬にかけて群馬県沼田市、長野県辰野町、同茅野市からリン茎をしう集した。材料の内訳はTable 1のとおりである。

#### 2. 方 法

### 文 献

- 1) 川谷豊彦, 宮崎幸男: 熱帯農業, 6, 129(1963)

### Summary

#### On the Cultivation of *Duboisia myoporoides* R. Br. at Kasukabe

Toyohiko KAWATANI, Sanaenosuke FUJITA, Norito KUBOKI, Sadao HARA, and Yoshitsugu MAKI

1. At Kasukabe (near Tokyo), *Duboisia myoporoides* R. Br. is able to overwinter in the open air with grown-up plants older than the second year growth, but unable with the first year growth.

2. The content of total alkaloid in the leaf of the second year growth, harvested in August, 1961, was 0.35~0.70% on moisture free basis.

The ratio of the alkaloidal content of scopolamine versus hyoscyamine was 5~7:1, being of the hyoscine type.

3. Cutting of the plant being very easy, *Duboisia myoporoides* has the possibility of becoming a new atropine (or scopolamine) source by selection in this country.

(昭和38年5月31日受付)

リン茎の産地別、球重別、芽数別、およびリン茎の種類別(単球と割球の別、すなわち前年の1球がそのまま増大したものと、前年の1球が1年間に自然に数個に分球したものと)に分けて定植した。

Table 1のものを9.3アールの圃場に定植した。定植1961年8月8日、条間60cm、株間25cm。無肥料栽培。球重の階級は階級の中心5g, 15g, 25g, ……、135g, ……のように10g単位とした。

ガラントミンの定量は山口、小川、名取<sup>1)</sup>の方法によるもので、厳密にはガラントミン・フラクションの定量である。

### 実験結果ならびに考察

#### 1. 開花に関する調査(1961年)

定植後間もなく開花期となった。開花株率(定植株数に対する開花株数の百分率)と諸条件の関係について、

Table 1. Materials of *Lycoris squamigera* used in cultural experiments

Origin	No. of buds per bulb	Kind of bulbs				Total	
		Single bulb <sup>a)</sup>		Divided bulb <sup>b)</sup>			
		No. of bulbs	Weight (kg)	No. of bulbs	Weight (kg)	No. of bulbs	Weight (kg)
Numata	1	2,848	107.520	117	4.053		
	2	105	8.000				
	3	6	0.806	uncertain	0.198		
	Total	2,959	116.326		4.251	3,076	120.577
Tatsuno	1	645	31.539	232	10.357		
	2	215	21.330	14	1.239		
	3	125	16.262	4	0.432		
	4	41	6.508	7	0.956		
	5	5	0.812				
	6	1	0.141				
	8	1	0.225				
	10	1	0.116				
	Total	1,034	76.933	257	12.984	1,291	89.917
	Chino	1	442	23.984	186	7.537	
2		150	14.218	28	2.275		
3		74	8.434	9	0.926		
4		24	3.031	3	0.463		
Total		690	47.667	226	11.206	916	60.868
Total						5,273	271.362

a) that which developed ordinarily from one bulb of the previous year

b) that which developed, naturally divided from one bulb of the previous year

て述べる。

1) リン茎の種類別および産地別による開花株率  
その結果は Table 2 のとおりで、開花株率は産地によっても、リン茎の種類によっても変わらない。

Table 2. Percentage of plants having flowered and kind of bulbs

Origin kind of bulbs	Numata	Tatsuno	Chino
Single bulb	4.32	11.94	22.46
Divided bulb	0.78	8.95	2.65

2) 単球における芽数と産地別による開花株率  
その結果は Table 3 のとおりで、開花株率は産地によって異なるが、芽数によっては変わらない。産地に有意差が出たのは、定植から開花までの期間が短かく、リン茎を採集してから定植するまでの産地による差が現われたものと思われる。

Table 3. Percentage of plants having flowered and number of buds per bulb (Single bulb)

Origin No. of buds per bulb	Numata	Tatsuno	Chino
1	4.4	7.0	22.9
2	2.6	19.5	21.3
More than 3	12.5	18.9	22.4

3) 単球の1芽、2芽、3芽のおのおのにおける産地別、球重別による開花株率 芽数に関係なく、開花株率は産地によっても、球重によっても変化する。また球重が増すにしたがって、開花する個体が多くなる傾向が認められる。Table 4 に単球1芽の場合を示す。

Table 4. Percentage of plants having flowered (Single bulb with one bud)

Wt. class(g)	Origin		
	Numata	Tatsuno	Chino
5	0	0	0
15	0	0	0
25	0	0	0
35	1.69	0	0
45	5.73	5.26	3.75
55	5.92	0	15.93
65	4.43	0	30.77
75	2.08	5.46	31.91
85	7.94	9.09	41.38
95	3.23	43.75	72.22
105	11.76	47.83	63.64
115	40.00	0	83.33
125	27.27	50.00	50.00
More than 135	28.57	60.00	100.00

4) 割球1芽のものにおける産地別、球重別による開花株率 産地によっても、球重の差によっても開花株率には変化が認められない。

5) 総括 開花株率はリン茎の種類、芽数によって変わらないが、球重の重いものほど高いことが知られた。

2. ガラタミン含有率の時期的変化(1961~62年)

沼田産の単球1芽のものにつき、1961年9月から1962年6月まで4回リン茎を収穫しガラタミンの定量を行なった結果は Table 5 のとおりである。

冬の休眠期と夏の収穫期(葉の枯死直後)が含有率高く、開花直後と萌芽時は低い。ガラタミン原料としての収穫は6月に行なうのが最もよいと思われる。

3. 球根の増量性について (1962年)

単球1芽のものについて、定植時と収穫時におけるリン茎重量の平均値を比較した結果は Table 6 のとおりである。

これによれば、定植1年後には球重は約2倍に増大

Table 5. Seasonal variation of galanthamine content in *Lycoris squamigera* MAXIM. cultivated at Kasukabe (1961~1962)

(Planted Aug. 8, 1961; Material: Numata, single bulb with one bud)

Date of harvest			Galanthamine %
4/IX	1961	(Shortly after flowering)	0.04
9/I	1962	(Stage of dormancy)	0.08
10/IV	1962	(Stage of sprouting)	0.03
25/VI	1962	(Shortly after leaf withering)	0.075

Table 6. Development of bulbs (Single bulb with one bud)

Origin	Average wt. of bulbs (g)		Rate of increase (%)
	At planting (Aug. 1961)	At harvest (June 1962)	
Numata	36.44 21.69	62.69 38.83	172
Tatsuno	49.33 26.92	108.29 52.19	207
Chino	60.14 21.53	129.29 46.24	215

することが分かる。また定植時母リン茎重の階級別の増量率は Table 7 のとおりで増量率は球重の増すにつれて減少する傾向が認められる。沼田産単球1芽のものについて次の式が求められた。

$$\hat{\mu} = 3.416 - 9.780 \times 10^{-2} A_i + 1.610 \times 10^{-3} A_i^2 - 8.485 \times 10^{-6} A_i^3$$

信頼限界は 危険率 (0.05)  $\hat{\mu} \pm 1.992 \sqrt{V(\hat{\mu})}$

" (0.01)  $\hat{\mu} \pm 2.642 \sqrt{V(\hat{\mu})}$

$$V(\hat{\mu}) = 0.063053 + 7.648 \times 10^{-7} (A_i - 50)^2 + 1.1942 \times 10^{-9} \{(A_i - 50)^2 - 823\}^2 + 2.0413 \times 10^{-12} \{(A_i - 50)^3 - 1,465(A_i - 50)\}^2$$

また定植時母リン茎重の階級ごとの産地別収穫リン茎の平均重量は Table 8 のとおりで、産地間に有意差が認められた。これは母リン茎を採集してから定植するまでの取扱において産地間の差が現われたのも一因であろうが、さらに精査を要すると思われる。

4. 葉数について (1962年)

1962年6月21日実施の葉数調査の結果は Table 9 のとおりで葉数は母リン茎の重量  $A_i$  が増すにしたがって増加する傾向が顕著である。沼田産単球1芽のものについて次式が求められた。

$$\hat{\mu} = 4.85 - 0.0352 A_i + 0.000902 A_i^2$$

信頼限界は 危険率 (0.05)  $\hat{\mu} \pm 1.970 \sqrt{V(\hat{\mu})}$

" (0.01)  $\hat{\mu} \pm 2.597 \sqrt{V(\hat{\mu})}$

$$V(\hat{\mu}) = 0.00592 + 7.18 \times 10^{-6} (A_i - 50)^2 + 1.122 \times 10^{-8} \{(A_i - 50)^2 - 825\}^2$$

Table 7. Rate of development (%) of bulbs of each weight class  
(Single bulb with one bud)

Wt. class(g)	Origin		
	Numata	Tatsuno	Chino
5	310	318	310
15	233	270	348
25	180	222	301
35	179	213	242
45	161	214	229
55	162	217	212
65	159	209	212
75	160	193	210
85	158	201	217
95	150	197	208
105	143		199
115	136		204
125	141		163
135	101		164
145	120		

Table 9. Average number of leaves per plant of each weight class of mother bulbs  
(Single bulb with one bud)

Wt. class(g)	Origin		
	Numata	Tatsuno	Chino
5	2.33	2.30	4.00
15	4.45	4.28	7.00
25	5.08	5.93	7.79
35	5.88	6.65	7.66
45	6.68	8.20	8.98
55	6.85	8.65	10.45
65	7.74	9.18	11.73
75	8.40	10.03	13.58
85	6.97	12.05	15.38
95	7.97	14.31	16.94
105	9.67	13.09	17.10
115	11.46	11.05	20.50
125	10.13	14.0	16.50
135	9.5	25.5	19.33
145	}10.5		28.5
155			

Table 8. Average weight of harvested bulbs grown from varying weight classes of mother bulbs  
(Single bulb with one bud)

Origin	Wt. class <sup>a)</sup> (g)									
	25	35	45	55	65	75	85	95	105	
Numata	48.3	60.6	72.4	89.2	103.4	120.2	137.8	151.5	162.2	
Tatsuno	64.3	74.7	96.7	119.3	135.8	142.7	177.5	189.8	191.5	
Chino	78.3	84.8	103.1	116.5	135.5	157.4	186.5	203.0	212.5	
M.D. (0.05) <sup>b)</sup>	8.4	7.7	8.6	11.6	10.3	12.1	18.2	23.2	34.2	
M.D. (0.01)	10.7	9.7	10.8	13.5	11.9	14.2	23.2	29.4	43.9	

a) Weight class of mother bulbs

b) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

### 摘 要

1961年から1962年にわたって春日部においてガラタミン原料としてのナツズイセンの試作を行った。

1. 開花株率は、リン茎の種類(単球と割球の別)によっても、芽数によっても影響を受けない。
2. 開花株率は母リン茎の重量が増すにつれて大き

くなる傾向がある。

3. リン茎中のガラタミン含有率は1月(休眠期)および6月(葉の枯死直後)が高くそれぞれ0.08および0.075%、これに対し9月(開花直後)および4月(萌芽時)は低くそれぞれ0.04および0.03%であった。

4. 栽植1年後にリン茎の重量は約2倍に増大する。

5. リン茎の増量率( $\bar{\mu}$ )は、定植時の母リン茎の重

量 ( $A_i$ ) が増するつれて、減少する傾向がある。

$$\hat{\mu} = 3.416 - 9.780 \times 10^{-2} A_i + 1.610 \times 10^{-3} A_i^2 - 8.485 \times 10^{-6} A_i^3$$

### 文 献

1) 山口一孝, 小川秀子, 名取信策: 衛生試報, 80, 17 (1962)

### Summary

**On the Trial Cultivation of *Lycoris squamigera* MAXIM. as Galanthamine Source** Toyohiko KAWATANI, Katsuma ISHIHARA, and Tadarō OHNO

Trial cultivation of *Lycoris squamigera* MAXIM. as galanthamine source was carried out during 1961~62 at Kasukabe Experiment Station of Medicinal Plants.

1) Percentage of plants having flowered was not affected by kind of bulbs (single bulb and divided bulb), nor by number of buds in the bulb.

2) Percentage of plants having flowered showed a tendency to enlarge proportionately with the increase of weight of the mother bulb.

3) Seasonal variation of galanthamine content in the bulb was followed from September, 1961 to June, 1962.

The galanthamine content was higher in January (stage of dormancy) and June (stage shortly after leaf withering), 0.08 and 0.075% respectively, whereas the content was lower in September (stage shortly after flowering) and April (stage of sprouting), 0.04 and 0.03% respectively.

4) Weight of the bulb almost doubled on an average after one year's cultivation in the field.

5) Rate of the increase in weight of the bulb ( $\hat{\mu}$ ) showed a tendency to reduce inverse-proportionately with the increase of weight of the mother bulb ( $A_i$ ).

$$\hat{\mu} = 3.416 - 9.780 \times 10^{-2} A_i + 1.610 \times 10^{-3} A_i^2 - 8.485 \times 10^{-6} A_i^3$$

(昭和38年5月31日受付)

## *Rauwolfia* 属植物とくに印度蛇木 (*R. serpentina* BENTH.) の 種子の発芽に関する研究 (第5報) 硫酸処理が 印度蛇木の種子の発芽におよぼす影響

宮崎幸男・五太子小太郎

前報<sup>1)</sup>で印度蛇木の種子を濃硫酸で30分ないし15分間処理したとき初期の発芽が若干促進される傾向のあることを報じたが硫酸処理の影響を更に詳しく調べるため1962年に前報におけるよりも処理時間の長い区をも設けて硫酸処理の印度蛇木種子の発芽におよぼす影響について研究を行なったのでその結果を報告する。

### 材料および方法

供試種子は1961年9月25日当场圃場で採取し紙袋に入れて室内に貯蔵しておいたものである。

硫酸処理の区別はTable 1に示したように前報における5分, 15分, 30分の3区のほか45分, 1時間の2区をふやし無処理を含め計6区とした。播種ならびに発芽調査の方法は前報での方法に従い, 1962年6月4日に約25~35°の温室内で各区とも木箱に100粒ずつ播き3回反復した。発芽縮切は同年10月4日

に行ないこのときの未発芽種子の健, 不健の基準は前報での方法とはやや異なり, 本実験では指でおしつぶしてつぶれないものも割つて内容を調べ腐っているものは腐敗種子, 腐っていないものを健全種子とした。

供試種子の平均100粒重はPlot 1~6の順に4.2406 g, 4.2659 g, 4.2696 g, 4.2748 g, 4.2416 g, 4.3379 gで区間に有意差はなかつた。

### 実験結果および考察

発芽の結果を1週間単位の累計発芽率の形にまとめTable 1に示した。

発芽は播後第2週に始まりこの週ではPlot 4が23.7%で最も高くPlot 3, 5, 6の3区はいずれも11.7%でやや劣り, さらにPlot 1, 2は21.0%で最も劣る傾向が見られる。しかしこの場合区間の差の有意性は認められない。第3週でもPlot 4は34.3%で最も高くPlot 3, 5, 6, 1, 2の順に低下するが区



間の差の有意性はもちろん認められない。このころから Plot 1 での発芽が相対的に良好となり第 4 週には 40.0% で該区が最高値を示し Plot 4, 3, 2, 5, 6 の順に低下し処理時間の長い区ではその後の発芽の悪いことが注目されるようになる。第 5~6 週で発芽の大半は終りその後の発芽はきわめて緩慢になる。また比較の後期において Plot 2 が Plot 3 よりわずかにまさる傾向を示すほか各区の発芽率の順位も変わらない。結局総発芽率は Plot 1 が 55.7% で最も高く最下位の Plot 6 との間には 25.7% の差が見られる。しかしこの場合区間の差の有意性は見られない。

つぎに種子の腐敗率は Plot 1, 2 では 6% 前後で比較的低いが処理区では一般的に処理時間の長くなるにつれて腐敗率が高くなり Plot 6 と Plot 1, 2, 3 の

各区間には高い有意差が認められる。

以上のように本実験では前報における最長処理時間の 30 分よりも更に長い時間の処理をも行なつたが硫酸処理の効果は前報の場合と同じく 30 分処理の場合に初期の発芽がかなり促進される傾向が認められたわけである。また 15 分~1 時間の範囲内でもややこの傾向が認められたが、総発芽率においては処理区ではいずれも無処理区に比べてかなり劣り、かつ処理時間の長い区では種子の腐敗率が著しく高くなることが明らかとなった。したがって本実験結果ならびに前報での結果を総合して考えると硫酸処理の印度蛇木種子の発芽促進に対する実際上の効果はほとんどなくむしろ悪影響の方が強いと結論してよい。

Table 1. Effect of the sulphuric acid treatment on the germination of the seeds of *Rauwolfia serpentina* BENTH., 1962

Plot	Time of treatment (minutes)	Cumulative germination percentage															Percentage of decayed seeds	
		Weeks after sowing																
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		17
1	No treatment	2.0	14.0	40.0	47.0	49.7	51.7	52.3	53.7	54.7	55.7	55.7	55.7	55.7	55.7	55.7	55.7	6.3
2	5	2.0	13.7	23.0	29.0	30.0	34.7	37.7	38.3	40.0	40.3	41.3	42.0	42.3	42.7	42.7	43.0	5.7
3	15	11.7	25.3	33.0	37.7	39.0	39.0	39.7	40.7	40.7	41.3	41.3	41.3	41.3	41.7	41.7	14.7	
4	30	23.7	34.3	39.7	41.0	41.3	42.7	43.3	44.3	44.7	45.3	46.7	46.7	47.3	47.7	47.7	48.0	26.7
5	45	11.7	17.7	22.0	25.3	28.7	30.3	33.3	36.0	38.3	38.3	38.7	39.7	39.7	40.7	41.0	41.0	30.0
6	60	11.7	15.3	17.3	18.3	19.0	20.3	21.7	22.7	24.0	26.3	23.3	29.0	29.7	30.0	30.0	30.0	53.3
M.D. (0.05) <sup>a)</sup>		28.8	41.1														59.3	29.1
M.D. (0.01)		36.2	53.3														76.2	37.4

a) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

### 摘 要

1) 無処理, 硫酸処理の 5 分, 15 分, 30 分, 45 分, 1 時間の 6 区を設け硫酸処理が印度蛇木種子の発芽におよぼす影響について 1962 年に更に研究がなされた。

2) 30 分処理区において初期の発芽がかなり促進され, また 15 分~1 時間の範囲内ではその他の区でもややこの傾向が見られたが, その後の発芽は処理区ではいずれも無処理区より劣り総発芽率は無処理区が最も高かった。

3) 種子の腐敗率は処理時間の長くなるにつれて高くなる傾向が見られた。

4) 本実験結果ならびに前報での結果を総合して硫酸処理は印度蛇木種子の発芽促進に対し実際上ほとんど効果なくむしろ悪影響の強いことが確認された。

### 文 献

1) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試験, 80, 149 (1962)

### Summary

The Germination of the Seeds of *Rauwolfia*, Especially of *R. serpentina* BENTH. V. The Effect of the Sulphuric Acid Treatment on the Germination of the Seeds of *R. serpentina* BENTH.

Yukio MIYAZAKI and Kotarō GODAISHI

1) A further investigation on the effect of the sulphuric acid treatment on the germination of the seeds of *Rauwolfia serpentina* BENTH. was carried out in 1962 under the following 6 plots: the control, and the sulphuric acid treatments for 5, 15, 30, 45, and 60 minutes, respectively.

2) Also in this experiment, the germination at the initial stage was promoted considerably in the seeds treated with sulphuric acid for 30 minutes as reported in the preceding paper, and this tendency was somewhat recognized also in the case of treatment from 15 to 60 minutes. However, the subsequent germination in the

treated plots was inferior wholly to that in the untreated plot, consequently the highest percentage of total germination was gained from the latter plot.

3) The percentage of the decayed seeds tended to increase with the time of the treatment.

4) From both the results of this experiment and the previous study, the sulphuric acid treatment was confirmed to be practically ineffectual for improving the germination of the seeds of *R. serpentina* BENTH., but to exert the bad influence on the germination.

(昭和38年5月31日受付)

## 伊豆における *Rauwolfia* 属植物とくに印度蛇木 (*R. serpentina* BENTH.) の栽培試験 (第5報) 圃場における3年生および4年生株の成績

宮崎 幸男・五太子 小太郎

前報<sup>1,2)</sup> に続き若干異なる条件のもとでの圃場栽培における種子島系印度蛇木の3年生および4年生株の生育の結果(1961年および1962年収穫)について報告する。

### 材料および方法

本実験における Plot No. (Table 1) およびこれらの栽培条件は前報<sup>2)</sup> と同じであり、また冬季におけるビニールの被覆や施肥など全般的な栽培の要領もすべて前報の場合に準じた。

収穫は1961年12月12日および1962年11月19日に行なわれた。したがって詳細な株令は3年生株では約2年5~6月、4年生株では約3年5月である。

### 実験結果および考察

1961, 1962の両年度とも台風その他による生育過程における植物への障害はなかつた。両年度における3年生および4年生株の収量調査の結果を Table 1 に示した。

両株令ともいままでと同じく個体による収量差の大きいことが注目されるが、全 plot を通じ個体当たり平均全根風乾重は3年生株で21.1~31.8g, 4年生株で25.5~64.7gの範囲にある。両株令を通じ栽培条件と収根量との関係はあまり明らかでないが、Plot 6の密植栽培では個体当たり収根量も比較的高いので単位面積

当たり収根量では他の plot にくらべかなりまさる傾向が見られる。

つぎに3年生と4年生の株令による収根量の差についてみると、3年生株で21.1gの最も低い収根量のえられた Plot 4において4年生株では64.7gのむしろとくに高い値がえられているが、これをのぞくと4年生株の収根量は25.1~36.1gの範囲にあり3年生株との差は比較的少ないことになる。従って4年生になると根の生育量はかなり低下するのではないかと思われる。このような結果および既報の1~2年生株の成績から考えると収根量に関しては2~3年生で収穫するのが経済的には得策でないと思われる。

### 摘 要

1) 若干異なる条件のもとでの圃場栽培における印度蛇木の3年生および4年生株の生育に関する研究が1961~1962年になされた。

2) 両株令を通じ栽培条件と個体当たり収根量との関係はあまり明らかでないが、単位面積当たり収根量に関しては密植栽培が好適の傾向が本実験においても認められた。

3) 本実験結果および既報の1~2年生株に関する実験結果から収根量に関しては2~3年生で収穫するのが経済的には有利のようである。

Table 1. Average yields of the third year and fourth year growth of *Rauwolfia serpentina* BENTH. cultivated under different conditions in the field, 1961-1962

Plot No.	No. of plants harvested	Top												
		Whole parts		Stem		Leaf		Inflorescence		Mature fruit		Immature fruit		
		Fresh wt.	Air-dry wt.	Fresh wt.	Air-dry wt.	Fresh wt.	Air-dry wt.	Fresh wt.	Air-dry wt.	No. Fresh wt.	No. Fresh wt.	No. Fresh wt.	No. Fresh wt.	
		(g)	(g)	(g)	(g)	(mm)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	
Third year growth (1961)														
2	10	31.9	9.0	27.8	8.6	6.6	0.3	0.1	2.8	0.3	5	0.6	12	1.1
3	5	54.3	13.9	41.7	12.2	6.4	0.5	0.3	11.9	1.4	13	1.4	83	4.4
4	6	22.6	6.6	21.2	6.4	5.4	0.1	0	1.2	0.2	1	0.2	9	0.5
5	5	34.3	11.0	31.8	10.5	6.5	0.1	0	2.3	0.4	13	1.0	9	0.4
6	15	27.5	8.7	22.7	7.9	6.1	0.1	0	4.0	0.7	7	0.7	24	1.1
Fourth year growth (1962)														
2	4	43.8	12.1	16.0	4.9	5.4	4.1	1.0	23.7	6.2	65	9.5	96	7.8
3	3	70.3	22.2	27.5	10.0	5.2	22.7	5.9	19.4	6.2	32	3.3	121	9.8
4	6	65.3	20.0	27.8	8.9	6.4	19.6	4.9	17.6	6.2	59	7.4	68	4.6
5	3	18.4	5.4	9.8	3.4	5.0	5.6	1.4	2.7	0.6	0	0	30	1.2
6	13	46.1	13.3	15.9	5.3	5.2	8.4	2.2	21.1	5.9	46	7.8	103	7.8
Root														
Whole root			Thick root <sup>a)</sup>				Fibrous root			Max. length (cm)				
Fresh wt.	Air-dry wt.	W <sub>2</sub> /W <sub>1</sub>	Fresh wt.	Air-dry wt.	T <sub>2</sub> /T <sub>1</sub>	Max. diameter	Fresh wt.	Air-dry wt.	F <sub>2</sub> /F <sub>1</sub>					
(W <sub>1</sub> )	(W <sub>2</sub> )	(%)	(T <sub>1</sub> )	(T <sub>2</sub> )	(%)	(cm)	(F <sub>1</sub> )	(F <sub>2</sub> )	(%)					
(g)	(g)	(%)	(g)	(g)	(%)	(cm)	(g)	(g)	(%)					
Third year growth (1961)														
107.9	25.1	23.0	101.4	24.2	23.7	1.3	5.1	0.9	16.8	73				
108.0	26.3	24.0	102.9	25.5	24.4	1.3	3.8	0.8	20.6	69				
85.8	21.1	24.3	82.7	20.7	24.7	1.4	2.4	0.4	18.0	71				
120.3	31.8	23.7	117.2	31.3	24.0	1.5	2.6	0.5	17.3	61				
109.8	30.4	27.3	105.8	29.8	27.7	1.3	2.9	0.6	20.7	81				
Fourth year growth (1962)														
102.8	25.5	24.8	96.8	24.7	25.7	1.2	3.9	0.8	20.8	85				
98.4	28.9	27.8	93.2	28.1	28.5	1.3	3.6	0.8	21.6	58				
209.2	64.7	29.8	203.0	63.7	30.3	1.6	4.5	1.0	22.2	63				
91.4	25.7	27.9	89.0	25.4	28.3	1.5	1.7	0.3	17.9	53				
128.1	36.1	27.5	121.9	35.2	28.1	1.5	4.8	0.9	21.2	81				

a) Root having more than 2 mm diameter at the thickest portion

## 文 献

- 1) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試報, 79, 275 (1960)  
 2) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試報, 80, 151 (1961)

## Summary

**Experimental Cultivation of Rauwolfias, Especially of *R. serpentina* BENTH. at Izu. V. Results of the Third Year and Fourth Year Growth of *R. serpentina* BENTH.** Yukio MIYAZAKI and Kotarō GODAISHI

1) A study on the third year and fourth year growth of *Rauwolfia serpentina* BENTH. cultivated

under different conditions in the field, was carried out in 1961~1962.

2) Although the relation of the cultural conditions to the yield of root per plant was not always clear through both ages of the plant, a closer planting seemed to be preferable for the high yield of root per unit area also in this experiment.

3) From the results of this study and those of investigations on the first year and second year growth reported previously, the harvest in the second year or third year after planting seemed to be more profitable economically concerning the root yield.

(昭和38年5月31日受付)

伊豆におけるココの栽培試験(第2報) 温室内において  
 しや光がココの生育, 収量, コカイン含量におよぼす影響

宮崎 幸男・渡辺 宏之

豊島ら<sup>1)</sup>は小笠原におけるココの栽培試験で日陰地は陽向地に比べ葉の収量, 乾燥歩留のみならずコカイン含量の低いことを報じているが, 光線の強さとココの生育, 収量, コカイン含量などとの関係についての詳細な研究はまだ見られないようである。著者らは1960~1962年に温室内でこの点について研究したのでその結果を報告する。

## 材料および方法

しや光を寒冷しやによる軽度のしや光とよしげによる強度のしや光の2種に大別し前者による実験をExperiment I, 後者によるものをExperiment IIとした。いずれも温室内で地上25cmの所に高さ185cm, 縦, 横ともに263cmの枠をつくり上面および側四面をExperiment Iでは寒冷しや, Experiment IIではよしげをそれぞれ一重および二重にはり両しや光区(Plot 1および2)を設け, このほかに無処理区(Plot 1)をおいた。ロピッチ型日射計による両実験の各区の光線の強さの比率は大体つぎのとおりであった。Experiment I: Plot 1 100, Plot 2 70, Plot 3 55. Experiment II: Plot 1 100, Plot 2 30, Plot 3 10.

両実験とも年度あるいは季節をかえて2回ずつ実験を行なった。個々の実験をExperiment I-1, Experiment I-2; Experiment II-1, Experiment II-2と呼ぶことにし, つぎに各実験での材料ならびに方法

の概要を述べる。

## Experiment I-1

材料 ベトナム系 *Erythroxylon novogranatense*

(以下 *E. novo.* と略記する) で1960年3月中旬温室内で発芽し定植時の樹高約12~15cmの苗

ポット ワグナー5千分の1アール

反復数 5

土壌 ポット当り風乾砂400gの上に風乾砂質壤土3kg

肥料 ポット当り3要素各0.5g, 炭酸石灰5g

定植 1960年7月8日

しや光処理期間 1960年7月18日~12月13日

収穫 1960年12月14日

コカイン含量の定量 前報<sup>2)</sup>の方法によった。

温室内の温度 約20~35°

## Experiment I-2

材料 ベトナム系 *E. novo.* で1961年3月中旬温

室内で発芽し定植時の樹高約50~65cmの苗

定植 1961年2月2日

しや光処理前の摘葉, 摘花 処理直前の各枝の展開葉を先端より3枚のこし全部摘みとり, 花器も全部取除いた。

収穫 1961年6月16日

その他すべてExperiment I-1に準じた。

## Experiment II-1

材料 ボゴール系 *E. novo.* で1960年3月中旬温

室内で発芽し定植時の樹高約 60~70cm の苗  
反復数 4

その他すべて Experiment I-2 に準じた。

**Experiment II-2**

材料 ポゴール系 *E. novo*. で 1960 年 10 月初旬  
温室内で発芽し定植時の樹高約 30cm の苗でしゃ  
光処理開始時には樹高約 80~90cm に達した。

定植 1961 年 10 月 25 日

しゃ光処理期間 1962 年 4 月 18 日~9 月 17 日

しゃ光処理前の摘葉, 摘花 処理の 1 週間前に Ex-  
periment I-2 と同じ方法で行なった。

収穫 1962 年 9 月 18 日処理前の摘葉と同じ方法で

葉のみ収穫し植物全体の収穫は行なわなかった。  
コカイン含量の定量 しゃ光処理後に収穫された葉  
のみならず処理前にとった葉についても定量を行  
なった。

その他すべて Experiment I-1 に準じたが温室内の  
最高温度は 35° 以上のことが多く 40° 近いこと  
もたびたびあった。

実験結果および考察

1. 地上部の生育過程

各実験における地上部の生育過程を示すものとして  
全茎長 (主茎長と全側枝長との和) および全生葉数の  
変化を Fig. 1 に示した。

寒冷しゃによるしゃ光では Experiment  
I-1, I-2 ともしゃ光による地上部  
の生育の阻害はほとんど認められずむしろ一重程度に若干しゃ光した場合の方が  
無処理区より生育の良好な傾向さえ認め  
られる。

よしずによるしゃ光でも一重程度では  
しゃ光の影響はあまり認められない。二  
重の場合にはかなり生育が抑制される傾向  
が見られるが, Experiment II-2 のよう  
に夏季の光線の強い時期には Plot 3 で  
も生育の阻害はほとんど認められない。

なお各実験を通じしゃ光区では全般  
的に葉の形が大きく緑色が比較的強かった  
のに対し無処理区では葉の形が小さくか  
つ緑色が少なく黄色の強い傾向が見られ  
たが, とくに Experiment II-2 におい  
てこの傾向が著しかった。なお Experiment  
II-2 において Plot 2 の生育が後  
期においてかなり低下しているのは主と  
して実験中のポットの管理の失敗による  
もので光線の影響とはみなしがたい。

II. 収量

各実験における収量ならびにコカイン  
含量を Table 1 に示した。

1) 地上部

寒冷しゃによるしゃ光では Experiment  
I-1, 2 の両実験を通じ地上部各部  
の収量について 3 区間に一定の傾向は認  
められない。葉の収量においても生体  
重, 風乾重, 乾物重のいずれについても  
3 区間に有意差は認められず, また生葉  
の風乾率, 乾物率についても 3 区間に有

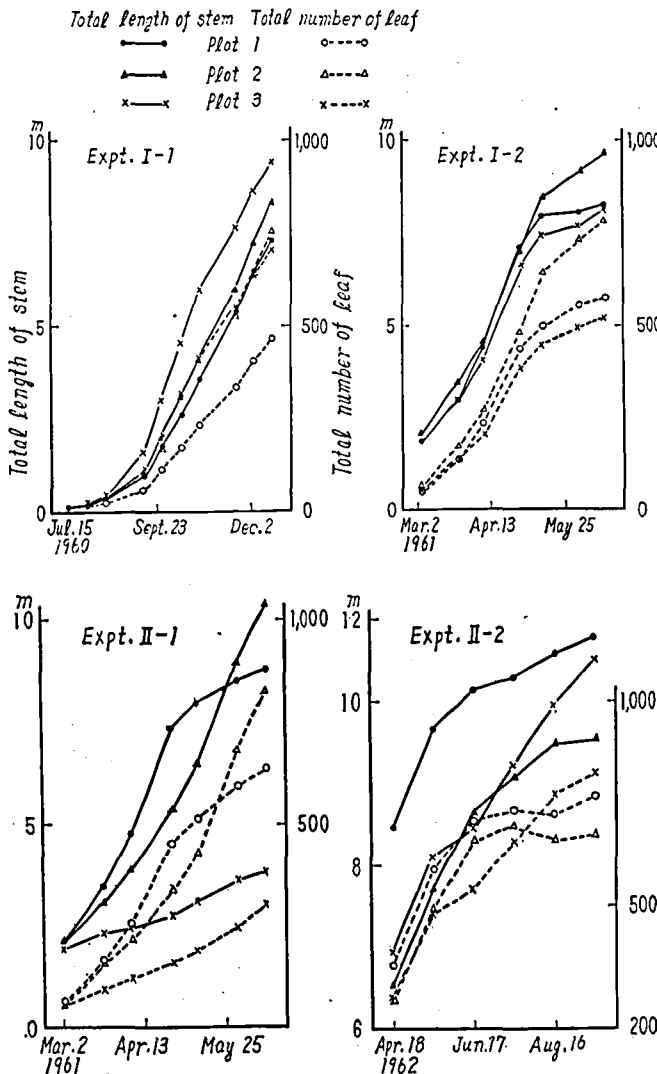


Fig. 1. Effect of the light intensity on the top growth of  
Coca in the greenhouse, 1960~1962

意差は認められない。

しかしよしずの場合はしゃ光の影響は寒冷しゃの場合とかなり異なり Experiment II-1 についてみると葉の生体重では Plot 2 は Plot 1 に劣る傾向は見られないが、Plot 3 は著しく低下し Plot 1 および Plot 2 との間に有意差が認められる。一方生葉の風乾率および乾物率はしゃ光度の加わるにつれて低下し各区間に高い有意差が認められる。したがって葉の風乾重および乾物重では無処理区最高でしゃ光度の加わるにつれて低下することになる。

茎や花器についても葉の場合と同じくしゃ光度の加わるにつれて生育の低下することが明らかに認められる。

しかし Experiment II-2 ではかなり事情が異なり収葉量では Experiment II-1 とは逆に Plot 3 が最高で光線の強くなるにつれて低下し、生葉重では Plot 1 と Plot 3 との間に有意差が認められる。しかし生葉の風乾率ないし乾物率は無処理区最高でしゃ光度の加わるにつれて著しく低下するので葉の風乾重ないし乾物重では各区間に有意差は認められない。

同じしゃ光方法でも両実験でこのような差異を生じたのは主として実験の季節の差異によるもので Experiment II-1 は比較的光線の弱い季節であったのに対し Experiment II-2 では大部分の期間が夏季の光線の最も強い時期であったので後者ではしゃ光区でも受光量の絶対値が比較的高かったこと、一方では夏季の高温、強光のため無処理区での生育が逆にかなり阻害されたことによると思われる。この無処理区における生育の低下は既に生育過程において認められたが Table 1 の葉形からも裏書され、該区では葉が全般的に小形で葉片の長さ、幅ともにしゃ光両区との間に高い有意差が認められる。

## 2) 地下部

寒冷しゃによるしゃ光では Experiment I-1, 2 の両実験とも地下部の生育に対するしゃ光の影響はほとんどみられず根重や根長について3区間の差は認められない。しかしよしずの場合は地下部の生育に対するしゃ光の影響が著しく Experiment II-1 では既述のように比較的光線の弱い時期であったことにもよると思われるが根重は生体重、風乾重ともにしゃ光度の加わるにつれて著しく低下し各区間に高い有意差が認められる。

## III. 葉のコカイン含量

寒冷しゃの場合は二重のしゃ光でも Experiment I-1, 2 の両実験を通じ葉の生体重、風乾重、乾物重のいずれに対するコカイン含量にもしゃ光の影響は全然

見られない。

しかしよしずによるしゃ光では寒冷しゃの場合とはかなり事情が異なり Experiment II-1 では風乾物および乾物に対するコカイン含量は無処理区最高でしゃ光度の加わるにつれて低下する傾向が見られる。しかし区間の差の有意性は認められない。Experiment II-2 でもしゃ光処理後における風乾物、乾物に対するコカイン含量は Plot 1 最高で Plot 3, Plot 2 の順に低下するが本実験においてはしゃ光処理前の葉についてもこれと同じような傾向が見られるので、しゃ光の前後におけるコカイン含量の差につき区間の差を検定したところ有意性は認められない。すなわち風乾物ないし乾物に対するコカイン含量は Experiment II-2 でもしゃ光による低下はほとんどないと考えてよい。しかし生葉に対するコカイン含量は Experiment II-1, 2 の両実験ともしゃ光度の加わるにつれて低下する傾向が見られ、Experiment II-1 では各区間に有意差が認められる。一方 Experiment II-2 では処理前後におけるコカイン含量の差の区間の差の検定から Plot 1 と Plot 3 との間に有意差が認められる。すなわちよしずによる強度のしゃ光では生葉に対するコカイン含量はかなり低下することになるがこれは既述のように生葉の乾物率がしゃ光により著しく低下するからである。

以上のように寒冷しゃでは二重のしゃ光でもココアの生育、収量、コカインの含量にはほとんど悪影響がなく、よしずによるしゃ光でも一重程度では光線の強い季節にはほとんど悪影響の見られないことが分かった。よしず二重のしゃ光になると光線の比較的弱い季節には生育はかなり阻害され収葉量もかなり低下するが、葉のコカイン含量は少なくとも風乾物ないし乾物に対する % ではしゃ光による低下はほとんど見られないことが分かった。このよしずの二重によるしゃ光といえば実際上一般圃場ではほとんど見られない極度の弱光条件であり、このような光線条件のもとではほかの熱帯系薬用植物についてはたとえばレモングラス<sup>2)</sup>では生育不能で枯死し、印度蛇木<sup>4)</sup>では枯死することはないが生育はほとんど進まないような例が見られている。ただこれらの実験はすべて約 20~35° の比較的高温のもとで行なわれたものであり、少なくともこのような温度条件のものではココアはしゃ光に耐える性質が比較的強いといえるようである。既報<sup>3)</sup>のようにココアは風に弱いので実際栽培にあたっては防風林を作る必要のあることが多いかと思われるが、このことにより多少日陰を生じて本実験の結果から考えると過度のしゃ光にならない限りまた温度が大体 20° 以上

Table 1. Effect of the light intensity on the yield and

Experiment	Plot	Light intensity (%)	Top											
			Whole parts			Leaf						Stem		
			Fresh wt.	Air-dry wt.	Dry wt.	Fresh wt.	Air-dry wt.	Dry wt.	Dry wt.	Len- gth of peti- ole	Len- gth of Leaf- blade	Width of Leaf- blade	Fresh wt.	Air-dry wt.
			(g)	(g)	(g)	(g)	(%)	(%)	(%)	(m)	(m)	(cm)	(g)	(g)
I-1	1	100	75.6	36.8	12.1	10.3	32.8	85.6	28.1	—	—	—	36.9	16.7
	2	70	69.8	39.9	11.9	10.1	29.6	84.9	25.2	—	—	—	28.6	11.9
	3	55	91.4	49.4	15.4	13.2	31.1	85.0	26.7	—	—	—	40.7	18.0
	M.D.(0.05)*		30.35	19.15	5.68	5.09	2.12	2.11	2.24	—	—	—	14.08	7.46
	M.D.(0.01)		40.57	25.60	7.59	6.80	2.84	2.82	3.00	—	—	—	18.83	9.97
I-2	1	100	100.3	40.5	13.9	11.4	34.5	81.6	28.2	—	—	—	60.8	29.5
	2	70	104.3	45.9	16.1	12.9	35.4	80.4	28.5	—	—	—	58.7	28.1
	3	55	99.8	44.8	15.3	12.3	34.2	80.4	27.5	—	—	—	56.3	26.6
	M.D.(0.05)		22.00	9.99	2.68	2.19	3.43	0.98	2.83	—	—	—	16.14	8.44
	M.D.(0.01)		29.38	13.36	3.58	2.92	4.59	1.31	3.78	—	—	—	21.57	11.29
II-1	1	100	101.8	39.5	15.8	12.4	40.0	78.8	31.5	—	—	—	65.5	32.0
	2	30	84.8	45.4	14.4	11.0	31.7	76.6	24.3	—	—	—	38.5	15.9
	3	10	31.1	18.3	5.0	3.8	27.6	76.2	21.0	—	—	—	13.3	5.3
	M.D.(0.05) <sup>a)</sup>		15.56	5.69	0.58	1.42	0.75	2.25	1.74	—	—	—	10.63	5.93
	M.D.(0.01)		21.39	7.82	0.80	1.95	1.04	3.10	2.39	—	—	—	17.70	8.15
II-2	1	100	—	16.0	6.2	5.4	38.6	87.8	33.9	4	5.1	1.9	—	—
	2	30	—	20.4	6.6	5.8	32.3	87.0	28.1	4	6.3	2.7	—	—
	3	10	—	30.2	8.2	7.0	27.0	85.6	23.2	6	6.9	2.9	—	—
	M.D.(0.05)		—	8.71	0.79	2.07	1.21	0.49	1.09	0.8	1.13	0.45	—	—
	M.D.(0.01)		—	11.64	1.06	2.77	1.61	0.66	1.46	1.2	1.51	0.60	—	—

a) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

の高温の場合なら光線不足によるコカイン含量の低下はもちろん収葉量の低下も実際上あまり問題にならないように思われる。

摘 要

1) 約 20~35° の温室内で寒冷しゃおよびよしずのそれぞれ一重、二重による両しゃ光区のほかにも無処理区を設けしゃ光がコカの生育、収量、コカイン含量におよぼす影響について 1960~1962 年に研究がなされた。

2) 寒冷しゃの場合は一重区はもちろん二重区でもしゃ光による植物の生育、収葉量、コカイン含量への影響はほとんど認められなかった。

3) よしずの場合は一重区でも光線の比較的弱い季

節には生育、収葉量がやや低下する傾向が認められたが、夏の高温、強光の季節には二重区でも生育、収葉量の低下は認められずむしろ無処理区において生育が阻害される傾向が認められた。

4) よしずによるしゃ光では生葉の乾物率はしゃ光度の加わるにつれて低下した。

5) 葉の風乾物ないし乾物に対するコカイン含量についてはよしずの場合でもしゃ光による低下はほとんど認められないが、生葉に対するコカイン含量はしゃ光度の加わるにつれて低下する傾向が認められた。

文 献

1) 豊島恕清, 岡部正義: 林業試験集報, 28, 11 (1929)

cocaine content of Coca grown in the greenhouse, 1960~1962

Top			Root				Cocaine in leaf								
Inflorescence		Fresh wt.	Air-dry wt.	Air-dry wt.	Max. length	Before treatment (B)			After treatment (A)			Difference between before and after treatment (A-B)			
Air-dry wt. meter	Fresh wt.					on fresh basis	on air-dry wt. basis	on dry wt. basis	on fresh basis	on air-dry wt. basis	on dry wt. basis	on fresh basis	on air-dry wt. basis	on dry basis	
Fresh wt.	(%)	(g)	(g)	(g)	(%)	(cm)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
44.5	7.3	4.6	25.2	5.9	23.0	40	—	—	—	0.46	1.41	1.64	—	—	—
41.3	6.9	0.8	16.5	4.0	24.0	36	—	—	—	0.38	1.29	1.51	—	—	—
44.1	7.4	2.6	19.4	4.8	25.0	42	—	—	—	0.50	1.60	1.87	—	—	—
4.30	1.13	4.49	11.74	2.39	1.81	9.0	—	—	—	0.094	0.332	0.388	—	—	—
5.75	1.51	6.00	15.69	3.19	2.42	12.1	—	—	—	0.126	0.444	0.519	—	—	—
48.4	10.0	0.7	43.1	10.5	24.3	32	—	—	—	0.30	0.86	1.05	—	—	—
47.8	9.3	1.0	39.5	9.3	24.6	31	—	—	—	0.32	0.90	1.11	—	—	—
47.0	9.0	0.5	37.6	9.2	24.6	30	—	—	—	0.29	0.84	1.04	—	—	—
2.68	1.55	0.68	20.43	3.92	4.34	5.9	—	—	—	0.097	0.263	0.323	—	—	—
3.58	2.07	0.91	27.32	5.24	5.80	7.9	—	—	—	0.130	0.351	0.432	—	—	—
49.0	9.4	0.8	41.1	10.9	26.8	39	—	—	—	0.28	0.69	0.87	—	—	—
41.3	6.7	0.2	17.5	4.2	24.3	38	—	—	—	0.17	0.52	0.68	—	—	—
39.7	5.3	0	7.2	1.7	23.3	36	—	—	—	0.13	0.46	0.60	—	—	—
5.45	1.15	0.55	13.31	2.69	4.66	7.1	—	—	—	0.103	0.277	0.359	—	—	—
7.50	1.57	0.76	18.30	3.69	6.41	9.8	—	—	—	0.141	0.380	0.494	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	0.60	1.61	1.84	0.54	1.38	1.58	-0.07	-0.23	-0.26
—	—	—	—	—	—	—	0.49	1.27	1.45	0.36	1.13	1.30	-0.14	-0.15	-0.15
—	—	—	—	—	—	—	0.51	1.34	1.53	0.32	1.17	1.37	-0.19	-0.17	-0.16
—	—	—	—	—	—	—	0.083	0.192	0.222	0.060	0.158	0.189	0.095	0.075	0.271
—	—	—	—	—	—	—	0.111	0.257	0.297	0.081	0.212	0.252	0.128	0.101	0.313

2) 宮崎幸男, 渡辺宏之: 衛生試報, 80, 155(1962)

3) 宮崎幸男, 大野 清: 熱帯農業(投稿中)

4) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 未発表

### Summary

**Experimental Cultivation of Coca at Izu. II. Relation of the Light Intensity to the growth, Yield, and Cocaine Content of Coca in the Greenhouse.** Yukio MIYAZAKI and Hiroshi WATANABE

1) Four experiments were carried out in 1960~1962 to clear up the effect of the light intensity on the growth, yield, and cocaine content of Coca in the greenhouse. In Experiment I-1 and I-2, the 2 shaded plots (Plots 2 and Plot 3) were sheltered with single and double screen of victoria lawn, showing 70% and 55% of the light intensity of the unshaded plot (Plot 1), respectively; and 30% and 10% of the light intensity of

the control were gained, respectively, from the 2 shaded plots sheltered with single and double screen of marsh-reed in Experiment II-1 and II-2.

2) In the case of shading with the victoria lawn screen, the effect of the light intensity on the growth, yield, and cocaine content of the plant was not recognized in both shaded plots.

3) In the plot shaded with single screen of marsh-reed, the growth and yield of the plant tended to decrease somewhat in the season of weaker light intensity. In the summer season, however, decrease in the growth and yield of the plant was not seen even in the plot shaded with double marsh-reed screen; whereas the growth in the unshaded plot tended to be rather retarded. This was probably due to too high temperatures and strong light intensity in the greenhouse.



4) In the case of shading with the marsh-reed screen, the dry matter percentage in the fresh leaf decreased with decrease in the light intensity.

5) Any significant decrease in the cocaine content in the leaf due to the light deficiency was not seen also in the plots shaded with the

marsh-reed screen, concerning the percentage of cocaine on air-dry basis or on water free basis. But the percentage of cocaine on fresh weight basis decreased with increased shading in these plots.

(昭和38年5月31日受付)

伊豆におけるガランタミン含有植物の栽培試験 (第1報) ショウキラン  
(*Lycoris aurea* HERB.), ナツズイセン (*L. squamigera* MAXIM.),  
スノーフレック (*Leucojum aestivum* L.), スノードロップ  
(*Galanthus nivalis* L.) の1961—1962年  
における一般生育状態

宮崎 幸男・五太子 小太郎

最近ガランタミンが小児麻痺の治療薬として注目されるようになったので著者らは1961年以来本アルカロイド含有植物の栽培に関する研究を始めたが、本報では1961—1962年の圃場試験で若干異なる条件のもとで栽培されたショウキラン、ナツズイセン、スノーフレック、スノードロップの全般的な生育状態について報告する。

### 材料および方法

ショウキランは種子島、ナツズイセン、スノードロップは春日部の各薬用植物栽培試験場、スノーフレックは三島市の園芸業者よりいずれも球根の分譲をうけこれを供試した。

これら植物をTable 1に示すような若干異なる条件のもとで圃場栽培を行なった。植栽間隔はすべて70 cm×25 cmで1球植えとし、肥料はいずれも1個体当たり堆肥500 gを基肥として施したほか3要素各1 gずつを葉の生育の初期に追肥した。Plot 3およびPlot 8では地上1.3 mの高さで上面を竹のすの子で日陰を作り、Plot 5では定植前1月間種球根を6°の電気冷蔵庫内におき低温処理を行なった。

### 実験結果および考察

各植物の代表的な区における草丈ならびに葉数の変化をFig. 1およびFig. 2、各区の地上部の生育過程に関する調査ならびに収穫の結果をTable 1に示した。

#### I. 地上部の一般生育過程

1) ショウキラン 定植個体数に対する開花個体数

の比率(以下開花率と呼ぶ)はPlot 3の70%に対しその他の区では25—50%の範囲にあり、また開花始めはPlot 3では10月初旬でその他の同月中、下旬に比べかなり早い。すなわちやや日陰のもとでは開花がかなり促進される傾向が見られる。つぎに本実験でとられた4月中旬—7月下旬の範囲では定植時期による開花への影響はほとんど見られない。また本実験でとられた球根の低温処理の方法では開花への影響はほとんど見られなく少なくとも開花を促進する効果は見られない。

葉の生育は大体花が終ってから始まり全区を通じ10月下旬頃出始めるが日陰地(Plot 3)ではやや早く、またFig. 1およびFig. 2でみられるように一般陽向地(Plot 1)では翌年3月中旬頃より葉の生育は衰え始めるが日陰地では5月下旬—6月初旬まで葉の旺盛な生育が続き、葉の生育もやや日陰の場所で良好の傾向が見られる。

2) ナツズイセン 定植された7個体のいずれも開花しなかった。葉の生育期間はFig. 1およびFig. 2で見られるように3月初旬—6月中旬でショウキランにくらべ出葉期がはるかにおそいばかりでなく生育期間が短い。しかし一般陽向地での同一環境のもとでは葉の生育の最盛期における草丈ならびに葉数ではナツズイセンの方がショウキランよりもかなりまさる傾向が見られる。

3) スノーフレック 開花率はPlot 7で75%、Plot 8で50%、開花始めはPlot 7で3月中旬、Plot 8で3月下旬で、日陰地では開花がやや抑制される傾向がみられる。つぎに葉の生育について日陰地では陽向地

よりも草丈はまさるが葉数は少ない傾向が見られる。

また本植物では葉の生育期間は12月初旬—7月初旬でショウキランより出葉期がややおそい。

4) スノードロップ 供試されたのは2個体のみであったが12月初旬、中旬になっても葉がでないで球根をしらべてみたところ2球ともすでに腐って形がなくなっていた。しかしその原因は明らかでない。

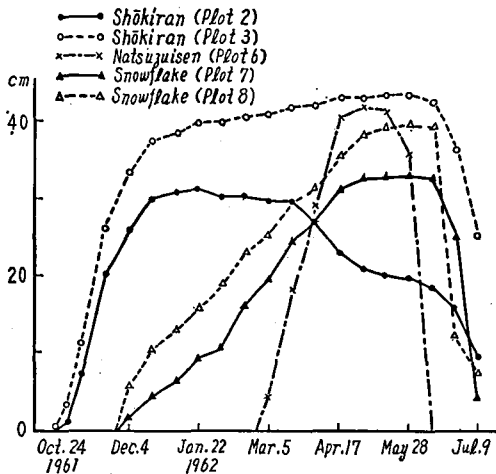


Fig. 1. Growth curves of the height of the plants containing galanthamine grown in the field, 1961-1962

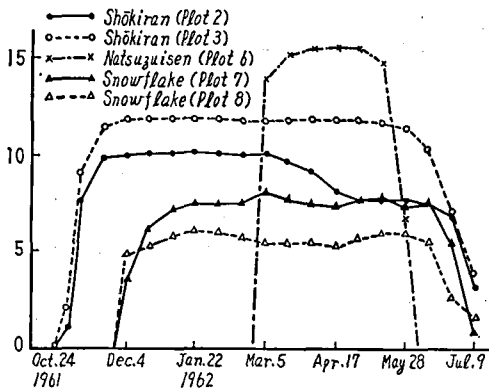


Fig. 2. Growth curves of the number of leaf of the plants containing galanthamine grown in the field, 1961-1962

## II. 収 量

1) ショウキラン 地下部の大部分は球根よりなり細根のしめる割合は全般的にきわめて少ない。種球根の大きさをそろえることはできなかったが種球根重に対する収穫球根重の比(以下球根の増大率と呼ぶ)によって球根の1年間の増大の程度を知ることができる。この球根の増大率は Plot 3 の 1.96 に対しその他の

区では 1.24—1.58 で、地上部の生育のみならず球根の生育もやや日陰のもとで良好の傾向がみられる。つぎに本実験での定植期間の範囲では定植時期による球根収量の差はなく、また種球根の低温処理による球根収量への影響も見られない。

球根の風乾率は Plot 2 の 29.8% に対し Plot 3 では 35.7% で日陰地では陽向地にくらべかなり高い傾向が見られる。

細根重と栽培条件との間には一定の傾向は認められない。

2) ナツズイセン 一般陽向地での栽培のみであるが球根の増大率は 1.95 で同一場所でのショウキランのそれにくらべてやや高い傾向が見られる。球根の風乾率は 27.9% でショウキランのそれと大差ない。なお全般的に球根の大きさや重量についてはショウキランと大差ないようである。

3) スノーフレーク 球根の大きさないし重量はショウキラン、ナツズイセンに比べると全般的にやや小さい。しかし球根の増大率は Plot 7 で 1.94, Plot 8 では 2.41 で比較的大きい。かつ本植物でもショウキランの場合と同じく陽向地よりも日陰地の方が球根の生育に適する傾向が見られる。

球根の風乾率は Plot 7 で 35.8%, Plot 8 では 35.6% で陽向地と日陰地との差は見られないが、ショウキラン、ナツズイセンにくらべて全般的にやや高いようである。

以上のようにナツズイセンについては陽向地と日陰地との比較がなされなかったがショウキラン、スノーフレークでは球根の増大率は日陰地が陽向地よりも高く、かつショウキランでは日陰地のものが球根の風乾率も高い傾向がみられるので、球根の収量の点からはこれら植物の栽培には陽向地よりもやや日陰の場所が適するとみてよいであろう。また一般陽向地での普通の栽培法ではナツズイセン、スノーフレークはショウキランに比べ球根の増大率がやや高いようであり、一方球根の大きさはショウキランとナツズイセンとは大差なく、かつ一般陽向地栽培での球根の風乾率も両者の間に大差ないので、球根の収量の点からは一般陽向地ではショウキランよりもナツズイセンがまさるように思われる。スノーフレークは球根の増大率や風乾率はショウキランより高いようであるが球根の大きさがショウキラン、ナツズイセンにくらべかなり小さいので収量の面からはこれらの点が不利のように思われる。



Fresh wt.		Root Air-dry wt.		Air-dry matter in fresh bulb		Proportion of fresh wt. of harvested bulb to wt. of mother bulb	
Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
g	g	g	g	%	%		
3.1~19.4	9.8	0.3~1.3	0.7	6.9~ 9.3	8.2	1.11~1.50	1.31
6.5~44.7	25.7	0.1~3.3	1.7	6.6~ 8.0	7.1	1.16~2.18	1.58
7.3~22.6	16.4	0.7~1.7	1.3	7.5~ 9.6	8.1	1.77~2.16	1.96
8.3~34.6	17.3	0.7~3.7	1.6	7.0~10.7	8.4	1.12~2.25	1.44
9.2~21.4	16.3	0.7~1.4	1.1	6.5~ 8.0	7.1	1.10~1.37	1.24
16.1~25.3	21.8	1.5~0.4	1.9	9.3~ 9.6	9.5	1.88~2.14	1.95
7.7~37.4	17.7	0.6~2.0	1.6	7.0~ 7.8	7.4	1.57~2.43	1.94
9.5~13.1	11.5	0.8~0.9	0.9	6.9~ 8.8	7.7	1.63~3.09	2.41
—	—	—	—	—	—	—	—

## 摘 要

ガランタミン原料植物としてショウキラン、ナツズイセン、スノーフレーク、スノードロップにつき1961—1962年に若干異なる条件のもとで圃場栽培を行ない一般生育状態について研究がなされた。

## I. ショウキラン

1) 地上部、地下部ともにその生育に対し陽向地よりもやや日陰の場所が適する傾向がみられ球根生体重量の年間増大率は陽向地の1.24—1.58に対し日陰地では1.95であった。

2) 球根の風乾率は陽向地の29.8%に対し日陰地では35.7%で日陰地でやや高い傾向が見られた。

3) 球根の植付前の低温処理による地上部および地下部の生育に対する影響は認められなかった。

## II. ナツズイセン

球根の大きさはショウキランとほとんど変わらないようであるが陽向地での本植物の球根の増大率は1.94でショウキランのそれよりもやや高く、一方球根の風乾率は27.9%でショウキランの場合よりもやや低い傾向が見られた。

## III. スノーフレーク

1) 球根の大きさはショウキラン、ナツズイセンに比べやや小さいが球根の増大率は陽向地1.94、日陰地2.41で全般的にショウキランの場合よりもかなり高く、かつ本植物の生育に対しても陽向地よりもやや日陰の場所が適する傾向が認められた。

2) 球根の風乾率は陽向地35.8%、日陰地35.6%で両者の間に差は認められなかった。

## IV. スノードロップ

本実験で定植した2個体とも萌芽をみることなく不明の原因で枯死した。

## Summary

Experimental Cultivation of the Plants Containing Galanthamine at Izu. I. General Growth of Shōkiran (*Lycoris aurea* HERB.), Natsuzuisen (*L. squamigera* MAXIM.), Snowflake (*Leucojum aestivum* L.), and Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) in 1961—1962. Yukio MIYAZAKI and Kotarō GODAISHI

A field experiment on the general growth of the plants containing galanthamine, Shōkiran (*Lycoris aurea* HERB.), Natsuzuisen (*L. squamigera* MAXIM.), Snowflake (*Leucojum aestivum* L.), and Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) under some different conditions, was carried out in 1961—1962. The results of the experiment are summarized as follows:

## I. Shōkiran

1) A little shady place seemed to be more suitable for the growth of both parts of the top and the root as compared with a sunny place; the proportion of the fresh weight of the bulb harvested after a year of planting to the weight of the mother bulb was 1.96 in the former and 1.24—1.58 in the latter.

2) The air-dry matter percentage in the bulb grown under slightly shaded condition tended to be somewhat higher than that at a sunny location, being 35.7 in the former and 29.8 in the latter.

3) The effect of a low temperature treatment of the mother bulb prior to planting on the growth of the above- or under-ground part, was not recognized.

## II. Natsuzuisen

1) The size of the bulb seemed to be the same as that of Shōkiran, but the proportion of the weight of the harvested bulb grown at a sunny place to the weight of the mother bulb tended to be somewhat higher than that of Shōkiran, being 1.95.

2) The air-dry matter percentage in the bulb grown at a sunny place, on the other hand, tended to be a little lower than that of Shōkiran, being 27.9.

### III. Snowflake

1) Generally, the size of the bulb is somewhat smaller than that of Shōkiran or Natsuzuisen, but the proportion of the weight of the harvested bulb to the weight of the mother bulb tended to be a little higher than that of Shōkiran, being 1.94 at a sunny place and 2.41 at a slightly shaded place. From this, somewhat shaded condition

seemed to be suitable for the better growth of this plant, too.

2) The air-dry matter percentage in the bulb was 35.8 at a sunny place and 35.6 at a slightly shaded place. Namely, the difference between both conditions was not seen.

### IV. Snowdrop

Both of two bulbs used in this experiment decayed in the ground without sprouting, due to an unknown cause.

(昭和38年5月31日受付)

## 伊豆におけるガランタミン含有植物の栽培試験(第2報) 温室内においてしや光がショウキラン (*Lycoris aurea* HERB.) の生育ならびに収量におよぼす影響

宮崎 幸男・五太子 小太郎

著者らは 1961—1962 年の圃場試験で一般陽向地のほかにやや日陰の場所を設けてショウキランの一般生育状態に関する研究を行ないその結果を前報<sup>1)</sup>で報告したが、同時に温室内のポット試験でしや光とショウキランの生育ならびに収量との関係について研究したので本報ではこの結果を報告する。

### 材料および方法

供試球根 1961年6月種子島薬用植物栽培試験場より送られたもの

ポット ワグナー5千分の1アール

土壌 風乾砂 500g の上に風乾砂質壤土 3.2kg.

肥料 ポット当り3要素量各 0.5g, 炭酸石灰 5g.

しや光方法 約 20—35° の温室内でよしずの一重および二重による両しや光区 (Plot 2 および Plot 3) を設け、無処理区 (Plot 1) を加えて計3区とした。しや光方法の詳細はココの場合<sup>2)</sup>と同様であり、これら3区の光線の強さの比率は既報のごとく大体つぎのようであった。Plot 1 100, Plot 2 30, Plot 3 10.

反復数 4

定植 1961年6月27日, ポット当り1球植え

収穫 1962年9月13日.

### 実験結果および考察

#### I. 地上部の生育過程

Plot 1 では4個体中2個体が全然萌芽することなく枯死した。

開花始めは Plot 1 は11月8日, Plot 2 は10月5

—30日, 平均10月15日, Plot 3 は9月25日—10月20日, 平均10月15日でしや光度の加わるにつれて開花がやや促進される傾向が見られた。

葉の生育過程を Fig. 1 に示したが無処理区はしや光両区にくらべ葉数, 草丈ともに著しく劣る傾向が見られた。Plot 2 と Plot 3 とでは葉数の差はほとんど見られないが, 草丈においては Plot 3 は Plot 2 にややまさる傾向が見られた。なお温室内では無処理区でも翌年の夏になって葉が完全に枯れることなくしや光両区では夏は冬よりやや生育が衰えるが依然としてかなりおう盛な生育を続け葉の生育の停止する様子は全然見られなかった。このようなしや光区における葉の生育は露地における生育<sup>1)</sup>とは著しく異なる現象である。

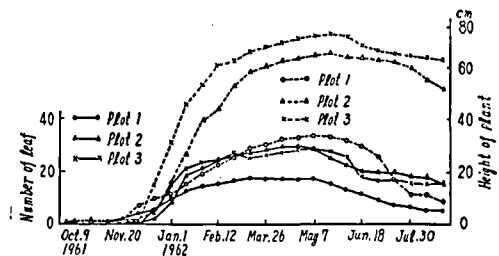


Fig. 1. Growth process of the leaf of Shōkiran (*Lycoris aurea* HERB.) under different light intensities in the greenhouse, 1961-1962

## II. 収量

地上部、地下部の収量を Table 1 に示した。

### 1) 地上部

収穫時には既述のように無処理区では地上部の大部分が枯死しているのに対し、光両区では依然生育が続いているのでこれら両区では無処理区に比べて葉重のきわめて大きいのは当然である。光両区では葉数にはほとんど差がないが Plot 3 は Plot 2 に比べ葉の生体重はかなり大きい。これは葉幅では両区間の差はほとんどないが Plot 3 は Plot 2 に比べ葉長がやや大でありまた含水率もやや高いことによると思われる。したがって葉の風乾重においては両区間の差はほとんど見られない。

### 2) 地下部

収穫球根の生体重は Plot 2 最高で Plot 1, Plot 3 の順に低下し、収穫球根重の種球根重に対する比（以下球根の増大率と呼ぶ）も Plot 2 は 1.61 で最も高く Plot 1, Plot 3 の順に低下し後 2 区ではいずれも 1 以下で収穫球根が種球根よりも小さくなっている。

Plot 1 では収穫された 2 個体の球根の生育が不揃で増大率は 1.11 および 0.51 であり後者は生育異常によるものと見られる。すなわち Plot 1 では植物の生育が著しく阻害され途中枯死するものができるばかりでなく生きのこった個体でも生育が異常になることがあり良好な生育を逃げるものはきわめて少ないことになるが、このような現象は主として高温と強い光線とが相加わったためおこったものと思われる。Plot 3 で収穫球根重が種球根重より低下したのは高温と弱光のもとではおう盛な葉の生育がほとんど常時続きかつ過度の弱光のもとでは葉における同化物質の蓄積が比較的少なくこれよりも球根中の貯蔵物質の葉の生育に消費される割合が大きいため起きたものと思われる。更に球根の乾物率においても Plot 2 最も高く Plot 1, Plot 3 の順に低下し球根の生育の悪い区ほど乾物率も低い傾向が見られる。したがって球根の乾物収量からは後両区は Plot 2 に比べて一層劣ることになる。

細根の重量、最大根長もまた Plot 2 最も高く Plot 3, Plot 1 の順に低下し、とくに Plot 1 における細根の生育の低下が著しい。

つぎにこれら本実験における球根の生育の結果を圃場試験<sup>1)</sup>の場合と比較すると球根の増大率については本実験では Plot 2 より最高値の 1.61 が得られたがこれは圃場における一般陽向地での 1.25—1.58 とは大差なく精々これらよりわずかに高い程度であり日陰地の 1.96 に比べると逆にやや低い。また球根の乾物率は温室栽培のものは圃場栽培のものに比べ全般的

に相当低いことが注目される。すなわち温室栽培でも圃場栽培の場合と同じく陽向のもとよりもやや光された条件のもとで球根の生育の良好なことに変わりはないが、球根の増大率は温室栽培では圃場栽培に比べ全般的にかなり低下すると見てよい。これは周年高温の続く場合は葉の生育期間が長かつ光条件のもとでは葉の生育が特におう盛でほとんど停止することがないので、同化物質の貯蔵と消耗との比率が圃場の場合より低下するためと思われる。

## 摘 要

1) 約 20—35° の温室内でよしずの一重および二重による両光区 (Plot 2 および Plot 3) のほかに無処理区 (Plot 1) を設け光がショウキランの生育、収量におよぼす影響につき 1961—1962 年に研究がなされた。

2) 開花は光度の加わるにつれてやや促進される傾向が見られた。

3) 葉の生育は光両区では無処理区に比べはるかにおう盛で、また Plot 3 は Plot 2 よりもややまさる傾向が見られた。

4) 収穫球根の重量ならびにこれに対する種球根重の比率ともに Plot 2 最高で Plot 1, Plot 3 の順に低下した。すなわち適度の光は球根の生育に好影響をおよぼすが光度の強すぎるときは球根の生育は逆に著しく阻害される傾向が見られた。

5) 球根の乾物率は Plot 2 で最も高く Plot 1, Plot 3 の順に低下した。

6) 細根重も Plot 2 最高で Plot 3, Plot 1 の順に低下した。

## 文 献

- 1) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試験, 81, 172 (1963)
- 2) 宮崎幸男, 渡辺宏之: 衛生試験, 81, 167 (1963)

## Summary

Experimental Cultivation of the Plants Containing Galanthamine at Izu. II. Relation of the Light Intensity to the Growth and Yield of Shōkiran (*Lycoris aurea* HERB.) in the Greenhouse.

Yukio MIYAZAKI and Kotarō GODAISHI

1) Effect of the shading treatment on the growth and yield of Shōkiran (*Lycoris aurea* HERB.) was investigated in 1961—1962 under the following three plots of different light intensities

Table 1. Effect of the light intensity on the yield of *Shōkiran* (*Lycoris aurea* HERR.) in the greenhouse, 1961-1962

Plot	Light intensity	Mother bulb		Leaf					
		Fresh wt.		Fresh wt.		Air-dry wt.		Air-dry matter in fresh leaf	
		Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
1	100	82.5~127.5	104.9	1.6~2.4	2.0	0.2~0.3	0.3	12.5	12.5
2	30	86.5~116.0	102.3	44.2~54.0	49.6	6.3~6.7	6.6	12.4~14.9	13.3
3	10	92.0~115.5	104.6	59.6~76.8	67.1	5.4~8.6	6.8	9.1~11.2	10.0

Dry matter in air-dry leaf		Dry matter in fresh leaf		Width of fresh leaf		Number		Fresh wt.	
Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
79.7~81.5	80.6	10.0~10.2	10.1	1.2~1.3	1.3	2~3	2.5	54.9~148.8	101.9
80.9~81.3	81.0	10.0~10.7	10.4	1.9~2.2	2.1	2~3	2.8	154.8~181.7	163.4
78.6~82.3	80.8	7.4~9.1	8.1	1.9~2.3	2.1	2~3	2.5	66.8~94.3	79.8

Harvested bulb									
Air-dry wt.		Air-dry matter in fresh bulb		Dry matter in air-dry bulb		Dry matter in fresh bulb		Fresh wt.	
Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
11.9~39.3	25.6	21.7~26.4	24.1	84.9~85.1	85.0	18.5~22.4	20.5	5.3~8.3	6.8
40.0~47.4	43.6	25.6~27.8	26.7	85.5~86.4	86.1	21.9~23.9	23.0	42.2~87.4	61.1
12.9~20.2	16.2	18.1~21.7	20.2	84.7~86.1	85.5	15.5~18.4	17.2	26.5~60.1	39.6

Root											
Air-dry wt.		Air-dry matter in fresh root		Dry matter in air-dry root		Dry matter in fresh root		Maximum length		Proportion of fresh wt. of harvested bulb to fresh wt. of mother bulb	
Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
0.4~0.6	0.5	7.2~7.5	7.4	76.7~77.8	77.3	6.1~6.4	6.3	13.5~33.0	23.3	0.51~1.11	0.84
3.0~6.0	4.2	6.5~7.1	6.9	78.0~81.2	79.6	5.5~5.9	5.7	30.0~95.0	54.0	1.47~1.86	1.61
1.8~3.9	2.6	5.8~6.8	6.5	77.5~79.5	78.6	4.9~5.6	5.3	34.0~55.0	40.8	0.69~0.82	0.76

in the greenhouse where the temperature was kept at about 20-35°C: Plot 1 (unshaded)-full sunlight, Plot 2 (shaded with single screen of marsh-reed) -30% sunlight, and Plot 3 (shaded with double screen of marsh-reed)-10% sunlight.

2) The flowering tended to be promoted somewhat according to the degree of shading.

3) The remarkably vigorous growth of the leaf continued in the shaded two plots, on the other hand, the growth in the control was re-

tarded considerably, and Plot 2 seemed to exceed a little Plot 3 in this respect.

4) The yield of the bulb and also the proportion of the weight of the harvested bulb to the weight of the mother bulb were highest in Plot 2 and decreased in order of Plot 1 and Plot 3. From this, moderate shading was found to have a good effect on the growth of the bulb, although excessive shading brings about a reversed result.

5) The air-dry matter percentage in the bulb was highest in Plot 2 and decreased in order of Plot 1 and Plot 3.

highest in Plot 2, and decreased in order of Plot 1 and Plot 3.

(昭和38年5月31日受付)

6) Also the weight of the fibrous root was



## 春日部におけるカンゾウの試作栽培について

川谷豊彦・大野忠郎・石原活磨・逸見誠三郎

最近カンゾウの栽培が問題になっている。著者らは、品質のよい、本邦の風土に好適する系統を選出することを目的として、1956年より *Glycyrrhiza* 属植物の試作を行ない、有望な数系統を見出したので報告する。

材料 1956年と1957年の兩年種子交換によって入手した次の6種、2変種、延べ15系統である。

*Glycyrrhiza echinata* L. 3系統 (Moscow, East Lansing, Lodz)

var. *Fearitis* (ORPH.) BOISS. 1系統 (Coimbra)

*G. foetida* DESP. 3系統 (Turin, Dijon, Coimbra)

*G. glabra* L. 3系統 (Hamburg, Brno, Basle)  
var. *glandulifera* REGEL et HERDER 2系統  
(Tashkent, Liege)

*G. glandulifera* WALDST. et KIT. 1系統  
(Tashkent)

*G. pallidiflora* MAXIM. 1系統 (Moscow)

*G. uralensis* FISCH. 1系統 (Tashkent)

この外當場標本園に栽培してきた *G. glabra* var. *glandulifera* の2系統 (A, B) を対照とし、計17系統を用いた。

栽培概要 種子入手のつど植木鉢または木箱に播種して育苗に成功したものを、第1回：1957年10月

Tabl 1. Growth and yield of *Glycyrrhizas* cultivated at Kasukabe (1957~1962)  
(Harvested on March 5~7, 1962; Measurement per plant)

No.	Species	Origin	Date of planting	No. of plants	Plant height (cm) 1959	Weight of seeds (g) 4/VIII 1959	No. of plants harvested	Diam. of root crown (cm)	Diam. of main roots (cm)	Length of roots (cm)	Air-dried wt. of roots (g)	Air-dried stolons (g)	Sweetness of roots (stolons)	Presence of stolons
7508	<i>G. glabra</i>	Hamburg	31/X 1957	21	155	2.4	14	3.5	3.0	110	475		-	-
7208	"	Brno	"	3	100		3	2.8	2.2	118	165		+	-
A	var. <i>glandulifera</i>	This Station	"	17	47		1	1.0	1.1	140	76	9	+	+
B	"	"	"	19	124	6.6	11	3.2	2.2	120	260		-	-
6877	"	Tashkent	"	7	69		1	2.9	1.6	80	90		+	-
7238	"	Liege	"	25	200	40.7	21	5.2	3.6	114	550		-	-
6935	<i>G. echinata</i>	Moscow	"	13	183	26.3	8	4.5	3.2	103	493		-	-
7114	"	East Lansing	"	9	165	1.4	6	4.0	2.9	102	591		-	-
6859	"	Lodz	"	18	153	2.7	19	3.3	2.7	118	301		-	-
7009	var. <i>Fearitis</i>	Coimbra	"	30	164	32.8	6	5.1	3.0	102	794		-	-
6894	<i>G. glandulifera</i>	Tashkent	"	6	152		2	5.9	2.9	127	733		-	-
7258	<i>G. foetida</i>	Turin	"	6	192	40.3	4	4.8	2.9	99	638		-	-
6936	<i>G. pallidiflora</i>	Moscow	"	12	109	11.7	4	4.0	2.6	144	540		-	-
6878	<i>G. uralensis</i>	Tashkent	"	10	98		4	2.2	1.5	113	247	266	+	+
7590	<i>G. glabra</i>	Basle	25/XI 1958	16	96		3	6.0	2.9	116	945		-	-
7821	<i>G. foetida</i>	Dijon	"	9	66		3	6.9	3.1	138	1,175		-	-
7950	"	Coimbra	"	14	86		10	5.3	2.4	118	935		-	-

31日, 第2回: 1958年11月25日に畦間120cm, 株間60cmに定植した。収穫は1962年3月5日から7日までに全株を掘り上げた。

**試験結果** 生育, 収根量, ストロン収量および根(ストロン)の甘味の有無はTable 1のとおりである。

生育は定植後1年目は進まず, 2年目になって盛んになることが認められた。生育, 収根量ともに甘味のあるものは, 然らざるものに比し著しく劣っており, 開花結実も見られなかった。

根に甘味のあったものは *G. glabra* 1系統, *G. glabra* var. *glandulifera* 2系統, *G. uralensis* 1系統, 計4系統であった。このうち系統A (*G. glabra* var. *glandulifera*) と系統6878 (*G. uralensis*) との2系統の横走するストロンはともに甘味が強く, 前者の表層はその根と同様に赤褐色であるが, *uralensis* のそれは灰色であった。また実質はともに黄色であった。甘味をもつ系統の根の外側はいずれも赤褐色, 実質は黄色であった。根の収量はTable 1のとおりで

あるが, すべてストロンを含まない数値である。収穫の際地中を横走するストロンは互いに錯綜し, 一定の株のもののみを収穫することは困難であり, また定植後主株が枯死し, ストロンのみ生長を続けたと思われるものもあり, 1株当りのストロン収量は調査できなかった。定植株あたりのストロン収量を参考に示すと, 系統Aは9g, 系統6878は266gであった。

その他のものはすべて甘味はほとんど感ぜられず, 苦味が強かった。

栽培中, 病害らしいものは認められず, 虫害としては夏期にアブラムシの発生を見たが, これはBHC粉剤またはパラチオン剤で容易に駆除できた。

#### 摘 要

1) *Glycyrrhiza* 属植物6種 (*G. echinata*, *G. foetida*, *G. glabra*, *G. glandulifera*, *G. pallidiflora*, *G. uralensis*) 延べ17点の試作栽培を行なった。

2) 甘味のある有望なものとして *G. glabra* 1系統, *G. glabra* var. *glandulifera* 2系統, *G. uralensis* 1系統, 計4系統を見出した。

## 放射線照射の印度蛇木の発芽におよぼす影響 (続 報)

川 谷 豊 彦・逸 見 誠三郎

著者らは1960年に印度蛇木種子に $\gamma$ 線照射(線量500r~10,000r)を行ない, 発芽率については有意差の認められなかったことを報告した<sup>1)</sup>。

今回は照射線量をさらに増加して, 再び実験を行なったので, その結果を報告する。

この試験を実施するにあたり,  $\gamma$ 線照射につき御配慮を賜った本所特殊薬品部長沢佳熊部長, ならびに照射を行なわれた城戸靖雅技官に謝意を表す。

**実験材料** 1960年採種の種子島産種子

**実験方法** 前記印度蛇木種子を直径9cmのシャーレに水約20ccを入れたものに浸漬し, 満1昼夜吸水せしめて,  $^{60}\text{Co}$ による $\gamma$ 線の照射処理を行なった。線源より, 検体を置く円盤の中心までの垂直距離は10cm, 円盤の中心から検体までの距離は8cm, 線源より検体までの距離(直角三角形の斜辺)12.81cm。

照射日 1961年4月7日

線源の強さ 1961年4月7日現在 122.93c

Table 1. Influence of  $\gamma$ -ray radiation on the germination of *Rauwolfia serpentina* BENTH. (Radiated on April 7, 1961; sown on April 8, 1961)

Treatment	Germination (%)
R <sub>0</sub> (Control)	79.9
R <sub>1</sub> 1,250 r	90.0
R <sub>2</sub> 2,500 r	83.5
R <sub>3</sub> 5,000 r	23.0
R <sub>4</sub> 10,000 r	9.0
R <sub>5</sub> 20,000 r	0
R <sub>6</sub> 40,000 r	0
R <sub>7</sub> 80,000 r	0
A.M.D. (0.05) <sup>a)</sup>	25.4
A.M.D. (0.01)	33.5

a) Approximate value of minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level

## 照射時間および照射線量

試験区 記号	R <sub>0</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
照射線量	0	1,250r	2,500r	5,000r	10,000r	20,000r	40,000r	80,000r
照射時間(対照区)	8'43"	17'26"	34'51"	69'42"	139'43"	278'49"	557'58"	

処理種子数 各区 200 粒 (100 粒ずつの 2 連制)

対照区のみ 700 粒 (100 粒ずつの 7 連制)

播種 1961 年 4 月 8 日 温室内の木箱

管理 温室内で行ない時々箱の位置をランダムに変更した。

実験結果および考察 発芽は 6 月 20 日からじまった。1961 年 8 月 1 日調査の発芽率は Table 1 の

とおりである。発芽率は照射線量 2,500 r までは有意差がないが、5,000 r 以上になると急激に低下し、20,000 r 以上では全く発芽しなかった。

## 摘要

1) あらかじめ吸水せしめた印度蛇木種子に  $\gamma$  線を照射して、発芽におよぼす影響について試験した。

2) 発芽率は照射線量 2,500 r までは有意差はないが、5,000 r 以上になると急激に低下し、20,000 r 以上では全く発芽しなかった。

## 文 献

- 1) 川谷豊彦・逸見誠三郎：衛生試験報，80，166 (1962)

## ミシマサイコの病害について (第 1 報)

## 根および葉からの病原菌の分離

倉 田 浩・藤 田 早苗之助

ミシマサイコ *Bupleurum falcatum* L. は根が肝臓疾患に卓効があることが知られ、最近急激に需要の増加した薬用植物の一つであるが、これが栽培上の難点に根の病害がある。本病は早期発生の場合ではすでに 1 年生の根が侵害せられ、乾腐性の病状を示し、その年の秋までに枯死するものもあり、わずかに越冬した 2 年生の株でもその年の秋までにはほとんど本病で倒伏してしまう。生薬原料としては 2 年目の根を最も必要とするので、本病はサイコ増産上の致命的な障害といえる。この病因を確かめるために昭和 37 年秋以来試験を行ない、現在薬剤による防除試験を実施中であるが、一応それまでに得られた所見の概要を記述する。

川谷場長ならびに大野技官の御支援を得た。記して感謝の意を表する。

発病状況：初期発病の時期は確かでないが、9 月頃に生気を失った株の根を抜いて調べてみると、主根、特に地際に近い部分の表面に赤褐色の病斑を散生し、これは拡大すると暗褐色～黒褐色に変わり、その部は多少凹入して潰瘍状を呈し、腐朽のはなはだしい根では側根、および皮層部は損失して繊維状となって残る。軟腐状を呈することはない。本病株の地上部の茎葉に黒褐色、径 0.2～0.5 mm の斑点を散生するものもあり、時に全葉が生気を失ない、先端から捲縮、黄化しながら枯死する場合もある。地上部の黄変、葉枯

れの顕著な株をひき抜いて根を調べるとほとんどが根が乾腐しつつあることが認められた。本病をミシマサイコの根朽病とする。

病菌の分離：昭和 36 年 3 月 6 日に播種したサイコ苗を 4 月 18 日に鉢植としたものにつき、時々掘り出して根の病害を確認し、これらの材料から病菌の分離試験を行なった。この際、外観正常な株からも、同様の部分を対比しながら分離を併行して行なった。病菌の分離は通常根、茎、葉などから組織分離法によった。培地は酸性 PDA 培地、培養温度は 25° で 5～7 日間で、発生する糸状菌を斜面培養に移した。表面殺菌は 0.3% sodium hypochloride 溶液で 2～3 分間とした。

結果を第 1 表に示す。

## 分離試験結果

1) 全般に健全と認められた株からは糸状菌の分離が少なく、これに反して病株と認められた株からは、地上葉、茎および地下根部ともに菌の分離頻度は高かった。また野生の株は、圃場の激発した株と比較してわかるとおり菌による汚染は僅少である。

2) 9 月 7 日に調査した株では、それから 30 日以後に調査した株と比較すると菌の分離は少ない。このことは 9 月中、下旬にかけて菌の侵入する機会が多いものと推定せられる。

第1表 ミシマサイコの根、茎よりの病菌分離試験（1961）

株 No.	病 状	地際部切断面 の変化	分 離 部 位	分 離 材 料 数	<i>Fusarium</i> ,	<i>Phoma</i>	<i>Alter-naria</i>	そ の 他	培養記号
発 病 株	1 主根、赤褐色の腐 朽病斑	暗褐色、導管 部壊死明瞭	{主根 葉	8	6	0	0	0	A-1
				8	1	8	1	0	A-2
	2 葉に斑点、主根、 赤褐色病斑	淡黄色に浸潤	{地際根 支根 葉	8	7	0	0	0	C-1
				4	0	0	0	0	C-2
				12	0	3	0	0	C-3
	3 地際部黒褐色に変 質腐朽	やや黄変開始	{主根 茎	15	7	1	0	5	H-1
15				0	0	7	7	H-2	
4 同 上	同 上	主根	15	0	4	2	1	I-1	
5 同 上 亀裂を生ず	黒褐色、導管 部壊死	{主根 葉	15	6	0	6	0	K-1	
			15	0	0	21	0	K-2	
6 (圃場)	全根部黒変、 地上部枯死	同 上	{主根 茎(地際)	40	15	26	0	0	L-1
健 全	7 地上部健全、根部 正常	ナ シ	{支根 根毛 地際茎	5	0	0	0	0	B-1
				8	1	0	0	0	B-2
				8	0	0	0	0	B-3
8 地上葉にわずかに 斑点	"	{葉 地際茎	8	0	0	0	0	D-1	
			8	0	0	0	0	D-2	
9 地上、根部ともに 正常	"	{主根 茎	15	2	0	0	2	G-1	
			15	0	0	27	0	G-2	
10 同上、根の発育は 短少	"	主根	15	9	2	2	1	F-1	
株 11 地上葉に僅かに斑 点あり	"	{主根 葉	15	3	10	0	0	J-1	
			15	0	2	7	0	J-2	
12(野生)	地上茎、地下 根ともに正常	"	主根	25	2	0	3	7	W-1

註 i) 株1, 2, 7, 8は9月7日、このほかの株は10月6日に調査ならびに菌分離した。

ii) 株6の圃場のものは11月2日、株12の野生は筑波山麓で12月3日藤田が採集した。

3) 分離された菌の種類について検討すると、*Alternaria* 属菌が最も多く、*Fusarium* *Phoma* 属菌らがこれにつき、その他 *Phomopsis*, *Botrytis*, *Trichoderma* 属菌らが分離された。

*Alternaria* spp. は主として地上部茎および葉より分離されたが主な病因菌とは考えられず、根部より多く分離される *Fusarium* spp. および葉、茎、根の全

般から分離される *Phoma* sp. の両属菌らが病原菌と考えられた。普通植物の根部を侵害し病害を起因する *Pellicularia* および *Sclerotium* 属菌は一例も分離されなかった。野生株の根からは *Penicillium*, *Aspergillus* 属菌などの腐生菌が多く得られた。

(昭和38年5月31日受付)

ミシマサイコの病害について (第2報)  
分離糸状菌の病原性

倉田 浩・藤田 早苗之助

先にミシマサイコ *Bupleurum falcatum* L. の葉、茎および根の病患部と思われる部位から分離した種々の糸状菌類中で、病因菌と考えられる菌株をえらんでまず根部に接種し、その病原性の有無を確かめた結果を報告する。

川谷場長ならびに逸見技官の御教示を得た記して感謝の意を表す。

実験材料：供試植物は昭和37年3月9日播種、5月29日に径16cmの素焼鉢に移植、3本植とした。

菌の接種ならびに調査：分離各菌系の接種は9月12日に、あらかじめPDA斜面培地に25°C、10日

間培養した菌叢をかきとり、細く破碎したものを、株の地際直下の主根の片側に接着させた。この接種部位は、接着以前に消毒した針で30箇所、さして微細な傷をつけ接種菌の侵入を容易にさせた。この有傷接種は一鉢中の二株について実施し、他の一株は接種せず、針のみで傷をつけたのみで対照区とした。供試菌は植物病原菌と認められるもの、特に分離頻度の高かったもの15種を用いた。発病調査は11月27日全株を掘上げて接種部位における病変の有無と、その進展程度を観察記録した。

接種試験結果：結果を第1表に示す。

第1表 サイコ病菌接種試験株の生育ならびに病徴 (1962)

接種菌	個体別	草丈 (cm)	根径 (cm)	葉色	病徴		病原性
					地上部	地下部	
<i>Fusarium oxysporum</i>							
A-1-1 (根)	対照	62	0.6	紫	なし	なし	-
	接種 a	51	0.5	濃紫	なし	接種部僅かに変色	+
	接種 b	61	0.5	濃紫	なし	接種部とその周辺変色	+
<i>Verticillium</i> sp.							
A-2-2 (葉)	対照	18	0.8	淡紫	なし	なし	-
	接種 a	47	0.7	紫	なし	接種部とその周辺壊死	++
	接種 b	52	0.6	紫	下葉枯死す	接種部とその周辺壊死	++
<i>Alternaria</i> sp.							
A-2-3 (葉)	対照	33	0.8	緑	なし	なし	-
	接種 a	50	0.6	淡紫	下葉枯死す	接種部に深くかつその周辺壊死	++
	接種 b	45	0.6	淡紫	下葉枯死す	接種部とその周辺壊死	++
<i>Fusarium moniliforme</i>							
A-2-4 (葉)	対照	55	0.7	淡紫	なし	なし	-
	接種 a	51	1.0	淡紫	なし	接種部のみ褐変	-
	接種 b	53	0.6	紫	下葉枯死す	接種部とその周辺壊死	+
<i>Phoma</i> sp							
A-2-6 (葉)	対照	15	0.5	淡紫	なし	なし	-
	接種 a	51	0.6	淡紫	なし	接種部とその周辺変色	++
	接種 b	75	0.6	淡紫	なし	接種部とその周辺変色	++
<i>Fusarium oxysporum</i>							
B-2-1 (根)	対照	67	1.0	濃紫	なし	なし	-
	接種 a	35	0.5	濃紫	主茎葉枯死す	接種部とその周辺壊死	++
	接種 b	40	0.6	濃紫	主茎葉枯死す	接種部とその周辺壊死	++

接種菌	個体別	草丈 (cm)	根径 (cm)	葉色	病徴		病原性
					地上部	地下部	
<i>Alternaria tenuis</i>							
C-2-1 (根)	対照	35	0.5	緑	なし	なし	—
	接種 a	63	0.7	紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
	接種 b	43	0.7	紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Fusarium oxysporum</i>							
D-1-1 (葉)	対照	57	0.7	濃紫	なし	なし	—
	接種 a	55	0.5	濃紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
	接種 b	62	0.7	濃紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Cercospora</i> sp.							
D-1-3 (葉)	対照	25	1.0	淡紫	なし	なし	—
	接種 a	47	0.7	紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
	接種 b	38	0.5	紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Helminthosporium</i> sp.							
K-2-3 (葉)	対照	92	0.6	淡紫	なし	なし	—
	接種 a	64	0.8	淡紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
	接種 b	22	0.8	淡紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Phomopsis</i> sp.							
L-1-1 (根)	対照	67	0.7	濃紫	なし	なし	—
	接種 a	68	0.8	緑	なし	接種部とその周辺広く壊死	卅
	接種 b	63	0.5	濃紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Phoma terrestris</i>							
L-1-5 (根)	対照	79	0.7	淡紫	なし	なし	—
	接種 a	43	0.7	緑	なし	接種部の痕跡のみ	卅
	接種 b	45	0.6	淡紫	なし	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Penicillium notatum</i>							
W-2 (根)	対照	20	0.5	紫	なし	なし	—
	接種 a	55	0.7	淡紫	なし	接種部とその周辺褐変	—
	接種 b	37	0.5	淡紫	下葉枯死す	接種部痕跡も不明	—
<i>Fusarium</i> sp.							
W-3 (根)	対照	51	0.5	緑	なし	根頭部に縦に変色部あり	—
	接種 a	48	0.6	濃紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
	接種 b	60	0.6	濃紫	下葉枯死す	接種部とその周辺褐変	卅
<i>Mucor</i> sp.							
W-4 (根)	対照	21	0.6	紫	なし	なし	—
	接種 a	58	0.8	淡紫	なし	接種部とその周辺変色	+
	接種 b	55	0.6	濃紫	下葉枯死す	接種部とその周辺変色	+

註 i) ( ) 内は菌の分離部位を示す。

ii) 病原性判定の表示：— なし，+ 不明，卅 ややあり，卅 相当あり，卅 強い病原性あり。

本接種試験の結果から確実に病原性を有する菌株と認定できたのは、*Phoma terrestris* (L-1-5)、*Phomopsis* sp. (L-1-1)、*Fusarium oxysporum* (B-2-1; D-1-1)、および *Cercospora* sp. (D-1-3) などであり、主として病株の根部より分離された菌であるが、例外として *Cercospora* sp. のように地上葉の病斑から得られた菌種もある。以上の菌種の中で前二者が最も強い病原性を示した。

また *Cercospora* sp. を除く、他の三者の頭わす病徴は、圃場における自然発生の病状ときわめて近似するものであって、いずれをサイコ根の乾腐病の主病原菌と判定すべきか簡潔にきめることができなかった。おそらの本病は少なくともこれらの3菌が関係しているものと考えられる。

野生サイコの根葉から分離した W-2、W-3、W-4 の各分離菌ははっきりした病原性を示さなかった。

これらは単に腐生的に根に寄生していたものと思われる。

サイコの各器官から相当数分離される *Fusarium* 属菌は、形態的にはほぼ同一のものであって、*F. oxysporum* と同定できる種の中でも分離系統によって病原性がやや異なるものようであった。しかし、先の *Phoma terrestris*, および *Phomopsis* sp. に比べると、さほど病原性は強いとも考えられず、乾腐性病害の主たる病原菌を前二者とするならば、その随伴菌とみなされるようであった。

### 摘 要

ミシマサイコの病害株から得られた 15 種の糸状菌を、接種試験によって病原性を検定した結果、*Phoma terrestris*, *Phomopsis* sp および *Fusarium oxysporum* などの菌が強い病原性を示したことから、ミシマサイコの根の乾腐病はこれらが原因菌であろうと判定された。したがって本病予防にはこれらの菌に対する薬剤を土壌に与えて防止せねばならない。

(昭和38年5月31日受付)

## 種子島における印度蛇木の栽培試験 (第 4 報)

### 4 年生植物の月別収穫の成績

高 城 正 勝

印度蛇木を栽培するにあたって総アルカロイドと有効成分である reserpine, rescinnamine 群と、強塩基成分である serpentine, serpentinine 含有量の如何は原料根の価値を左右する重要な問題である。本邦のような気温較差の著しい地域に栽培した場合は生理的にも成分的にも自生地のものとは当然相違するものと思われる。すなわち生育が盛んな夏期と完全に葉ぶるいしている冬期に収穫した根のアルカロイド含量は量質ともに変異を生ずることが予想される。それで4年生植物を月別に収穫し、月々の収根重、およびアルカロイド含有量を比較研究し、あわせて収穫適期を確立して実際栽培に寄与することを目的として、1960~1961年にかけて本実験を実施し若干の成績を得たので報告する。

本実験を実施するにあたり根の分析をしていただいた大日本製薬株式会社中央研究所長筒井博士、ならびに同所金子、中村両博士に謹んで謝意を表します。

#### 材料および方法

材料：本研究に使用した植物は第3報に供試した同系統の個体株で種子はインドより入手のもの、1957年6月6~8日に当場の冷床に播き翌春砂質壤土の圃場に定植した4年生株である。

方法：3年生までの耕種概要は前報のとおりであるが、本実験では施肥量は10アール当たり成分として窒素 11.25 kg を硫酸アンモニアで、リン酸 9.375 kg を過リン酸石灰で、加里 9.375 kg を塩化カリウムで7

月5日および8月5日に等量ずつ分施した。なお、夏季は乾燥がはなはだしいのでたびたび灌水した。病害虫の被害は見られなかったので薬剤は使用しなかった。生育調査は5月2日から12月27日まで毎週1回実施し樹高と葉数を調べた。収穫は毎月1回、月の15日に3株ずつ掘り取り、水洗後ガーゼにて水分を拭き総重量、生根重、根長、根の最も肥大した部分の直径、莖長、花序数等を調べ、風乾日数は24~30日間室内で行なったが、検体発送の都合で11月収穫根は9日間、12月収穫根は18日間打切った。

#### 実験結果

##### 1) 地上部の生育について

同一株について毎月収穫日に樹高、葉数を観察した。樹高については、5月10日までは前年の最終調査日の12月15日と全く同高であったが、5月16日の調査では0.7 cm 伸び、5月30日には3.9 cm に生長している。月別にその生長量を示すと、6月4.2 cm、7月3.3 cm、8月1.5 cm、9月4.4 cm、10月0.3 cm で11~12月の生長は全く0であった。すなわち、4年生株令の4~10月までの生育期間中樹高生長は17.6 cm であった。

葉数については、実験第1回の4月15日の収穫日には完全に展葉していないが、展開寸前の状態で、5月2日の第1回調査では平均6.3枚を数えた。これは4月下旬の平均気温が中旬に比べ約3°Cも上昇したことによるものだと思われる。各月別に示すと5月

51.6 枚, 6月 27.5 枚, 7月 19.4 枚, 8月 9.7 枚  
9月 16.9 枚, そして 10月 5.6 枚とそれぞれ増葉  
しているが, 11月 29.2 枚, 12月 107.7 枚が寒気  
のために脱落し, 12月 27 日の最終調査には 0.1 枚  
の葉を残すのみとなった。

## 2) 収量について

収穫は 1960 年 4 月 15 日から翌年 3 月 15 日ま  
で毎月 1 回行なった。植物の収穫については第 1 表の  
とおりであるがこれは 3 株の平均値になっている。こ  
れら収穫物を各個体別に比較検討すると, 生体総重量  
は 3 月 15 日収穫の No. 335 が最大で 399.3 g, 最  
小は 9 月 15 日収穫の No. 318 で 82.5 g であった。  
したがって, 生体根重も No. 335 が最大で 285.6 g,

No. 318 が最小で 40.1 g であった。もっとも収穫月  
日がそれぞれ異なっているので, 比較することは妥当  
性を欠くが, 個体差が著しく相違しているのは今まで  
の実験からして断言できよう。根の風乾日数は室内自  
然乾燥で夏期, 冬期一律には決めがたいが, 24 日~  
30 日間で完全に風乾できた。風乾根重はやはり前述  
の No. 335 が最大で 127.3 g, 最小は No. 318 の 11.8  
g でその比率は約 10 : 1 であった。根の直径は 3 月  
収穫の No. 335 が 19.4 mm で最も太く, 1 月収穫  
の No. 329 が 11.2 mm で細かった。4 年生株の月  
別平均生根重は 4 月~9 月間はさほどの相違はみられ  
ないが, 10 月から増量していることが認められた。  
以上の観点から印度蛇木の根部の肥大生長は 9 月 15

Table 1. Comparison of the yield in each month of the 4-year-old plants cultivated at Tanegashima

Month	Fresh wt. of whole plant (g)	Roots						Top	
		Fresh wt. of root (g)	Length of root (cm)	Diam. of thick root (mm)	Drying term (day)	Air dried wt. of root (g)	Dry matter per cent (%)	Length of stem (cm)	No. of inflorescence
Apr.	169.4	121.3	56.0	15.8	24	36.9	30.4	93.2	—
May.	157.8	104.0	52.0	16.8	30	31.2	30.0	91.5	—
Jun.	147.5	92.8	50.0	15.8	30	25.8	27.8	78.7	3.0
Jul.	190.0	107.2	45.8	—	24	40.1	37.4	83.3	6.3
Aug.	230.8	102.0	49.3	14.4	30	31.0	30.4	76.7	11.7
Sep.	208.4	86.5	43.3	13.9	27	29.7	34.3	79.8	9.0
Oct.	215.3	118.5	66.3	16.1	27	39.3	33.2	74.1	6.7
Nov.	282.8	138.0	55.3	15.3	9	65.3	47.3	86.3	5.7
Dec.	291.0	180.9	42.7	16.1	18	80.8	44.7	100.5	10.3
Jan.	190.4	119.3	61.0	13.7	27	46.3	38.8	91.5	4.3
Feb.	189.5	130.9	43.3	12.6	30	46.3	35.4	94.0	—
Mar.	231.6	165.3	49.0	16.4	27	70.5	42.6	93.1	—

Table 2. Comparison of alkaloidal content in the root in each month of the 4-year old plants cultivated at Tanegashima

Month	H <sub>2</sub> O (%)	Total alkaloids (%)	Reserpine (%)	Rescinnamine (%)	U. V. spectra		
					E <sub>220</sub> m $\mu$	E <sub>252</sub> m $\mu$	E <sub>307</sub> m $\mu$
Apr.	8.8	2.1	0.072	0.038	1.36	0.699	0.316
May.	8.7	2.0	0.075	0.045	1.39	0.753	0.352
Jun.	8.6	2.6	0.065	0.045	1.39	0.732	0.351
Jul.	8.7	2.4	0.081	0.049	1.52	0.770	0.372
Aug.	7.6	2.3	0.087	0.053	1.46	0.753	0.390
Sep.	8.1	2.3	0.078	0.046	1.48	0.759	0.373
Oct.	8.7	2.3	0.082	0.053	1.62	0.734	0.363
Nov.	9.7	1.9	0.072	0.043	1.62	0.758	0.368
Dec.	9.6	1.9	0.062	0.046	1.60	0.781	0.375
Jan.	8.5	2.2	0.074	0.047	1.76	0.776	0.374
Feb.	7.1	2.2	0.062	0.044	1.49	0.709	0.336



日以降からではないかと思われる。

### 3) アルカロイド含量について

4年生株の各月別に収穫した風乾根のアルカロイド含量および紫外部吸光度は第2表に示した。すなわち総アルカロイド含量は6月収穫根が最高で2.6%、11月および12月収穫が最も低く1.9%であった。レセルピンおよびレンナミン等の有効成分は、強い太陽の直射で葉が萎凋する8月15日収穫が0.140%で最高値を示しているのに対し、寒冷のため完全に葉ぶるいし生長を停止している2月15日の収穫根が0.106%で最低であった。有効成分は総体的に7月~10月収穫した根に多含している傾向があり12月から翌年6月までに収穫した根には劣る傾向が認められた。セルペンチン、セルペンチニンなど強塩基成分の目安になっている紫外吸収スペクトル  $E_{307m\mu}$  も8月収穫が最高で0.390、4月収穫が最低で0.316であった。

### 考 察

種子島における印度蛇木の1カ年の生育を時期的に大別すると、生育開始の4~5月を萌芽期、生長の最盛期である6~8月を栄養最盛期、7~12月を開花結実期、葉ぶるいする1~3月を生育停止期、あるいは休眠期の4期に区分できるとと思われる。もちろんこれは種子島においての時期的区分である。

4年生と3年生株の月別生長量を比較することは、気象条件、環境の相違などにより正確を期しがたいが、生育期間を通じ2、3年生株は37.4cm、4年生株は17.6cm伸長しており、3年生株を100にした場合、4年生株は47.1であったことからして印度蛇木は株令が古くなるにしたがって地上部の伸長は若株より劣るものと思われる。各月の生育を示すと、4年生株は4月が0で、5月30日の調査に3.9cm、6月には4.2cm伸長しており、3年生株は4月27日の調査ではすでに2.2cm、5月に10.4cm、6月には11.5cmも生長している。4年生は4~6月の3カ月間に8.1cm伸びているのに対し、3年生株は同期間に約3倍の24.1cmも伸びており、4年生株は7月が3.3cm、8月1.5cm、9月4.4cm、そして10月が0.3cm伸びているのに対し、3年生株令では7月6.8cm、8月6.9cm、9月5.1cm、10月1.8cmで、生育期間中の気温の高低、雨量の相違に影響するであろうが、総体的に4年生株は3年生株の生長程おう盛でないことが認められた。

しかし、生育期間を通じての増葉総数は、4年生株は10月24日の調査で138.2枚、3年生株は111.4枚で4年生株が26.8枚多い数値を示している。これ

ら増葉数を月別に比較すると4年生株では4月6.3枚、5月51.6枚、6月27.5枚、7月19.4枚、8月9.7枚、9月16.9枚、10月5.6枚、であるのに対し、3年生株は、4月1.6枚、5月40.2枚、6月14.8枚、7月18.4枚、8月24.8枚、9月9.0枚、10月2.6枚となっており、増葉総数を比較すれば4年生株が多かった。これは古株になれば株立ちが増え、したがって葉数が増すことになるものと思われる。

次に各月別の収穫根重の比較は、生育期間の長短により正確性は期しがたいが、月別収穫のアルカロイド含量と関連し、さらに根部の肥大時期を察知する上に各月の収根重を比較したが、地下部の肥大生長時期は大体9月頃から始まり、葉の脱落する12月頃まで続くものと思われる。4年生株の1株平均の乾根重は45.3gで、これを条間60cm株間20cmで10アール当り8,100本植えにすると366.7kgの収根重に当り、3年生株の284.3kgに比較すると著しい多収である。

各月別の総アルカロイド含量についてはなんら有意差は認められないが、レセルピン、レンナミン等有効成分およびU.V.吸収スペクトルの  $E_{307m\mu}$  は8月が最高値を示しており、有効成分は7~10月の高温時に高含率を示すことは印度蛇木が成分のおよび生理的にも高温を要求する植物であることがうかがえる。次に総アルカロイドと有効成分およびU.V.吸収スペクトルを3年生株に比較すると4年生株は総アルカロイドの平均値は2.12%、有効成分は0.124%であり、3年生株は総アルカロイド2.6%、有効成分0.173%で3年生株が高率を示していたが、紫外部吸収スペクトルの  $E_{307m\mu}$  では4年生株が平均0.361であるのに対し、3年生株は0.295で4年生株が高く、したがってセルペンチン、セルペンチニン含量はインド産に近くなっている傾向が見られた。

本実験により印度蛇木の収穫適期は有効成分含量の高い7月~10月か、あるいは地下部が肥大生長する時期、すなわち9月~12月中に収穫するのが最も有利だと思われるが、総合的に検討すると種子島では10月収穫が適正であろうと考えられる。

### 摘 要

1. 4年生株の地上部の生長は5月10日から10月17日までの期間で、それ以後は全く停止した。全伸長量は17.6cmであり、3年生株の37.4cmに比して著しく劣っていた。
2. 増葉数は10月24日の調査時が最高で、1株

平均 138.2 枚に達し 3 年生株の 111.4 枚よりやや多かった。

3. 根部の肥大生長は 9 月頃から始まり、葉が完全に脱落する 12 月下旬まで続くものと思われた。1 株当たり平均乾根重は 45.3 g で 10 アールに換算すると 366.7 kg の収量である。

4. 総アルカロイド含量は 2.12%，レセルピン 0.076%，レンナミン 0.048% であった。U.V. 吸収

スペクトル  $E_{307m\mu}$  は 0.361 で古株になるにしたがって強塩基成分はふえる傾向が見られた。

5. 収根重、有効成分含量などから検討すれば 10 月が収穫適期であろうと考えられた。

#### 文 献

- 1) 高城正勝：衛生試験報，79，151(1961)  
(昭和38年5月31日受付)

#### 抄 録

##### Duboisia の栽培について

川谷豊彦，宮崎幸男：熱帯農業，6，129(1963)  
Duboisia の形態，分布，気候および土壌，繁殖，

定植，生育，収穫，病虫害，アルカロイド，栽培のための優良系統の育成などについての既往の文献の総説。

編 集 委 員

田 中 稔 (委員長)	岩 原 繁 雄	
朝 比 奈 正 人	川 谷 豊 彦	倉 田 浩
西 崎 笹 夫	小 川 秀 子	岡 田 太 郎
佐 藤 寿	柴 崎 利 雄	山 手 昇

昭和38年10月20日 印刷  
昭和38年10月25日 発行

衛 生 試 験 所 報 告 第81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

東京都中央区入船町 2の13

印 刷 所 株 式 会 社 小 薬 印 刷 所