

衛生試験所報告



第 89 号

昭和 46 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

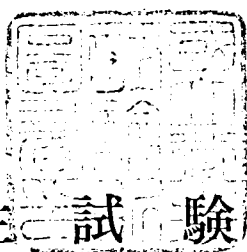
No. 89 1971

国立衛生試験所

衛生試験報
Eisei Shikenjo Hokoku

正 誤 表

ページ	位 置	誤	正
Ⅲ	下 15行	Iro	Irō
Ⅳ	上 7, 8行	"	"
1	右下 14行	分離	分離
3	右上 3行	ゴッドプレート	レッドプレート
"	Table 3 下 19行	X _s	X'.
4	右下 17行	Devidow	Davidow
22	右下 11行	相対比とは	相対比は KC-400 とは
"	" 6行	KC-400	KC-300
"	" "	KC-300	KC-500
"	" 5行	KC-500	KC-600
23	右下 4～5行	研究特別調整費	特別研究促進調整費
25	Fig. 1	DG	PG
26	Table 1 左下 9行	LAG	IAG
37	左下 14行	局方のⅦ	局方Ⅶ
"	右下 1行	Ⅶ局方	局方Ⅶ
39	右上 3～4行	その析を	その析出を
"	" 4～5行	とるべき出かは	とるべきかは
71	下 20行	Iro	Irō
73	左下 8行	TIS	JIS
86	右上 11行	84	85
92	右下 11行	Cetylalcoho ether	Cetylalcohol ether
99	Table 下 1, 6行	quinine	quinine
100	右上 6行	エトオキシベンズアミド	エトキシベンズアミド
102	右上 9行	ethyleneglycol	ethyleneglycol
103	左下 10行	electrophillic	electrophilic
108	右上 12行	1-car-bo	1-carbo-
"	右上 14行	ケイ色体	ケイ光体
"	左上 6行	275	327
109	右上 2行	N : 9 : 12%	N : 9.12%
114	右下 18行	Nalorpine	Nalorphine
136	実績表左下 4行	避妊用	避妊用
"	" 左下 21行	泡性	泡発性
138	実績表左下 12行	タンニ酸	タンニン酸
144	Table (1), 7	20 mg	20 g
145	Table (2), 21	10 mg 入	500 単位入



衛 生 試 験 所 報 告

第 89 号

昭 和 46 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

No. 89 1971

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国 立 衛 生 試 験 所

目 次

報 文

C ₁₈ 脂肪酸の ¹³ C-NMR スペクトル	叶多謙蔵..... 1
赤外吸収スペクトルの医薬品試験における応用 (第20報) 示差熱分析と赤外分析とを併用した 結晶多形に関する研究.....	小嶋茂雄・大場琢磨..... 4
赤外吸収スペクトルの医薬品試験における応用 (第21報) 無水ケイ酸の結晶多形であるクリスト バライトおよび石英混合物の臭化カリウム錠剤法による定量.....	小嶋茂雄・堀部 隆・大場琢磨..... 9
医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究 (第6報) ディスポーザブル気泡型人工心肺 セットの溶出について.....	堀部 隆・小嶋茂雄・大場琢磨.....13
医療用具の放射線滅菌に関する研究 (第3報) 腸線縫合糸の吸収速度について (<i>in vitro</i>) (その1)	大場琢磨・堀部 隆・菊池 寛.....17
大気中の浮遊粉じんに関する研究 (第1報) 低温灰化装置とポーラログラフ法による浮遊粉じん 中の銅、鉛、カドミウム、亜鉛の定量.....	辻 楠雄.....21
食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第1報) バレイシヨ中に残留するフェニル水銀化合物の 分析.....	関田 寛・大槻久美子・武田由比子・伊藤善志男・武田明治・田辺弘也.....25
食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第2報) 乳製品中の残留有機塩素系農薬の分析	伊藤善志男・大槻久美子・関田 寛・武田由比子・武田明治・田辺弘也.....29
食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第3報) フロリシルの活性度の検討	大槻久美子・関田 寛・武田由比子・伊藤善志男・武田明治・田辺弘也・皆川興榮.....34
食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第4報) 農作物中の有機塩素系農薬の分析法	大槻久美子・関田 寛・武田由比子・伊藤善志男・武田明治・田辺弘也.....38
食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第5報) 果実、野菜類の農薬残留量に対する剥皮および 洗浄の効果.....	武田明治・大槻久美子・関田 寛・田辺弘也・高橋典子・土谷輝代.....43
赤痢菌感染サルから採取した膿粘血便のサル腸管内投与に関する研究.....	林 長男・岩原繁雄.....47
塩酸ピペサネートの薬理学的研究 (第1報) 中枢に及ぼす影響について	川島邦夫・田中 悟・中浦慎介・長尾重之・桑村 司・大森義仁・Ginette SARRAZIN.....50
塩酸ピペサネートの薬理学的研究 (第2報) 呼吸、循環器系および平滑筋に及ぼす影響について	田中 悟・川島邦夫・中浦慎介・長尾重之・桑村 司・大森義仁・Ginette SARRAZIN.....54
ラット胎仔における化骨と骨カルシウムおよびリン含量について.....	田中 悟・川島邦夫・桑村 司.....58
家兎における内因性発熱物質に対する解熱剤の効果.....	西尾 晃・加納晴三郎.....63
ケッソウ (カメバキソウ) とホッカイキソウの栽培試験 (第1報)	畠山好雄・本間尚治郎・逸見誠三郎・ヒキノヒロシ.....67

ノ ー ト

アヘン製剤中のモルヒネの定量 (第1報) アヘン散およびアヘントコン散について	大野昌子・島峯望彦・高橋一徳.....73
非水滴定法の麻薬類への応用 (第1報) 塩酸モルヒネの定量.....	大野昌子・島峯望彦・高橋一徳.....75
非水滴定法の麻薬類への応用 (第2報) 塩酸アヘンアルカロイド中の他のアルカロイドの定量	大野昌子・島峯望彦・高橋一徳.....78
非水滴定法の麻薬類への応用 (第3報) アヘンアルカロイドアトロピンパパベリン注射液中の 塩酸パパベリンの定量.....	大野昌子・島峯望彦・高橋一徳.....81
ステロイドの試験法 (第4報) 2,3-Diphenyl-5-(<i>p</i> -Diphenyl)-Tetrazolium Chloride (DDT) による副腎皮質ホルモンの比色定量.....	越村栄之助.....82
医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究 (第5報) 医療用塩化ビニル樹脂中の重金属 について (その2)	堀部 隆・水町彰吾・大場琢磨.....85

II

ブドウ糖注射液の理化学試験について……………岡田敏史・伊賀宗一郎・植岡澄子・伊阪 博…………87	
2-Methyl-4-Amino-5-Hydroxymethyl-Pyrimidine (OMP) の Ehrlich 腹水ガンに対する作用 について……………吉田 稔…………91	
資 料	
医薬品中のモルヒネの確認について……………大野昌子・島峯望彦・高橋一徳…………95	
キモトリプシンおよびトリプシンの力価検定法（第1報）NF XIIIに準拠した方法による市販 消炎酵素製剤中のキモトリプシンおよびトリプシンの力価検定成績……………西崎征夫・横田椅江…………97	
ビスコースレーヨン綿の品質について……………伊東 宏・荒木光夫… 103	
トイレット洗浄剤用容器試験について……………大場琢磨・堀部 隆・藤原令子… 105	
最近6カ年間（1964～1969）における東京都内3地点の一酸化炭素測定結果の概要…山手 昇・松村年郎… 107	
法定色素中の有機性不純物について ……………外村正治・小幡利勝・狩野静雄・村松ひろみ・南城 実・荒木常子・志賀拓夫・石田達也… 112	
ろ紙クロマトグラフィーによるアミノ酸の検出限界について……………石綿 肇・加藤三郎… 116	
原料乳の乳脂肪および無脂固形物の偽和の検出例について……………慶田雅洋・海老根涼子・谷村顕雄… 119	
プラスチックに関する衛生化学的研究（第2報）市販ポリスチレン製食品容器中の揮発成分の 定量について……………辰濃 隆・黒木年光… 122	
昭和41年から昭和45年度における輸入食肉中のサルモネラの検査結果について ……………鈴木 昭・河西 勉・小沼博隆… 125	
日本産 <i>Zygosporium</i> 属菌について……………一戸正勝… 135	
防腐剤に関する研究 とくに防腐剤46種の抗菌スペクトルについて……………石関忠一… 140	
界面活性剤と殺菌剤の併用効果（第3報）防腐剤の効力に及ぼす非イオン性界面活性剤の影響 ……………栗栖弘光・川原隆一… 143	
ラット副腎中コルチコステロン、アスコルビン酸および血清中コルチコステロンに対する絶食、 移動および注射の影響……………長尾重之・中浦慎介・桑村 司… 147	
ウサギ脱繊維血を用いる溶血試験法補遺……………田中 悟・長尾重之・桑村 司… 148	
タール色素の製品検査について（第4報）昭和45年度におけるタール色素の製品検査成績について ……………野村幸雄・外海泰秀・上吉千恵子… 151	
タール色素の製品検査について（第5報）昭和45年度におけるタール色素のアルミニウムレーキ の製品検査成績について……………野村幸雄・外海泰秀・上吉千恵子… 156	
昭和44、45年度における口紅中のタール色素の一斉取締検査について……………持田研秀・古謝紀和・佃井典子… 158	
昭和44、45年度日本産あへんのモルヒネ含量について……………持田研秀・金田吉男・野口 衛・中村恵三… 162	
伊豆におけるミシマサイコの栽培試験（第1報）異なる温度条件のもとの種子の発芽 ……………宮崎幸男・杉山英彦… 163	
<i>Rauwolfia</i> 属植物とくにインドジャボク (<i>R. serpentina</i> BENTH.) の種子の発芽に関する研究 （第6報）インドジャボク種子の貯蔵と発芽との関係……………宮崎幸男・五太子小太郎・大野 清… 166	
業務報告…………… 169	
誌上発表…………… 199	
学会発表…………… 221	
衛試験例…………… 229	
国家検定、国家検査などの試験状況報告…………… 235	
国立衛生試験所標準品…………… 243	

CONTENTS

ORIGINALS

K. KANOHTA: ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance Spectra of C_{18} Fatty Acids	1
S. KOJIMA and T. ŌBA: Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their Preparations. XX. Studies on the Polymorphism by Differential Thermal Analysis and Infrared Analysis.....	4
S. KOJIMA, T. HORIBE and T. ŌBA: Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their Preparations. XXI. Determination of the Mixture of Polymorphic Forms of Silicon Dioxide (Cristobalite and Quartz) by Potassium Bromide Disc Method	9
T. HORIBE, S. KOJIMA and T. ŌBA: Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. VI. Extraction of Water-Soluble Substances in Disposable Bubble-System Oxygenator	13
T. ŌBA, T. HORIBE and H. KIKUCHI: Radiosterilization of Medical Products. III. Digestion Speed of Cat Gut (<i>in vitro</i>) (1)	17
K. TSUJI: Studies on the Suspended Particles in Air. I. Determination of Copper, Lead, Cadmium and Zinc in Air by Low Temperature Radio Frequency Oxidation Apparatus and Polarography	21
H. SEKITA, K. OTSUKI, Y. TAKEDA, Y. ITO, M. TAKEDA and H. TANABA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. I. Analysis of Residual Phenylmercury Compound in Potatoes	25
Y. ITO, K. OTSUKI, H. SEKITA, Y. TAKEDA, M. TAKEDA and H. TANABE: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. II. Analysis of Organo-chlorinated Pesticide Residues in Dairy Products	29
K. OTSUKI, H. SEKITA, Y. TAKEDA, Y. ITO, M. TAKEDA, H. TANABE and O. MINAGAWA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. III. Activity of Florisil.....	34
K. OTSUKI, H. SEKITA, Y. TAKEDA, Y. ITO, M. TAKEDA and H. TANABE: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. IV. Analytical Method of Organo-chlorinated Pesticides Residues in Agricultural Products	38
M. TAKEDA, K. OTSUKI, H. SEKITA, H. TANABE, N. TAKAHASHI and T. TSUCHIYA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. V. Effects of Paring and Washing on the Removal of Pesticide Residues from Fruits and Vegetables	43
N. HAYASHI and S. IWAHARA: Studies on the Introduction into the Intestinal Lumen of Monkeys with the Hemorrhagic-Mucopurulent Feces Collected from the <i>Shigella</i> Infected Monkeys	47
K. KAWASHIMA, S. TANAKA, S. NAKAURA, S. NAGAO, T. KUWAMURA, Y. OMORI and G. SARRAZIN: Studies on Pharmacological Effect of Pipethanate. I. Effect of Pipethanate on Central Nervous System	50
S. TANAKA, K. KAWASHIMA, S. NAKAURA, S. NAGAO, T. KUWAMURA, Y. OMORI and G. SARRAZIN: Studies on Pharmacological Effect of Pipethanate. II. Effect of Pipethanate on Respiration, Circulation System and Smooth Muscle.....	54
S. TANAKA, K. KAWASHIMA and T. KUWAMURA: Ossification and Contents of Calcium and Phosphorus in the Bone of Rat Fetus	58
A. NISHIO and S. KANO: Studies on the Effect of Some Antipyretics against Endogenous Pyrogen in Rabbit	63

Y. HATAKEYAMA, N. HOMMA, S. HEMMI and H. HIKINO: Studies on the Cultivation of Kesso (Kamebakisso, <i>Valeriana</i> sp.) and Hokkaikisso (<i>V. sp.</i>). I.	67
--	----

NOTES

M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Determination of Morphine in Opium Preparations. I. Studies on the Essay of Diluted Opium Powder and Opium Ipecac Powder	73
M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: The Application of Non-aqueous Titration Procedure to Medicinal Narcotic Drugs. I. Determination of Morphine Hydrochloride.....	75
M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: The Application of Non-aqueous Titration Pro- cedure to Medicinal Narcotic Drugs. II. Determination of Secondary Alkaloids in Opium Alkaloids Hydrochlorides.....	78
M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: The Application of Non-aqueous Titration Pro- cedure to Medicinal Narcotic Drugs. III. Determination of Papaverine Hydrochloride in Opium Alkaloids Hydrochlorides, Atropine and Papaverine Injection.....	81
F. KOSHIMURA: Analysis of Steroids. IV. Quantitative Analysis of Corticoids by 2, 3-Diphenyl- 5-(<i>p</i> -Diphenyl)-Tetrazolium Chloride	82
T. HORIBE, S. MIZUMACHI and T. ŌBA: Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. V. Examination on Heavy Metals in Polyvinyl Chloride Resin for Medical Use. (2)	85
S. OKADA, S. IGA, S. UEOKA and H. ISAKA: Studies on Physico-Chemical Examination of Glucose Injection	87
M. YOSHIDA: Effect of 2-Methyl-4-Amino-5-Hydroxymethyl-Pyrimidine on Ehrlich Ascites Tumor Cells.....	91

TECHNICAL DATA

M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Study on the Confirmation of Morphine in Medicinal Drugs	95
S. NISHIZAKI and I. YOKOTA: Assay for Chymotrypsin and Trypsin. I. Results of the Official Inspection of the Commercial Anti-Inflammatory Enzyme Preparations Containing Chymo- trypsin and Trypsin by Means of Modified NF XIII Methods	97
H. ITŌ and M. ARAKI: Studies on Quality of Viscose Rayon.....	103
T. ŌBA, T. HORIBE and R. FUJIWARA: On the Test of Plastic Bottles for Toilet Cleaners	105
N. YAMATE and T. MATSUMURA: Summary of Carbon Monoxide Levels during the Past Six Years (1964~1969) at Three Air Monitoring Stations in Tokyo	107
M. TONOMURA, T. OBATA, S. KANO, H. MURAMATSU, M. NANJO, T. ARAKI, T. SHIGA and T. ISHIDA: On the Organic Impure Compounds in Coal-Tar Colors for Cosmetics	112
H. ISHIWATA and S. KATŌ: The Detection Limits of Amino Acids on Paper Chromatography.....	116
M. IWAIDA, R. EBINE and A. TANIMURA: An Illustration of the Adulteration of Milk Fat and Solids-Not-Fat of Raw Milk	119
T. TATSUNO and T. KUROKI: Hygienic Chemical Aspects of Plastics. II. Quantitative Determina- tion of Volatile Matters in the Commercial Polystyrene Ware.....	122
A. SUZUKI, T. KAWANISHI and H. KONUMA: A Survey on the <i>Salmonella</i> Contamination of Imported Meats during 1966~1970	125
M. ICHINOE: Some <i>Zygosporium</i> Species in Japan	135

C. ISHIZEKI: Studies on the Preservatives. Especially, on the Antimicrobial Spectra of 46 Kinds of Preservatives	140
H. KURISU and R. KAWAHARA: The Combined Effects of Surfactants with Germicidal Compounds. III. Effect of Nonionic Surfactants on the Activities of Antiseptics	143
S. NAGAO, S. NAKAURA and T. KUWAMURA: The Influence of Starvation, Moving and Injection on Rat Adrenal Corticosterone, Adrenal Ascorbic Acid and Serum Corticosterone	147
S. TANAKA, S. NAGAO and T. KUWAMURA: On Hemolysis Test with Defibrinated Rabbits Blood	148
Y. NOMURA, Y. TONOGAI and C. KAMIYOSHI: On the Official Inspection of Coal-Tar Dyes. IV. Results of the Official Inspection of Coal-Tar Dyes, in 1970.....	151
Y. NOMURA, Y. TONOGAI and C. KAMIYOSHI: On the Official Inspection of Coal-Tar Dyes. V. Results of the Official Inspection of Aluminium Lakes of Coal-Tar Dye, in 1970.....	156
K. MOCHIDA, N. KOJA and S. TSUKUI: Tests for Arranged Inspection of Coal-Tar Dyes in Lipsticks, in 1969 and 1970.....	158
K. MOCHIDA, Y. KANEDA, M. NOGUCHI and K. NAKAMURA: Morphine Content of Japanese Opium Collected in 1969 and 1970	162
Y. MIYAZAKI and H. SUGIYAMA: Experimental Cultivation of <i>Bupleurum falcatum</i> L. at Izu. I. The Germination of the Seed under Different Temperature Conditions	163
Y. MIYAZAKI, K. GODAISHI and K. ŌNO: The Germination of the Seeds of <i>Rauwolfias</i> , Especially of <i>R. serpentina</i> BENTH. VI. Relation between the Storage and the Germination of the Seeds of <i>R. serpentina</i> BENTH.	166
Annual Reports of Departments	169
Summaries of Papers Published in Other Journals.....	199
Titles of Speeches at Scientific Meetings	221
Seminars	229
Survey of the Results of National Tests	235
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences	243

C_{18} 脂肪酸の ^{13}C -NMR スペクトル

叶 多 謙 蔵

 ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance Spectra of C_{18} Fatty Acids

Kenzoh KANOHTA

The carbon-13 nuclear magnetic resonance spectrometry has been applied to the study of several kinds of C_{18} fatty acids and their methyl esters by means of measurement on naturally occurring carbon-13.

Measurement was done under the condition of so called complete decoupling except in the case where the half decoupling technique was required. Although single scan was enough on neat samples, solid samples such as stearic acid were obliged to make solution followed by time averaging procedure. A good spectrum might be obtained when 20% sample solution of chloroform was submitted to 25 times accumulation.

Almost all carbons of stearic acid were similar to saturated chain hydrocarbons and the assignment was well accomplished according to these data. Inner methylene carbons were nearly at the same transition levels and only 6 among 18 carbons, i.e. C 1, 2, 3, 16, 17, 18, were characterized accurately.

The existence of olefinic carbons enabled to increase the number of carbons assignable. C 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18 carbons of oleic acid were found to be characterized. This information was applied to the analysis of linoleic acid, and C 1, 2, 3, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18 carbons were determined. C 1, 2, 7, 8, 9, 10, 15, 16, 17, 18 carbons of α -linolenic acid were also rightly assigned.

Proton magnetic resonance spectrometry could not performed this versatility and applicability of C-13 nuclear magnetic resonance was ascertained.

(Received May 31, 1971)

1. 緒 言

有機化合物の構造解析の際、骨格構造の解明は最も重要なことで、プロトン核磁気共鳴吸収法 (pmr) もすぐれた分析手段である。しかし水素結合によるスペクトルの変化などの例でもわかるように、プロトンの磁気的環境の解析はかならずしも骨格構造を直接反映しない。

^{13}C 核磁気共鳴吸収法 (cmr) は、骨格構造を直接に見る分析法ということができ、有機化合物を破壊することなく分析すること、4級炭素、置換オレフィン、アレン炭素などのプロトンを伴わない炭素についての情報も直接に得られるといった利点を持っている。このようなことは pmr においては不可能で、赤外分光法なども多くを期待しえない。

cmr のこれらの利点は、はやくから研究者の注目するところであったが、 ^{13}C 核の天然存在比の小さなこと、実験技法のむづかしさなどあり、まだほとんど利用されていないのが現状で、それに伴い化学シフトデータが不足していることも応用を困難にしている。

近い将来、パルス波フーリエ変換方式の測定装置が使えるになれば cmr の実験技法も容易となり、

応用分野もひろがることと思われる。

著者は、オレフィン炭素化学シフトの文献が不足していることに着目して、その研究の一端として、炭素数18の脂肪酸数種について cmr スペクトルの解析を試み、いくつかの知見を得、cmr が pmr にくらべてすぐれた応用分野のあることがわかったので、ここに報告する。

2. 実験方法ならびに実験試料

2.1 実験方法 日本電子(株)製 C-60 HL 形核磁気共鳴吸収測定装置に当所で昭和45年度に購入した同社製 RH-C-60A 形 RF ユニット, OBT-10C60E 形検出器, IS-60形 NMR コントロール装置および SD-HC 形ヘテロスピンドカップラーを附属させて測定した。

測定は、主として完全デカップリングの条件とするため SD-HC 出力を 6 W以上として、必要に応じてハーフ・デカップリングの技法を取り入れた。

実験に際し、必要と認められたときには、著者の考案したトリガー毛細管を用い⁶⁾、同社製 JRA-1 形スペクトラム・コンピューター、日立製作所製 QPD-33 形レコーダーを併用して積算、記録を行なった。C18

Table 1. ^{13}C -NMR chemical shifts of C_{18} fatty acids

Position of carbon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Stearic acid	12.5	159.0	167.3	No.4~14		162.7 $\times$ 2, 162.5 $\times$ 9		?		163.0		160.1	170.5	178.9				
Oleic acid	12.3	159.0	168.0	No.4~6, 13, 14 ? 162.1 $\times$ 1, 162.3 $\times$ 3 163.5 $\times$ 1		163.5	162.0	63.0 Δ 63.0	162.0	163.5	?		164.5	160.0	170.1	178.8		
Linoleic acid	13.1	159.1	167.1 167.7	No.4~6 ? 163.5 $\times$ 3		?	165.4	163.0 163.2	63.0 Δ 64.7	167.1 167.7	64.7 Δ 63.0	163.2 163.0	165.4	161.1	170.0	178.7		
α -Linolenic acid	12.3	159.1	167.3	No.4~6 ? 162.7 $\times$ 1 162.8 $\times$ 1, 164.8 $\times$ 1		?	164.8	162.7	63.1 Δ 64.9	166.5 171.6	64.9 Δ 65.1	171.6 65.1	171.6 64.9	166.5	65.8 Δ 61.6	166.5	178.9	

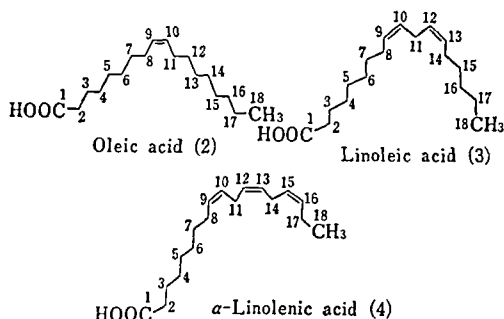


Fig. 1. Chemical structures of the fatty acids

脂肪酸は、20%クロロホルム溶液として、トリガーとしては $^{13}\text{CH}_3\text{OH}$ を使用して25回の積算を重ねれば充分固定しうるスペクトルが得られた。

化学シフトの測定には、正確を期するため、タケダ理研KK製 TR-3965 形周波数カウンターを併用した。化学シフトの再現性はほぼ ± 0.5 ppm 以内であった。

また、化学シフトは二硫化炭素を基準として表示することとした。

2.2 実験試料の調整 実験に供した試料は stearic acid (1) とそのメチルエステル、octadec-cis-9-enoic acid (oleic acid) (2), octadec-cis-9, cis-12-dienoic acid (linoleic acid) (3), octadec-cis-9, cis-12, cis-15-trienoic acid (α -linolenic acid) (4) (和光純薬) とそれらのメチルエステル (Sigma Chemical Co.) で、参考試料として他から入手したものも測定した。

油状試料は原体のまま、固体はクロロホルム飽和溶液としてスペクトルを測定した。

3. 実験結果ならびに化学シフトの考察

3.1 スペクトルの解析 酸とそのメチルエステルでは、カルボニル炭素の化学シフトに相異が生じ、酸にくらべエステルカルボニルが高磁場シフトし、また

142 ppm 附近にアルコールメチルの共鳴線が出現するほか、他の炭素の化学シフトには差が認められなかった。Table 1 に解析の結果を示した。

3.1.1 メチルおよびメチレン炭素の化学シフト Stearic acid のカルボニル附近のメチレンを除いては直鎖飽和炭化水素と同様な化学シフトを示すことが予想される。

直鎖飽和炭化水素の cmr は Grant ら¹⁾、あるいは Roberts ら²⁾ によって研究が行なわれ、末端メチル約 179 ppm、隣接メチレン炭素はメチル基に近い順にはば 170, 161, 164 ppm で γ メチレン炭素が最低磁場にシフトし、 δ 位以下では δ 位が最も高くその他はやや低い値を示す。(1)もそれと等しいとみなすことができ帰属は容易に行なわれる。

カルボニル附近のメチレンの動向に関しては、カルボニルに隣接する炭素が 159 ppm、 β 位では 166~168 ppm、 γ 位以下のメチレンはほぼ直鎖飽和炭化水素と同様な傾向にあることは、C 5 以下の脂肪酸については Roberts ら²⁾ により、C 6~12 の脂肪酸については著者らにより確かめられたので⁷⁾、3 位までの炭素の帰属もまた正しいと考えられる。4~14 位の炭素については 162.7 および 162.5 ppm の共鳴線があてられるが、(1)のような飽和高级脂肪酸の内部のメチレン炭素はほとんど等しい磁気的環境を持つであろうから、各個の帰属は困難である。

(2)などの sp^2 系炭素を含むときは解析はかえって容易になる。

二重結合部位より充分遠いメチレンでは直鎖飽和炭化水素と同様な化学シフトを示し、オレフィン炭素を隣接するときはやや低磁場に、メチレン基 1 個を介してオレフィン炭素と隣接するときはやや高磁場にシフトすることがあるので³⁾、(2)では 4~6 および 13, 14 位の 5 個のメチレン基を除いて帰属がなされる。

(3)の特徴はメチル基末端より 8 位にあるメチレン炭

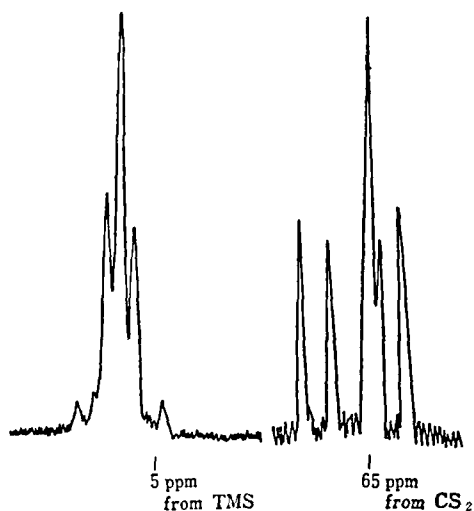


Fig. 2. ¹H and ¹³C-NMR spectra of α -linolenic acid (in parts)

素がメチレン基を介してオレフィン炭素を配すること、隣接して2個のオレフィンにはさまれているメチレン炭素のあることである。165 ppm以上の領域に出現している6本のシグナルは3, 7, 11, 15, 17, 18位炭素に由来すると考えられ、15位炭素がメチレン基を仲介してオレフィンを配しても167 ppm以上にシフトすることは考えられず、165.4 ppmの共鳴が7および15位炭素に帰属される。

11位のオレフィン炭素にはさまれたメチレンの帰属は興味深い。1個のオレフィン炭素に隣接した場合にはやや低磁場シフトすることはすでに指摘したとおりであるが、(3)のスペクトルは、この予想に反して高磁場側に出現しているとみなされる。167.1および176.6 ppmの共鳴線のうち1本は3位のメチレン炭素に由来し、他が11位炭素によると考えられる。

その理由はまだ明らかではないが、ピリミジン誘導体における2個のチッ素にはさまれたカルボニル炭素の化学シフトがアミドでの値にくらべて高磁場シフトすること⁸⁾、また著者の研究によるアセチルアセトンなどの2個のカルボニル炭素にはさまれたオレフィン炭素の高磁場シフトの現象などを考慮すると、この帰属は妥当であるとしてよいであろう。ただ3, 11位のグループの解析は以上のようなものであるが、それぞれの明確な帰属はしがたい。これは163.0および163.2 pmrの共鳴線についても同様で、オレフィンに隣接した8, 14位炭素であろうが、正確な帰属は困難である。

(4)ではメチル基に隣接している17位メチレンがオレフィンを配しており、低磁場シフトする。11, 14位は

(3)の場合と同様に高磁場シフトするが、そのうちの1個が176.6 ppmと異常に高い値をとることは注目すべきである。

(4)において同定の困難なものは4~6位および11, 14位のみにとどまり pmr におけるメチレンプロトン付近のごく一部がはっきり同定されるにすぎないことを考えるとき cmr の有効性が確認される。

3.1.2 オレフィン炭素の解析 オレフィン炭素の化学シフトは、ごく一部の例を除いては約40~90ppmの間にあらわれ、3-ヘキセンの化学シフトはシス体 62.5 ppm トランス体 62.4 ppm である⁹⁾。

(2)のスペクトルはこの領域に 63.0 ppm に1個あるのみで、2個のオレフィン炭素が等しい磁気的環境にあることを示している。

(3)においては63.0および64.7 ppmの2本の共鳴線が出現し、これは(2)のデータから9, 13位が低磁場側の、10, 12位が高磁場側の共鳴線と帰属される。

(4)のオレフィン領域のスペクトルは 61.6, 63.1, 65.1, 65.8に各1個、64.9 ppmに2個分がみられる。この帰属は、まず(3)の化学シフトを参照して9, 10位に63.1および64.9 ppm がわり当てられる。

また Savitsky ら⁵⁾ および Retcofsky ら⁴⁾ によれば、オレフィン炭素の化学シフトは直鎖化合物の場合、メチル基に隣接するときは70 ppm以上であるが、エチル基につくときは60 ppm付近にあり、プロピル基ではまた高くなっている。ゆえに61.6 ppmが16位炭素に割り当てられる一方、オレフィンの1個が隣接基の置換基効果によって低磁場シフトすることを Retcofsky ら⁴⁾ は指摘しているので、15位炭素を65.8 ppmとしてさしつかえない。12, 13位はその立体配位および隣接基による影響はほぼ同様と考えられ64.9, 65.1 ppmのいずれかである。これはほぼ同様な磁気的環境にあらうと考えられる(3)の10, 12位の化学シフトとはほぼ同様な値である。

それぞれの不飽和脂肪酸のオレフィン炭素は、このように同定されるが、これは cmr でなければ不可能であって、Fig. 2に(4)のオレフィン領域の pmr および cmr スペクトルを示すが、pmrにおいてはオレフィン水素の存在がわかるだけで、どの炭素に由来するか解析は不能である。

おわりに、本研究に種々の便宜をいただいた大場琢磨部長に感謝の意を表する。

文 献

- 1) D.M. Grant, E.G. Paul: *J. Amer. Chem.*

- Soc., 86, 2984 (1964)
- 2) J.D. Roberts, F.T. Weigert, J.I. Kroschwitz, H.I. Reich: *ibid.*, 92, 1338 (1970)
- 3) R.G. Parker, J.D. Roberts: *ibid.*, 92, 743 (1970)
- 4) R.A. Friedel, H.L. Retcofsky: *ibid.*, 85, 1300 (1963)
- 5) G.B. Savitsky, K. Namikawa: *J. Phys. Chem.*, 68, 1956 (1964)
- 6) K. Kanohta: *Anal. Chem.* in press
- 7) 叶多謙蔵ら: 分析化学, 投稿中
- 8) A.J. Jones, D.M. Grant: *J. Phys. Chem.*, 74, 2684 (1970)

赤外吸収スペクトルの医薬品試験における応用 (第 20 報) 示差熱分析と赤外分析とを併用した結晶多形に関する研究

小 嶋 茂 雄・大 場 琢 磨

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

Studies on the Polymorphism by Differential Thermal Analysis and Infrared Analysis

Shigeo KOJIMA and Takuma ŌBA

Studies on the polymorphism of organic drugs by infrared absorption spectroscopy have been carried out in our laboratory¹⁾⁻⁴⁾. The infrared analysis is usefully applied to distinguish the polymorphic forms of compounds, but on the relationship between them only poor informations are given by this method. The differential thermal analysis (DTA) is useful for the study on this problem.

In this work, the polymorphism of bromodiethylacetylurea and homosulfamine was studied by means of DTA and infrared analysis.

The existence of α -, β -(stable at room temperature) and γ -(stable at high temperature) type crystal forms of bromodiethylacetylurea were already reported^{5,7)}. They were confirmed by our method and the relationship between them became more clearly.

In the case of homosulfamine, four crystal forms (hydrous A-type, and anhydrous B-, C- and D-type) were obtained, and two of them (A- and B-type) were already reported by ŌBA et al.¹⁾. C-type was prepared by recrystallization with absolute ethanol. D-type was obtained by heating C-type at 180°, or A- and B-type at 220°. The relationship between these forms are briefly shown in Fig. 11, and their stabilities are also shown in Table 1.

(Received May 31, 1971)

まえがき

大場ら¹⁾⁻⁴⁾はこれまで日本薬局方医薬品を中心に、有機薬品の結晶多形について赤外吸収スペクトル法を用いて研究し、加熱による変化や経時変化などにより結晶形の安定性や相互の関連性などについても検討を行ってきた。

これらの点については、示差熱分析を併用することによって一層明確になると考えられる。示差熱分析によって有機・無機化合物の結晶多形について検討した報告はかなりあるが^{5,6)}、これを赤外分析と結びつけて検討した例は少ない。

今回著者らはブロムジエチルアセチル尿素およびホモスルファミンについて示差熱分析と赤外分析とを併用して検討を行ない、新たな知見をえたので報告する。

実験方法

1. 示差熱分析 (DTA)

測定装置には理学電機製 Thermoflex 8002 型 (標準型) 示差熱天びん分析装置を使用した。

Fig. 1 は示差熱分析の原理図である。試料物質をセルに均質につめ、熱的に中性な対照物質 (α -アルミナなど) とともに同じ炉、同じ条件で加熱または冷却

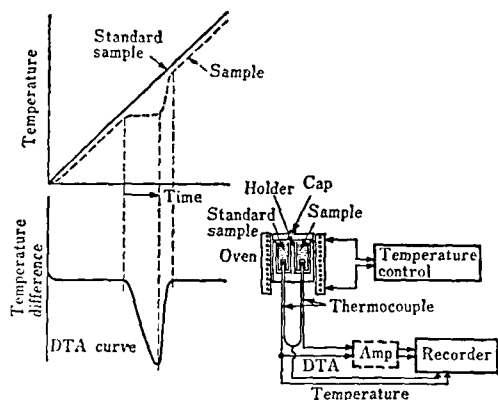


Fig. 1. Figures on the principle of DTA

し、両物質間の温度差を示差熱電対により検出し、増幅・記録する。試料が結晶形の転移、融解、脱水または分解などにより吸熱もしくは発熱すれば、示差熱曲線にピークとなってあらわれる。

またこの装置では、脱水や分解などにもなる重量変化も同時に測定することができる（熱天びん分析、TGA）。

熱電対には白金-白金・13%ロジウム熱電対を用いた。また熱的対照物質としては α -アルミナ（約1000°まで熱的に中性）を、セルはアルミ製のものを用いた。

昇温速度は毎分5°とし、雰囲気調整はとくに行なわなかった。

2. 赤外吸収スペクトル

測定装置には、日本分光製 DS 403 G 型高分解能赤外分光光度計を使用した。

転移点の前後で示差熱天びん分析装置の加熱をやめ、急冷もしくは徐冷したのち、特にことわらなければ Nujol 法により赤外吸収スペクトルを測定する。

3. 試料

ブロムジエチルアセチル尿素（市販品）

ホモスルファミン（市販品 2 種およびそれらの無水エタノールもしくは50%エタノールからの再結晶品、あわせて 4 種）

結果ならびに考察

1. ブロムジエチルアセチル尿素

ブロムジエチルアセチル尿素については、井上ら⁵⁾によって示差熱分析および粉末X線法を用いた研究がなされており、常温において安定な α および β 型、高温においてのみ安定な γ 型の結晶形の存在が報告されている。またこれとは別に宇野ら⁷⁾は α および β 型の赤外吸収スペクトルを報告し、一連のアシル尿

素のスペクトルとの比較や重水素化によるスペクトルの変化などから、各吸収帯について振動形の帰属を行なっている。

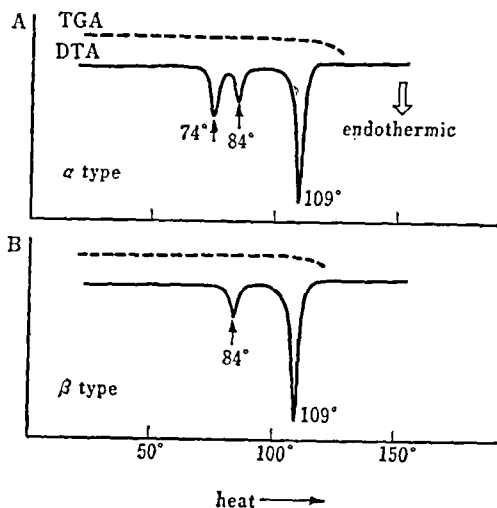
これらの結果を示差熱分析と赤外分析とを結びつけて確認するため、転移点の前後での赤外吸収スペクトルの変化を検討した。

まず市販品（S社製品）について示差熱分析を行なったところ、その Thermogram は井上ら⁵⁾の α 型と同じであった（Fig. 2 A）。[74°] および [84°] の吸熱ピークは結晶形の変化によるものであり、[109°] のピークは融解によるものである（[] 内の温度はピーク温度）。このことは同時に測定した熱天びん曲線に変動がみられないこと、および各ピーク後の約78°（この温度でとり出したものを試料1とする）、約90°（試料2）および約115°（試料3）で加熱をやめ、試料の状態を観察することにより確認された。

つぎに試料1～3について再び示差熱分析を行なったところ、いずれも井上ら⁵⁾の β 型と一致する Thermogram がえられた（Fig. 2 B）。

市販品および試料1～3の赤外吸収スペクトルを測定したところ、市販品は宇野ら⁷⁾の示した α 型のスペクトルに、試料1～3はいずれも β 型のそれに一致した（Fig. 3）。この結果はさきの示差熱分析の結果と一致するものであり、[74°] の吸熱ピークが $\alpha \rightarrow \beta$ 転移によるものであることが確認された。

試料2は取り出した温度からみて、 α および β 型とは別の型（ γ 型）であろうと思われたが、 β 型と一致した。井上ら⁵⁾は γ 型について冷却曲線などから、高温においてのみ安定で温度が下がれば $\gamma \rightarrow \beta$ 転移が

Fig. 2. Thermograms of α - and β -type crystal forms of bromodiethylacetylurea

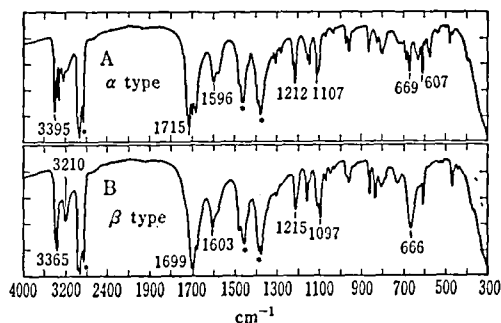


Fig. 3. Infrared spectra of α - and β -type crystal forms of bromodiethylacetylurea in nujol mull (*nujol)

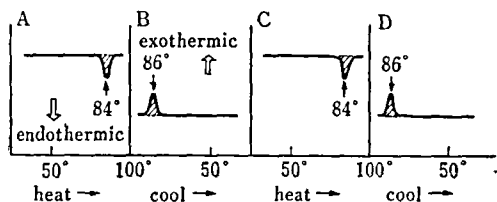


Fig. 4. Tests of the reversibility of the transition between β - and γ -type crystal forms of bromodiethylacetylurea

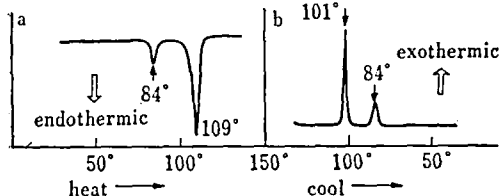


Fig. 5. Thermograms of sample 2 (a; heating curve, b; cooling curve)

起こるとしている。

そこで試料 2 について加熱 (約 95° まで) と冷却をくり返してみた (Fig. 4)。冷却曲線 (B および D) には [86°] の発熱ピークがあらわれ、これと加熱曲線 (A および C) の [84°] の吸熱ピークとはピーク面積 (斜線部分) が等しい。示差熱分析では一定の条件下では試料の吸熱または発熱量とピーク面積との間に比例関係が成り立つので、これよりこの転移が熱的に全く可逆であることがわかる。

またこののちの試料を融解し、冷却曲線を測定してみたところ Fig. 5 のようであり、固化直後は γ 型であっても低温では $\gamma \rightarrow \beta$ 転移が起こることがわかり、試料 3 が β 型であったことも理解される。

以上により、 γ 型はおよそ 80°~110° の温度範囲に

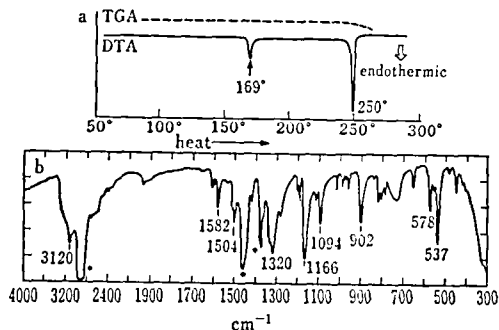


Fig. 6. Thermogram and infrared spectrum (in nujol mull) of C-type crystal form of anhydrous homosulfamine (*nujol)

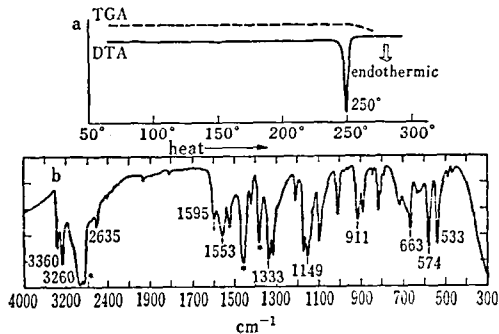


Fig. 7. Thermogram and infrared spectrum (in nujol mull) of D-type crystal form of anhydrous homosulfamine (*nujol)

においてのみ存在する結晶形であり、常温においてその赤外吸収スペクトルをうることはできないことがわかった。

2. ホモスルファミン

ホモスルファミンについてはさきに大場ら¹⁾が含水塩および無水塩各 1 種の赤外吸収スペクトルを報告しているが、示差熱分析についての報告はなされていない。

今回著者らは 2 種の市販品 (S 社および T 社製品)、およびこれらの無水エタノールまたは 50% エタノールからの再結晶品、あわせて 4 種の試料について示差熱分析と赤外分析とを併用して検討を行なった。

無水エタノールからの再結晶品 (試料 4) の Thermogram は Fig. 6 a のとおりである。脱水がみられず無水塩である。また [169°] の吸熱ピークは結晶形の変化によるものであり、[250°] のピークは融解によるものである。

約 180° (試料 5) で加熱をやめ、急冷後再び示差熱分析を行なったところ、Fig. 7 a の Thermogram を示した。

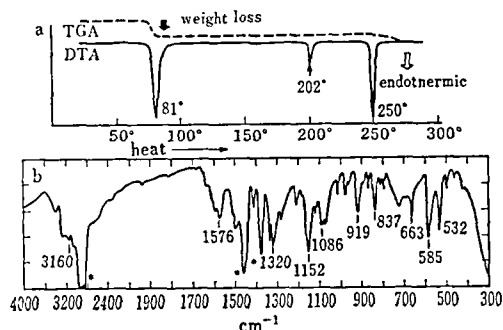


Fig. 8. Thermogram and infrared spectrum (in nujol mull) of A-type crystal form of hydrous homosulfamine (*nujol)

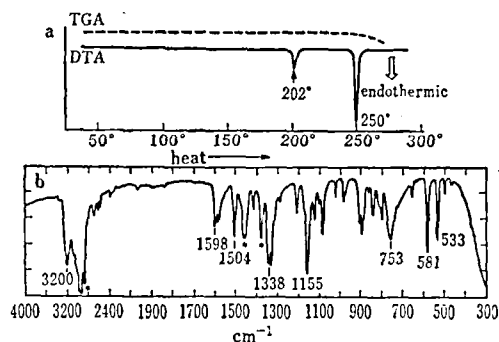


Fig. 9. Thermogram and infrared spectrum (in nujol mull) of B-type crystal form of anhydrous homosulfamine (*nujol)

また試料4は Fig. 6b（無水塩，C型とする）の，試料5は Fig. 7b（無水塩，D型とする）の赤外吸収スペクトルを与えた。

50%エタノール再結晶品（試料6）の Thermogram は Fig. 8a のとおりである。〔81°〕に結晶水の脱離・蒸発による吸熱ピークをもち，含水塩である。このことは熱天びん曲線がここで大きく減量側へ変動していることにより裏付けられる。〔202°〕のピークは結晶形の変化に，〔250°〕のピークは融解によるものである。

約120°（試料7）および約220°（試料8）で加熱をやめ，急冷後再び示差熱分析を行なった。試料7は Fig. 9a の Thermogram を与え，試料8のそれは Fig. 7a に一致した。

試料6～8の赤外吸収スペクトルを測定したところ，試料6は Fig. 8b（含水塩，A型とする）の，試料7は Fig. 9b（無水塩，B型とする）のスペクトルを与え，試料8はD型のそれを示した。

さらに市販品2種（S社およびT社製品）について示差熱分析を行なった結果は Fig. 10 のとおりであ

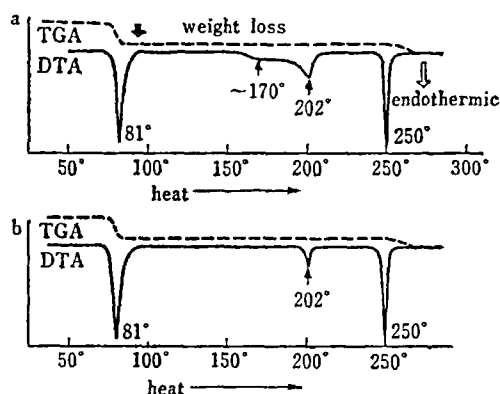


Fig. 10. Thermograms of commercial homosulfamine (a; product of S Co. Ltd., b; product of T Co. Ltd.)

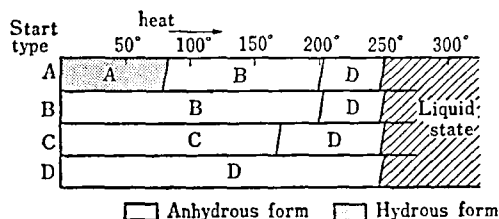


Fig. 11. A brief graphic representation of the relations between four crystal forms of homosulfamine

った。

市販品はともに含水塩であり，〔81°〕に脱水による吸熱ピークを示す。

S社のものは〔202°〕の吸熱ピーク（B→D転移）に肩（170°）がみられ，C型の混在かと思われたが，S社品および約120°で加熱をやめたものの赤外吸収スペクトルはそれぞれA型およびB型のスペクトルとよく一致しており，C型の存在は確認されなかった。この肩の原因はわかっていない。

一方T社のものの Thermogram はA型のそれと全く一致したが，赤外吸収スペクトルからB型が混在していることがはっきりとわかった。

約220°で加熱をやめたもののスペクトルはS社のものもT社のものもD型のそれであった。

以上により，含水塩1種（A型），および無水塩3種（B，CおよびD型）の存在が明らかとなった。このうちさきに大場ら¹⁾が報告したA型（含水塩）およびB型（無水塩）のスペクトルを与えるものを，ここでもそれぞれA型およびB型とした。

C型およびD型の無水塩についてはこれまで報告されておらず，新しい結晶形である。

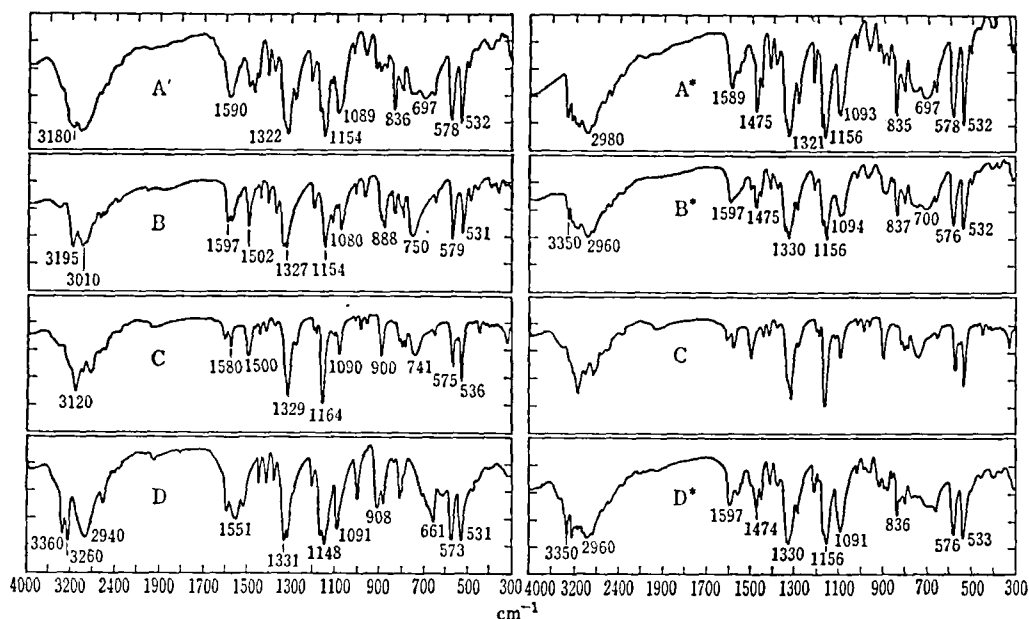


Fig. 12. Infrared spectra of four crystal forms (A~D) of homosulfamine in KBr disc

A', B, C, D; spectra of A~D

A*, B*, C, D*; spectra of A~D measured after three months

Table 1. The stabilities of four crystal forms (A~D) of homosulfamine

Type	Change after three months	Infrared spectrum in KBr disc	Change after three months
A	A#1/B(+A)#2	A'	A*
B	B	B	B*
C	C	C	C
D	D	D	D*

#1. in closed package

#2. in dry condition (humidity, 50%)

これら4種の結晶形の間関係を簡単にまとめれば Fig. 11 のようになる。

これらの結晶形の安定性について検討した結果を Table 1 に示す。

まず常温で3カ月間これらを放置し、赤外吸収スペクトルや Thermogram の経時変化を観察した。

① A型は乾燥的な条件下(湿度50%)では次第に結晶水を失ってB型へと変化した。密閉した容器中ではほとんど変化はみられなかった。

② B型については経時変化を認めなかった。

③ C型およびD型は3カ月後にはわずかに変化を示した。なおD型を Nujol 法でスペクトルを測定したのちも臭化カリウムの窓板にはさんだまま

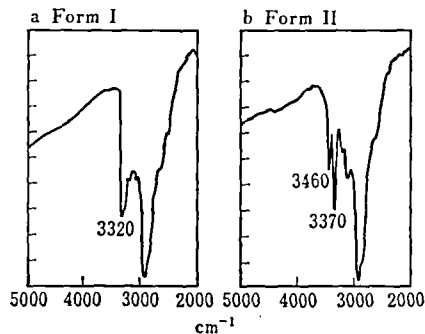


Fig. 13. Infrared spectra (5000~2000 cm^{-1} region) of sulfathiazole in nujol mull (M.A. Moustafa et al.⁶²)

で一晩放置したところB型への変化が観察された。

つぎに臭化カリウム錠剤をつくったところ、A型は Nujol 法におけるのと異なったスペクトルを示し (Fig. 12 A'), 打錠により結晶形の変化が起こったものと考えられる。B, CおよびD型のスペクトルは Nujol 法におけるのと一致した。しかし3カ月後にはC型を除いていずれも経時変化が認められた (Fig. 12 A*, B* および D*)。A*, B* および D* のスペクトルは弱い吸収帯に差はみられるが、強い吸収帯のパターンはよく似ており、同一の結晶形が関与している

可能性がある。

これらの無水塩の赤外吸収スペクトルを大場ら²⁾や Moustafa ら⁶⁾の報告したスルファチアゾールの2つの結晶形のスペクトルと比較すると、NH伸縮振動領域のパターンに一定の類似性がみられる。すなわちホモスルファミンのB型（もしくはC型）のスペクトルはスルファチアゾールの α 型（大場ら²⁾）またはForm I (Moustafa ら⁶⁾)のそれに、D型のスペクトルはその β 型またはForm IIのそれに類似したパターンを有している (Fig. 13)。

両化合物の構造に類似性があることやスルファチアゾールの β 型が α 型の加熱によってもえられることから、なにか共通の変化(特に、NHに関する部分の)がこれらの多形現象に関与していると考えられる。

結 論

示差熱分析と赤外分析とを併用し、有機薬品の結晶多形についてより一層明確にすることができた。

ブロムジエチルアセチル尿素については、これまで

別々に報告されていた示差熱分析および赤外吸収スペクトルの結果をこの方法により確認し、結晶形相互間の関係についても知見をうることができた。

ホモスルファミンについては、大場ら¹⁾がさきに報告した含水塩(A型)および無水塩(B型)各1種のほかに、新しく2種の無水塩(C型およびD型)を見いだし、これらの結晶形の安定性や相互間の関係についても知ることができた。

文 献

- 1) 大場琢磨, 多田豊, 小山良子: 衛生試験, **82**, 33(1964)
- 2) 大場琢磨, 小山良子: 衛生試験, **84**, 1(1966)
- 3) 大場琢磨, 小山良子: 衛生試験, **84**, 4(1966)
- 4) 大場琢磨, 小山良子: 分析化学, **17**, 53(1968)
- 5) 井上正敏, 斎藤隆子: 薬誌, **81**, 615(1961)
- 6) M.A. Moustafa, J.E. Carless: *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 359 (1969)
- 7) T. Uno, K. Machida, Y. Saito: *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1744 (1969)

赤外吸収スペクトルの医薬品試験における応用（第21報）

無水ケイ酸の結晶多形であるクリストバライトおよび 石英混合物の臭化カリウム錠剤法による定量

小嶋茂雄・堀部隆・大場琢磨

Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their Preparations. XXI Determination of the Mixture of Polymorphic Forms of Silicon Dioxide (Cristobalite and Quartz) by Potassium Bromide Disc Method

Shigeo KOJIMA, Takashi HORIBE and Takuma ÔBA

Mixture of silicon dioxide and small amounts of gypsum has been used for the dental casting investment. Silicon dioxide itself shows polymorphism¹⁾, and of some polymorphic forms of silicon dioxide, cristobalite and quartz are used for investment. It is unable to distinguish cristobalite from quartz chemically²⁾, although physical properties of them are quite different^{1,2)}. The quantitative method for the mixture of these two substances is not present so far.

The infrared spectrum of cristobalite, which was not reported yet, is different from that of quartz in potassium bromide disc. Therefore, infrared absorption spectrometry (potassium bromide disc method) was applied to the mixture, and the key bands used for cristobalite and quartz were 615 and 690 cm^{-1} respectively.

The precision and the accuracy of this method was examined by Youden's method³⁾ (Table 1). The ratio of these two substances in the mixture was also obtained by the absorption ratio of A_{615}/A_{690} (Fig. 5).

This method could be applied to the commercial dental casting investments after gypsum was excluded by heating with hydrochloric acid. Of eight samples examined, five were only quartz, two were only cristobalite, and one was composed of 70% of quartz and 30% of cristobalite.

(Received May 31, 1971)

まえがき

無水ケイ酸は少量の石こうを加えられて歯科铸造用埋没材として使われている。この無水ケイ酸にはいくつかの結晶形が存在し¹⁾、そのうちクリストバライトおよび石英が歯科用に用いられている。両者の物理的性質はかなり異なっているが¹⁾、化学分析によって両者を区別することはできない²⁾。

クリストバライトの赤外吸収スペクトルはこれまでに報告されていない。著者らは今回錠剤法による測定を行ない、石英とは明らかに異なるスペクトルを与えることを見いだした。

このスペクトルの差異を利用して赤外法（錠剤法）による両者の定量法を検討し、市販の歯科铸造用埋没材にも応用したのでここに報告する。

実験ならびに考察

1. 実験装置

赤外吸収スペクトルの測定には日本分光製 DS 403 G 型高分解能赤外分光光度計を使用し、錠剤成型器としては直径 10 mm のものを用いた。

2. 標準物質

クリストバライト、石英（ともに JIS 1 級品）

両者の赤外吸収スペクトルは Fig. 1 のとおりであって、明らかに差異が認められる。

3. 定量法

クリストバライトおよび石英の Key band としてそれぞれ 615 および 690 cm^{-1} の吸収帯を選び、2 成分法による定量を試みた。

3.1 定量の操作

錠剤法は試料と臭化カリウムの粒度、錠剤の透明度、錠剤中の試料の分布の均質度と錠剤の厚みの均質度など、溶液法に比べて誤差の要因となる因子が多いので、これらの点に十分注意して操作を行なう必要がある⁴⁻⁶⁾。

錠剤の作成

- ① 測定に用いた臭化カリウム、クリストバライトおよび石英の粉末の粒度はいずれも 250 メッシュ以下である。
- ② 臭化カリウム 160~170 mg、試料 0.6~1.5 mg を正確にはかりとる。
- ③ 試料と臭化カリウムとの混合には特にバイブレーターは用いず、乳鉢を用いたが定性的な測定の場合より注意深く混合し、臭化カリウム中に試料ができるだけ均質に行きわたるようにする。
- ④ 錠剤の透明度に関しても同一試料について濃度

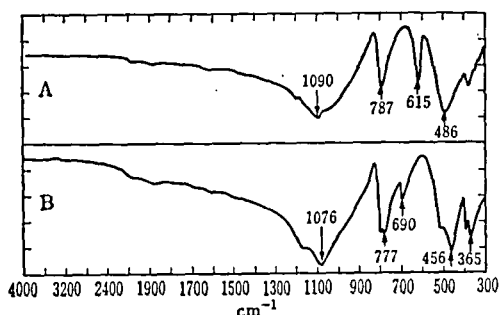


Fig. 1. Infrared spectra of cristobalite (A) and quartz (B) in KBr disc

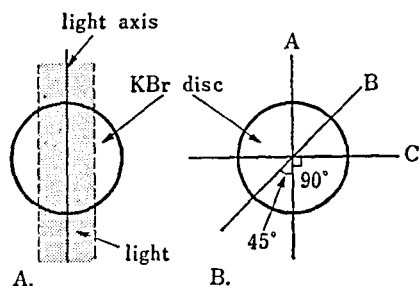


Fig. 2. A; The direction of the light
B; A, B and C axes were chosen in this manner

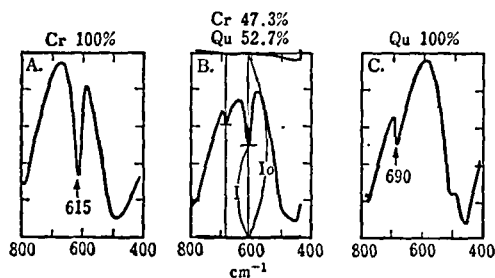


Fig. 3. Infrared spectra (800~400 cm^{-1}) of cristobalite (A), quartz (C), and their mixture (B)

のほぼ同じ錠剤を 2~3 個つくって、そのうち最も透明度の良いものを測定に用いる。

スペクトルの測定は赤外分光光度計の光源が棒状であり錠剤に対して Fig. 2 A のように光があたることを考慮し、錠剤の厚みの不均一性などによる誤差をなくするため同一の錠剤について A, B および C 軸 (Fig. 2B) を順次光軸に合わせて 3 回測定を行ない、得られた結果を平均して測定値とした。

各試料について 615 および 690 cm^{-1} における吸光度を 100% ライン法を用いて計算した (Fig. 3)。な

Table 1. Analytical data of known mixtures of cristobalite and quartz

Sample	A ₆₁₅ (a)	A ₆₉₀ (b)	a/b	cl weighed	cl* found	Cr % weighed	Cr(mg) found	Qu(mg) found	Cr % found	error %
1	0.1757	0.1988	0.88	3.2	3.1	28.6	0.19	0.44	30.1	+1.5
2	0.3009	0.3441	0.87	5.4	5.3	28.6	0.33	0.78	30.1	+1.5
3	0.3779	0.4306	0.88	6.8	6.6	28.6	0.42	0.99	30.1	+1.5
4	0.2482	0.1768	1.40	3.3	3.2	47.3	0.30	0.38	44.4	-2.9
5	0.3043	0.2188	1.39	4.2	3.9	47.3	0.36	0.46	44.1	-3.2
6	0.3539	0.2545	1.39	4.8	4.6	47.3	0.42	0.53	44.1	-3.2
7	0.3341	0.1601	2.09	3.4	3.4	59.2	0.42	0.31	58.0	-1.2
8	0.6382	0.3065	2.08	6.4	6.5	59.2	0.81	0.59	57.8	-1.4
9	0.5362	0.1678	3.20	4.7	4.5	73.2	0.70	0.26	72.8	-0.4

(Cr; cristobalite, Qu; quartz)

* Results of the examination of the regression line on these values by Youden's method are as follows:

$a = -0.1$, $b = 0.99$, $s_a = 0.38$, $s_b = 0.07$, $s = 0.29$, $t_a = 0.26$, $t_b = 0.14$ (a ; intercept, b ; slope, s_a ; and s_b ; standard deviation of a and b , s ; standard deviation, t_a and t_b ; values of t -distribution for a and b $\dagger$ $t_7(0.05) = 2.36$)

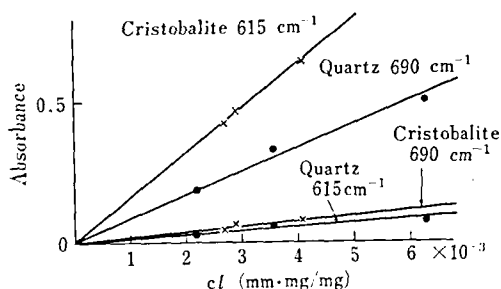


Fig. 4. Calibration curves of cristobalite and quartz

お100%ラインは臭化カリウムをみの錠剤を2個つくり、一方を対照用に他方を100%ライン測定用として求めた。

Lambert-Beerの法則は(1)式で表わされる。溶液法ではセルの厚み(l)が一定であるので試料の濃度(c)だけを考慮すればよいが、錠剤法では個々の錠剤の厚みが異なるため濃度と厚みの積(cl)を問題にする必要がある。

$$A = \log(I_0/I) = \alpha cl \quad (1)$$

なお、 A は試料の吸光度、 I_0 および I はそれぞれ入射光および透過光の強度、 α は吸光係数である。

そこでスペクトル測定後マイクロメーターにより錠剤の厚みを測定した。実際に光のあたる錠剤の中心部を5点測定し、平均をとった。

3.2 検量線の作成

クリストバライトおよび石英の標準物質をそれぞれ3種の濃度で測定してえられた検量線は Fig. 4 のと

おりである。

Fig. 4 よりつぎの(2), (3)式がえられる。

$$A_{615} = 0.158X_c + 0.014X_q \quad (2)$$

$$A_{690} = 0.019X_c + 0.085X_q \quad (3)$$

A_{615} および A_{690} はそれぞれ615および690 cm^{-1} における試料の吸光度、 X_c および X_q はそれぞれ試料中のクリストバライトおよび石英の濃度と錠剤の厚みの積である。

試料中のクリストバライトの含量 Cr および石英の含量 Qu はつぎの(4), (5)式より計算できる。

$$Cr = X_c \cdot Wt / l = (0.085 A_{615} - 0.014 A_{690}) Wt / 0.013l \quad (4)$$

$$Qu = X_q \cdot Wt / l = (0.158 A_{690} - 0.019 A_{615}) Wt / 0.013l \quad (5)$$

Wt は臭化カリウムと試料の総量である。

4. 試料の測定

4.1 定量法の精度

定量法の精度について検討するため、クリストバライトおよび石英の標準物質を種々の割合で混合した試料4種類をつくり、これを各種の濃度で測定した。

分析結果は Table 1 のとおりである。

この定量法の精度について Youden の方法⁷⁾により検定を行なったところ、標準偏差0.29%で精度よく定量できることがわかった。組成についても相対誤差は最高3.2%であって良好な結果である。濃度によるばらつきは小さく無視してさしつかえない。

4.2 吸光度比による簡便な組成決定法

濃度による吸光度比のばらつきが小さい (Table 1

Table 2. Analytical data of known mixtures of cristobalite and quartz by absorption ratio method (Fig. 5)

Sample	$A_{615}(a)$	$A_{690}(b)$	a/b	Cr % weighed	Cr % found	error %
1	0.5028	0.2833	1.77	57.1	54.5	-2.6
2	0.4316	0.1720	2.51	69.9	65.6	-4.3
3	0.2038	0.1836	1.11	36.2	40.1	+3.9

(Cr; cristobalite)

Table 3. Analytical data of typical commercial dental casting investments

Sample	HORIBE et al.*		This method				
	Gy % found	Si % found	$A_{615}(a)$	$A_{690}(b)$	a/b	Cr %** found	Qu %** found
B*	20.7	79.1	0.0928	0.5394	0.17	0	100
F*	26.5	73.1	0.4613	0.5239	0.88	29.8 (21.8)	70.2 (51.3)
G*	25.2	75.1	0.3985	0.0465	8.57	100	0

(Gy; gypsum, Si; silicon dioxide, Cr; cristobalite, Qu; quartz)

* ref. 8

** Values in bracket are percentage in whole investment

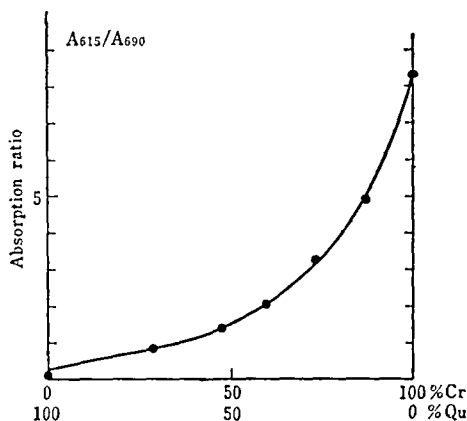


Fig. 5. Absorption ratio-relative amount curve (Cr; cristobalite, Qu; quartz)

参照)ことから、吸光度比-組成曲線をあらかじめつくっておけば、任意の濃度で錠剤をつくり吸光度比を測定することによって試料の組成を簡便に決定しようと考えられる。

Fig. 4 および Table 1 のデータなどよりつくった吸光度比-組成曲線は Fig. 5 に示すとおりである。

組成既知の試料 3 種について適当な濃度の錠剤をつくり、吸光度比を測定する。これから Fig. 5 を用いてえられた結果を Table 2 に示す。この方法によりクリストバライト・石英混合物の組成を簡便に決定できる。

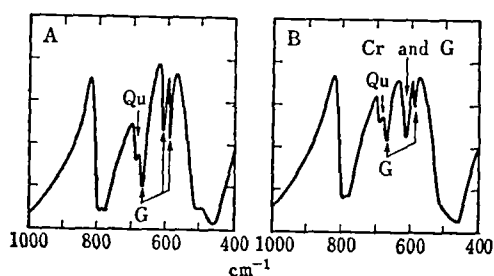


Fig. 6. Infrared spectra of samples containing residue of gypsum (Cr; cristobalite, Qu; quartz, G; gypsum)

4.3 歯科鑄造用埋没材の組成分析への応用

歯科鑄造用埋没材は無水ケイ酸を主成分とし、これに通常日本では20~30%⁸⁾、米国では25~45%²⁾の石こうが加えられている。

堀部⁸⁾は既知量の埋没材を濃塩酸とくり返し煮沸することにより、水に不溶の石こうを可溶の塩化カルシウムに変えて除き、残った無水ケイ酸について重量分析を行なっている。また石こうの含量は示差熱天平分析により石こうの結晶水が脱離する際の減量を利用して求め、埋没材中の石こうと無水ケイ酸の組成について良好な結果をえている。一方無水ケイ酸中のクリストバライトと石英の割合については示差熱分析により定性的に知りえたのみであった。

そこで堀部⁸⁾が重量分析を行なったのちの無水ケ

イ酸にこの定量法を適用してみた。8種の試料のうち石英のみを含むものが5種、クリストバライトのみが2種で、両者が混在していたものは1種であった。その組成は Fig. 5 より求めると石英70.2%、クリストバライト29.8%であった。

Table 3 は典型的な3種の市販の歯科铸造用埋没材について堀部ら⁹⁾ および本法による組成分析の結果をまとめたものである。

石こうの除去が十分でないと Fig. 6 のように590, 610および 669 cm^{-1} に石こうの SO_4^{2-} イオンによる吸収があらわれ、定量が妨害される。

結 論

クリストバライトは石英とは明らかに異なる赤外吸収スペクトルを与える。

両者の Key band としてそれぞれ 615 および 690 cm^{-1} の吸収帯を選び、錠剤法による定量法を作成したところ、含量・組成とも精度よく定量できることがわかった。組成については Fig. 5 を用いて 615 および 690 cm^{-1} における吸光度の比から簡便に決定でき

る。

市販の歯科用埋没材中の無水ケイ酸の組成についても前処理により石こうを除去したのちにこの方法を用いることにより分析できる。

文 献

- 1) 今井ら：耐熱材料ハンドブック，p. 529 および 585，朝倉書店（1965）
- 2) E.W. Skinner *et al.*; *The Science of Dental Materials*, p. 406, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1967)
- 3) 耐火物技術協会編：耐火物手帳，p. 78，耐火物技術協会（1964）
- 4) 小川，田中：化学の領域，増刊38，143（1959）
- 5) 田中，小川：分析化学，6，285（1957）
- 6) 大場，岡田，吉川，川城：衛生試験，77，61（1959）
- 7) W.J. Youden: *Anal. Chem.*, 19, 946（1947）
- 8) 堀部，小嶋，菊池：歯材器学誌，25，71（1971）

医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究（第6報）

ディスポーザブル気泡型人工心肺セットの溶出について

堀部 隆・小嶋茂雄・大場琢磨

Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. VI Extraction of Water-Soluble Substances in Disposable Bubble-System Oxygenator

Takashi HORIBE, Shigeo KOJIMA and Takuma ÔBA

The physical and chemical properties of several kinds of disposable blood oxygenator were investigated. PVC sheet, PVC tube, rubber tube and Temptrol type outer shell were treated with water at 37° for 4 hr, 70° for 30 min and 100° for 30 min. Appearance and pH of the eluate, reducing substances, heavy metals and silicon grease in the eluate were tested.

The results were as follows: (1) Eluate of PVC sheet and tube treated at 100° obtained 0.7~1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of zinc ion, and 0.2~0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of reducing substances. (2) Eluate of sheet type oxygenator and it's circuit treated at 70° contained 0.4~0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of zinc ion, and 0.44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of zinc ion was confirmed in the eluate treated at 37°. However, eluate of Temptrol type oxygenator contained 4.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of iron ion. (3) Amount of silicon grease in the eluate obtained from anti-foam filaments of oxygenator was 1.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and its recovery was 0.09%. (4) Zinc ion obtained from the eluate of oxygenator was 0.44 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and the ratio of eluted zinc to total L.D. of zinc (L.D. Value: intravenous, dog, 35 mg/kg) was 1/4400. It may be said that this is the safe value.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

1885年 Frey ら¹⁾により膜型人工心肺装置を使って動物の代謝機構の実験が初めて行なわれ、Schroder²⁾は血中に酸素を吹き込み、動物の灌流実験を行なった。その後多くの研究者³⁻⁷⁾により装置が改良され、直視下開心術における体外循環に使用され、現在では気泡型と回転円板を用いるディスク型の人工心肺装置が広く使用されている。この人工心肺装置の気泡型はディスク型に比べ小型で簡便、酸素附加能率が良く貯血量が少ない等の長所があるが、反面、血液細胞の破壊が多い⁸⁾ため長時間の使用が適当でないといわれるが、Temptrol 型は影響が少ないとの報告⁹⁾もある。

ディスポーザブル人工肺とその回路の材質は初期にはポリエチレン¹⁰⁾も使用されたが、現在ではほとんど軟質塩化ビニル (塩ビ)^{6,7,9)}あるいはポリカーボネート樹脂¹¹⁻¹²⁾で作られている。人工肺とその回路は注射筒、輸液、輸血セットに比較して使用時間が長く、当然材質からの溶出があるものと考えられたので、ディスポーザブル人工肺および回路の溶出条件を変えた際の重金属、有機物、シリコン樹脂をそれぞれジチゾン比色法、過マンガン酸カリウム法、赤外分光分析法により検討したので報告する。

実験方法

1. 試料 (1)ディスポーザブルシート型人工肺および回路セットA, Bおよび Temptrol 型人工肺。(2)人工肺および回路用塩ビシート、管A, B, C。(3)回路ポンプ用ゴム管A, B, C。

2. スペクトル測定装置：日本分光製 DS 301 型赤外分光光度計 (岩塩プリズム) および日立製自記分光光度計 EPS-3T 型。

3. ジチゾン・ベンゼン溶液：日局一般試験法、鉛試験法 (ジチゾン法) に準じ、ベンゼン 1000 ml 中にジチゾン 20 mg を含むように調製する。

4. 金属標準液：鉛およびカドミウム標準液¹³⁾ならびにジチゾン用亜鉛標準液¹³⁾は前報と同じ。

5. 実験操作

5.1 試料液の調製

5.1.1 人工肺セットの灌流：人工肺と回路を連結管で接続し、表示された容量の滅菌精製水を注入し、熱交換器をつけたメラ製人工肺装置にセットし、液温を $37^{\circ}\pm 1^{\circ}$ に保ち、灌流ポンプを毎分 60 回転させ、酸素を酸素吹込管を通じて吹込み、4 時間還流させたのち灌流液を取り出し試料液とした。

5.1.2 人工肺および回路の溶出：人工肺、回路中

に水を満たし、すべての管の末端を閉じ、 $70^{\circ}\pm 1^{\circ}$ の恒温器中に 30 分間保ち、冷後とり出し試料液とした。

5.1.3 構成材料の溶出：塩ビシートおよび管は 15 g、ゴム管は 1.5 g とり、塩ビシートは約 1×1 cm、塩ビ管は長さ約 2 cm、ゴム管は約 3 mm に切断し、おのおの還流冷却器付フラスコ中にとり水 150 ml を加え、30 分間煮沸したのち水を加えて 150 ml とし、試料液とした。

5.2 にがり、pH、重金属および過マンガン酸カリウム還元性物質

8 局一般試験法、輸液用プラスチック容器試験法¹⁴⁾により試験を行なった。

5.3. シリコン樹脂

5.3.1 灌流液中のシリコン樹脂の定量：5.1.1 の灌流液 50 ml を分液漏斗にとり、二硫化炭素 10 ml を加え連続して 3 回抽出を行ない、赤外分光光度計を用いてシリコン樹脂を測定した¹⁵⁾。

5.3.2 煮沸水により抽出されたシリコン樹脂の定量：人工肺消泡部の繊維を 5 g とり、水 500 ml を加え、30 分間おだやかに煮沸し、滲液を濃縮したのち秤りびんに移し、さらにピーカーに附着したシリコン樹脂をアセトンに溶かして加え、 105° で乾燥し、繊維より離れたシリコン樹脂の重量を測定した。

5.3.3 消泡部繊維の全シリコン樹脂の定量：繊維 5 g をとり、ディスポーザブル注射筒基準¹⁶⁾に準じトリクロロトリフロロエタンにより抽出し、シリコン樹脂の重量を測定した。

5.4 人工肺および回路の気密度

人工肺および回路の管の末端を閉じ水中に入れ、酸素吹込管より 0.4 kg/cm^2 のゲージ圧で 10 分間空気を送り、気泡の漏洩を試験した。

5.5 ゴム管の弾性

ゴム管の全長の 1/3, 2/3 の個所の外径 (D_0) を測定したのち、軸方向に直角に幅 12 mm, 10 kg の荷重を 10 分間加え、荷重を取り去り直ちに再び外径 (D_1) を測定し、次式により永久歪を求める。

$$\text{永久歪}(\%) = [(D_1 - D_0) / D_0] \times 100$$

実験結果

ディスポーザブル人工肺および回路全体の溶出を測定した結果は Table 1 に示す。

人工肺および回路を構成する塩ビシート、管、およびゴム管の溶出を測定した結果を Table 2 に示す。また、 70° で 30 分、2 時間、3 時間と溶出時間を変化させたときの過マンガン酸カリウム、還元性物質、重金属の溶出量の変化を Fig. 1 に示す。

Table 1. Aqueous elutions from oxygenator and its circuit

Elution \ Sample	A Oxygenator and its circuit	B Oxygenator	B Circuit	Temptrol Oxygenator
Condition	37° oxygen blow into 4 hr	70° 30 min	70° 30 min	70° 30 min
Appearance	Colorless slightly muddy	Colorless clear	Colorless clear	Colorless clear
pH	6.5	5.9	...	7.0
Heavy metal (μg/ml)	0.44 (Zn ⁺⁺)	0.5 (Zn ⁺⁺)	0.4 (Zn ⁺⁺)	4.2 (Fe ⁺⁺)
Reducing substance (ml)	1.2	0.6	1.0	0.1
Silicon grease (μg/ml)	1.8	...	...	...

Table 2. Aqueous elutions from PVC and rubber materials that were constituted oxygenator and its circuit

Elution \ Sample	PVC sheet		PVC tube				Rubber tube		
	A	B	A	B	B'	C	A	B	C
Condition	100° 30 min		100° 30 min				100° 30 min		
Appearance	Colorless slightly muddy clear		Colorless, slightly muddy				Colorless, clear		
pH	5.3	5.5	6.3	5.4	5.6	5.2	5.4	5.6	5.4
Heavy metal (μg/ml)	0.9	1.2	0.8	0.8	0.9	0.6	1.2	0.7	1.3
Reducing substance (ml)	0.3	0.6	0.3	0.3	0.4	0.2	0.9	0.4	0.4

Table 3. Elution of silicon grease coated to anti-foam filament

	Amount of extracted silicon (mg)	Weight of sample (g)	Rate of failed off silicon grease (%)
Original coated to anti-foam filamet	411.0	5	...
Falled off in boiling water	14.2	5	3.4
Falled off in circulated water at 37°, 4 hr	1.8	25	0.09

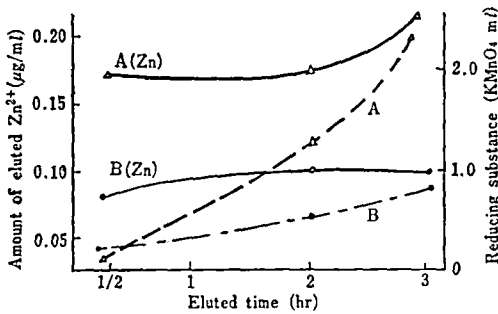


Fig. 1. Effect of elution time on eluted Zn ion and reducing substance from PVC sheet and tube

Table 4. Elastic test for rubber tube

Sample	Permanent set (%)
A	2.5
B	3.1

人工肺消泡部繊維に附着するシリコン樹脂の全量、沸とう水中および37°の温水灌流によるシリコン樹脂の脱落を測定した結果は Table 3 に示す。

回路のポンプ部に使用されるゴム管の弾性試験による永久歪は Table 4 に示す。

考 察

ディスポーザブル人工心肺の材料の大部分を占める塩化ビニル樹脂には、加工時の分解を防止するため種々の安定剤が使用されているが、医療用としては毒性が少ない¹⁸⁾亜鉛・カルシウム系安定剤が好んで用いられ、本研究においても市販人工心肺セットに用いられる塩ビも Table 1, 2 に示すように、鉛、カドミウムの溶出は認められなかった。しかし人工心肺用塩ビには 20~30% の可塑剤とともに安定剤としてエポキシ系安定剤とステアリン酸亜鉛、カルシウムが数%¹⁹⁾含有されるため、手術時に血中へ亜鉛が溶出されることは避けられない。5.1.1 に記した 37°, 4 時間の灌流では亜鉛イオンとして 0.44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶出を示した。今、血液が水と同程度に亜鉛を溶解すると仮定すれば、手術中ディスポーザブル人工心肺より溶出され、人体血液中に移行すると考えられる亜鉛イオンの量は $1000(\text{ml}) \times 0.44(\mu\text{g}/\text{ml}) = 440 \mu\text{g} = 0.44 \text{ mg}$ である。亜鉛の毒性としては、イヌに塩化亜鉛を静注したときの LD は 35 mg (29~43 mg)/kg が示されている²⁰⁾。もしヒトがイヌとはほぼ同じと仮定すれば、ヒトの体重を 55 kg とすると亜鉛の致死量は、 $35(\text{mg}/\text{kg}) \times 55(\text{kg}) = 1925 \text{ mg}$ となる。したがって溶出亜鉛量に対する致死量の比率は $0.44/1925 = \frac{1}{4400}$ (0.023%) となり、亜鉛溶出による毒性についてはほとんど問題がないと思われる。また硬質プラスチック製人工心肺の Temptrol は Table 1 に示すように国産シート型塩ビ人工心肺に比較して過マンガン酸カリウム還元性物質がきわめて少なく、溶出する金属も亜鉛でなく、鉄 (Fe^{++}) が 4.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶出された。Temptrol の外殻は赤外吸収スペクトル測定の結果 1760, 1500, 1210~1100, 1000, 880, 820, 760, 550 cm^{-1} に吸収を示し、ポリカーボネート²¹⁾と認められた。また下部に黒鉛被覆金属製熱交換器¹⁴⁾が直結し、外殻に可塑剤安定剤がないので有機物がほとんど溶出せず、また熱交換器より鉄が多量に溶出したものと思われる。回路中のゴム管からの溶出は、Table 2 に示すように、試料採取量が塩ビ管の 1/10 にかかわらず、溶出量はほとんど同じ値を示したことは、ゴム管は塩ビ管からの約 10 倍の有機物、重金属が溶出することを意味している。ゴム管部はポンプ部で圧縮され、弾性を持つことが必要で、一般に加硫した天然ゴムを使用しているが、溶出物の発熱性²²⁾も報告されているので、将来は合成エラストマーの開発が必要と思われる。

血液に酸素附加後の消泡は一般にポリ塩化ビニリデン、ポリプロピレン、ナイロン等合成繊維にシリコン

樹脂が均一に塗付されている。Table 1, 3 に示すように水中に分散するシリコン樹脂は 1.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で抽出率は 0.1% でわずかであるが、消泡に必要な限度以上の付着は、シリコン樹脂が毒性がほとんどなくとも末梢血管の滞留等の問題^{23,24)}があり、保健衛生上、上限規制も必要と思われる。

ディスポーザブル人工心肺は現在エチレンオキサイドによる低温ガス滅菌法によるが、また残留ガスによる溶血、発熱等²⁵⁾問題があるので、著者らは放射線滅菌を考慮し、その影響を研究し、次報に報告する予定である。

結 論

ディスポーザブル気泡型人工心肺セットの温度、時間等、条件を変えて水による溶出を検討した結果は次のとおりである。

1) シート型人工心肺回路に酸素附加し 37°, 4 時間、ポンプで灌流した灌流液中に鉛、カドミウムは検出されず、亜鉛 0.44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、過マンガン酸カリウム還元性物質 1.3 ml, シリコン樹脂 1.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶出があった。

2) Temptrol 人工肺は 70°, 30 分間水で抽出しても亜鉛は検出されず、鉄 (Fe^{++}) 4.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、過マンガン酸カリウム還元性物質 0.1 ml の溶出があった。

3) シート型人工肺回路は 70°, 30 分間水で抽出すると亜鉛 0.4~0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、過マンガン酸カリウム還元性物質 0.6~1.0 ml の溶出があった。

4) 人工心肺用塩ビシート、管は還流しながら水で煮沸抽出すると亜鉛 0.6~0.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、過マンガン酸カリウム還元性物質 0.3~0.6 ml の溶出があり、ゴム管は亜鉛 7~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、過マンガン酸カリウム還元性物質 3.5~8.5 ml の溶出があった。

5) 人工心肺回路より溶出した亜鉛の量はイヌの静注による致死量 (LD ZnCl_2 35 mg/kg) より計算し、安全であることを認めた。

終りにのぞみ、人工心肺の試料を提供された泉工医科工業 K. K.、K. K 循環ならびに平和物産 K. K に感謝する。

なお、本研究の概要は日本人工臓器学会 (1970. 11. 京都) において発表し、本研究の一部は昭和 45 年度厚生省人工心肺基準制定費を使用した。

文 献

- 1) M.V. Frey, M. Gruber: *Arch. f. Physiol.*, 9, 519 (1955)

- 2) W.V. Schroder: *Arch. f. Exper. Path. & Pharmacol.*, **15**, 364 (1882)
- 3) G.H. Clowes: *J. Thoracic. Surg.*, **32**, 630 (1956)
- 4) R.S. Cross, R.M. Berne, Y. Hirose, E.B. Kay: *S. Forum.*, **7**, 374 (1956)
- 5) J.H.Jr. Gibbon: *Arch. Surg.*, **34**, 1105 (1937)
- 6) 藤倉一郎：日胸外会誌，**16**，99(1968)
- 7) 鷺津卓爾ら：医科器械学誌**39**，519(1969)
- 8) P.W. Gebauer, M.R. Connor: *J. Thoracic & Cardiovas. Surg.*, **45**, 702 (1963)
- 9) M.N. Andersen, K. Kuchiba: *J. Thoracic. Cardiovascular Surg.*, **57**, 238 (1969)
- 10) I.H. Rygg, H.C. Eugell, E. Kyrsgard: *Dan. Med. Bull.*, **3**, 200 (1956)
- 11) B.R. Kalke, ALDO Castaneda, C.W. Lillehei: *J. Thoracic & Cardio. Surg.*, **57**, 679 (1969)
- 12) R.A. Dewall, H. Najafi, T. Roden: *J.A.M.A.*, **197**, 1065 (1966)
- 13) 堀部隆ら：衛生試報，**88**，11(1970)
- 14) 日本薬局方：輸液用プラスチック容器試験法
- 15) 小嶋茂雄，大場琢磨：衛生試報，**88**，26(1970)
- 16) 厚生省告示第442号ディスポーザブル注射筒
- 17) I.H. Rygg, T. Frederiksen, M. Jrgensen: *Thorax.*, **18**, 220 (1963)
- 18) I. Phillips, G.C. Marks: *Brit. Plast.*, **34**, 319, 385 (1961)
- 19) 大場琢磨，堀部隆：未発表
- 20) W.S. Spector: *Handbook of Toxicology*, **1**, p. 316 (1956) W.B. Saunders., Philadelphia
- 21) 村橋俊介ら：プラスチックハンドブック，p. 853 (1969) 朝倉書店
- 22) 下平彰男，風間成孔：日本薬学会第91年会講演(1971)
- 23) V.K. Rowe, H.C. Spenser, S.L. Bass: *J. Ind. Hyg. & Toxicol.*, **30**, 332 (1948)
- 24) W.C. Cutting: *Stanford Med. Bull.* **II**, 23 (1952)
- 25) D.J. Brown: *J.A.O.A.C.*, **53**, 263 (1970)

医療用具の放射線滅菌に関する研究（第3報）
腸線縫合糸の吸収速度について (*in vitro*) (その1)

大場琢磨・堀部 隆・菊池 寛

Radiosterilization of Medical Products. III
Digestion Speed of Cat Gut (in vitro) (I)

Takuma ŌBA, Takashi HORIBE and Hiroshi KIKUCHI

We have studied on the decrease of tensile strength of unirradiated suture in various pH buffer solutions containing pepsin or trypsin prior to the investigation on the effect of γ -ray irradiated cat gut suture. We assumed that the weakening of the suture in these solutions is as same as *in vivo*.

The results were as follows:

(1) The diameter and tensile strength of cat gut suture in dried state were shown in Table 1. When the cat gut suture was dipped in water for about 30 min, tensile strength decreased about 41~64 percent in plain type sutures and about 32~58 per cent in chromic type.

(2) The digestion of sutures in various pH buffer solutions containing pepsin or trypsin were shown in Figs. 2~6. In the pepsin-buffer solution of pH 1 to 3, cat gut was digested quickly, and after 4 hours, tensile strength of plain type cat gut became about 1 Kg/mm². However, in the pepsin-buffer solution of other pH, it was digested slowly. In trypsin solution (pH 8~10) it was digested moderately, and in the other pH, it was scarcely digested.

(Received May 31, 1971)

まえがき

既報¹⁾において外科用縫合糸の γ 線照射量が強度に及ぼす影響について一部報告したが、吸収性縫合糸である腸線縫合糸は手術部位を縫合したのち、一定期間経過後に体内で吸収されるもので、その吸収期間も、USP²⁾ および JIS³⁾ では、Type A は 1 週間、Type C は 3 週間といわれているが、その試験法は決定されていない。したがって著者らは放射線滅菌による腸線縫合糸の吸収速度の変化、および分解生成物の影響を研究するため、まず *in vitro* における未照射の腸線縫合糸の各種 pH 緩衝液やペプシンおよびトリプシン添加の各 pH 緩衝液中での引張強度の経時変化を検討したので、その結果を報告する。

実験方法

1. 試料：西独 B. Braun 社製プレインおよびクロミック腸線縫合糸（羊製）太さ 3～000 号 1.5m 長、各 100 本
2. pH 緩衝液：Clark-Lubs 氏⁴⁾ の pH 緩衝液の組成にしたがい、pH 1.0 より 10.0 まで 1.0 おきに調製
3. 酵素液：ペプシン（Merk 社製、力価 35000 E/g）トリプシン（Merk 社製、力価 2000 E/g）を 100 mg 精秤し、おのおの pH 緩衝液に溶かし 100 ml とした。
4. 強度測定：島津オートグラフ P-100 型、引張り速度 200 mm/min. ロードセル 20 kg 使用し、コードチャックで試料保持部での切断を防止した。
5. 試験方法：10cm に切断した腸線縫合糸をダイアルゲージ（1/1000 mm 目盛）で直径を測定したの

Table 1. Diameter and tensile strength of cat gut suture in dry state

Sample		Diameter (mm)	Tensile strength (kg/mm ²)
Plain	3	0.678±0.010	43.1±11.2
Plain	2	0.551±0.014	50.6±2.7
Plain	1	0.513±0.002	52.5±8.8
Plain	0	0.438±0.010	55.2±9.1
Plain	00	0.355±0.011	58.2±2.7
Plain	000	0.280±0.020	55.9±7.5
Chromic	3	0.663±0.001	36.1±9.1
Chromic	2	0.557±0.012	46.5±6.0
Chromic	1	0.533±0.007	46.6±3.1
Chromic	0	0.384±0.015	46.1±4.8
Chromic	00	0.408±0.009	50.4±4.0
Chromic	000	0.282±0.008	60.7±5.6

ち、各種 pH 緩衝液および酵素液 100 ml 中に全漬し、37° に保ったのち、それぞれ 30 分、2 時間、4 時間、6 時間および 24 時間経過後とり出し、引張り試験を行ない、破断までの最大荷重を測定し、引張強さ (kg/mm²) を計算により求めた。

実験結果

腸線縫合糸のプレインおよびクロミックの乾燥状態での直径および引張り強さを Table 1 に示す。

既報⁵⁾ の国産腸線縫合糸に比べ、直径および引張強さはばらつきが少ないことがわかった。腸線縫合糸を水中に全漬し、浸漬時間と強度の関係は Table 2 に示す。

乾燥状態に比べ、30 分間水中浸漬により引張強さが

Table 2. Relation between dipping time and tensile strength of cat gut sutures in water

Dipping time (hr)		0.5	1	2	4	6	24
Sample							
Plain	3	22.76±3.43	21.61±4.45	—	21.10±4.88	21.08±4.27	19.66±3.93
Plain	2	22.45±2.49	20.25±3.87	—	21.46±3.83	22.26±3.28	21.70±3.03
Plain	1	20.26±5.40	17.68±6.35	—	18.16±6.32	18.11±6.69	19.13±5.02
Plain	0	21.58±4.58	19.10±4.98	—	21.36±6.11	21.58±5.61	20.01±4.87
Plain	00	20.78±6.66	17.65±3.40	—	19.38±2.70	20.78±2.45	19.78±2.53
Plain	000	32.83±5.75	32.46±7.90	—	30.48±6.13	32.50±9.20	34.28±7.58
Chromic	3	24.40±3.14	23.97±3.41	24.07±4.32	23.63±2.91	24.22±3.71	22.71±3.64
Chromic	2	30.08±4.75	28.15±3.30	29.15±2.93	28.15±4.95	26.92±3.57	26.94±1.18
Chromic	1	20.19±4.06	19.28±3.52	19.90±2.36	19.93±3.60	19.16±1.99	18.39±3.72
Chromic	0	26.49±2.64	24.67±2.90	25.90±3.78	23.10±2.82	24.09±3.36	24.47±2.44
Chromic	00	24.67±3.35	23.13±2.43	24.32±5.36	23.90±1.14	23.99±1.85	23.88±2.39
Chromic	000	25.20±7.30	28.40±6.82	31.06±3.42	28.01±5.32	27.77±4.86	31.28±7.26

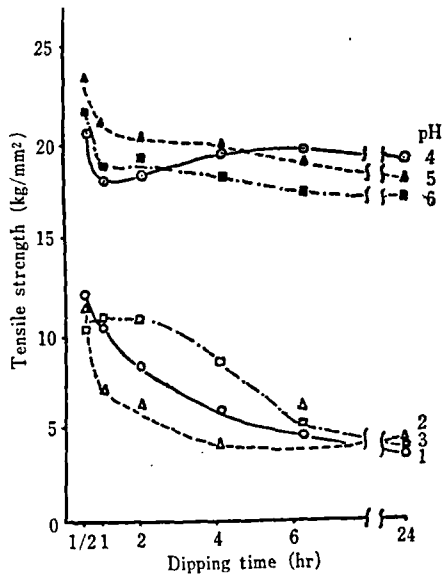


Fig. 1. Influence of pH and dipping time on tensile strength of suture type 00 Plain

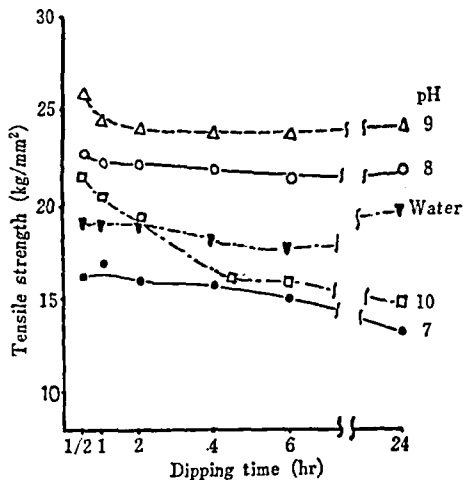


Fig. 2. Influence of pH and dipping time on tensile strength of suture type 00 Plain

プレインは41～64%，クロミックは32～58%の減少をすることがわかった。腸線縫合糸の水および各 pH 緩衝液中での浸漬時間と強度の関係の1例を Fig. 1, 2 に示す。

pH 1～3では強度低下は最も大で、時間と共に強度が低下したが、pH 4～9では強度低下は少なく、時間がたっても強度の劣化は少なかった。さらに pH 10でも時間と共に強度劣化を示したが、酸性領域程著しくない。

腸線縫合糸のパepsinおよびトリプシンの各 pH 緩

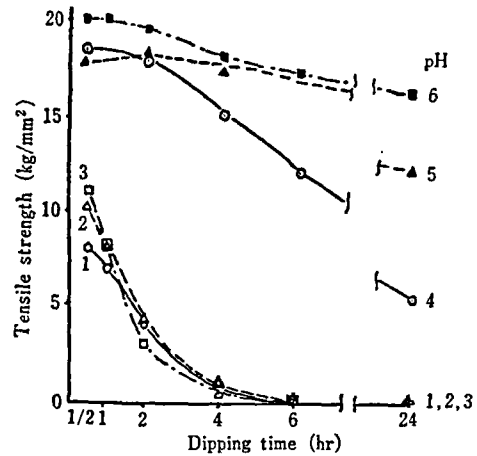


Fig. 3. Influence of pH and dipping time in pepsin solution on tensile strength of suture type 00 Plain

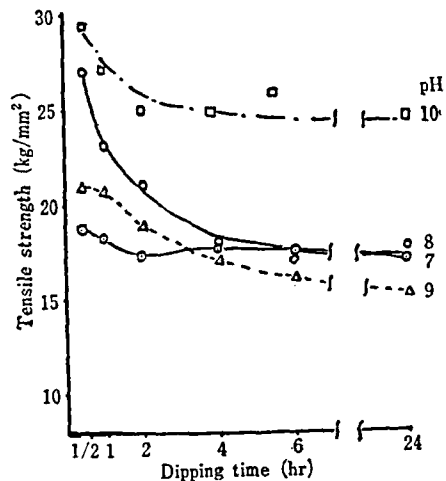


Fig. 4. Influence of pH and dipping time in pepsin solution on tensile strength of suture type 00 Plain

衝液中での浸漬時間と強度との関係の1例を Fig. 3～6 に示す。

ペプシン溶液中では pH 1～3 の範囲で速やかに強度が低下して、4時間ではほとんど0となった。pH 4～5では緩慢であるが、時間と共に強度は低下した。pH 6以上アルカリ領域ではほとんど影響は認められなかった。

トリプシン溶液中では pH 8～10 の範囲では時間と共にやや急速な強度低下を示し、全般的に6時間まではわずかの变化であるが、24時間では強度低下したことが目立った。また pH 8～10 のトリプシン溶液中

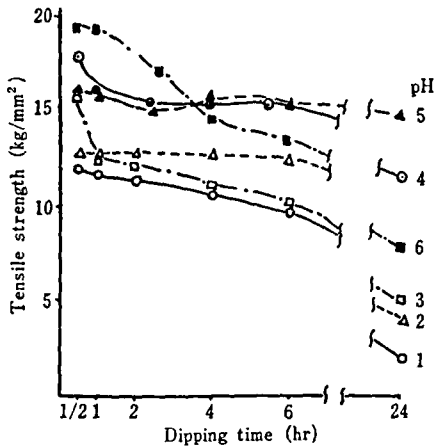


Fig. 5. Influence of pH and dipping time in trypsin solution on tensile strength of suture type 00 Plain

での強度低下は pH 1~3 のペプシン溶液中に比べ少なかった。

考 察

腸線縫合糸は繊維たんぱく質の一種であるコラーゲンが主成分であるため、60° 以上⁶⁾ の加熱で変質しやすく、また動物の小腸より製するため、微生物の汚染が多く、滅菌にはエチレンオキシドガスによる低温滅菌法が行なわれているにもかかわらず、時に細菌や真菌の残存がある。したがって、ガス滅菌の代わりにγ線滅菌を使った際の消化吸収、分解生成物の影響が問題で、ここに未照射のものについて基礎的研究を行った。

腸線縫合糸は一般に不溶であるが、幼若なあるいは代謝のさかんな組織に多い可溶性コラーゲンは希酸溶液に一部溶ける⁶⁾ といわれる。Fig. 1 で腸線縫合糸が pH 1~3 の緩衝液での強度の低下が認められたのは、この理由であると思われる。

一般にコラーゲンはX線回折によると、極性アミノ酸に富むバンド領域と、中性アミノ酸からなる (Gly-Pro-X)_n の順列をもつインターバンド領域とが交互にかさなり、そのアミノ酸組成はグリシン、プロリン、オキシプロリン、アラニン、グルタミン酸等よりなっている。本研究に使用した酵素のペプシンの最適 pH は 1.8 で、種々のペプチド結合、芳香族アミノ酸、二塩基性アミノ酸残基に隣接した結合を加水分解^{8,9)} するに反し、トリプシンの最適 pH は約 8 で、ペプチド、アミド、エステルの L-アルギニンまたは L-リジンのカルボキシル基のところで加水分解するといわれる^{8,9)}。したがって、Fig. 3~6 に示すように、ペプ

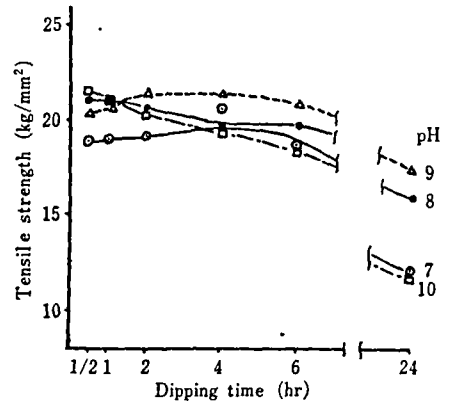


Fig. 6. Influence of pH and dipping time in trypsin solution on tensile strength of suture type 00 Plain

シンは広範囲の結合を酵素加水分解し、腸線の強度の低下が著しいのに反し、トリプシンは特異的な基のところのみ加水分解するため、ペプシンに比べ分解が緩慢で、強度の低下が少ないものと思われる。しかし腸線縫合糸が体内に埋没されるときは、胃の部位を除き pH は中性または微アルカリ性であるゆえ、腸線の消化はこれらの pH で緩慢に分解され、強度の低下が示すことが実際的であると考え、トリプシンの代わりに他の酵素キモトリプシンなどを使用し、また照射した腸線縫合糸の各種溶液中での消化速度の変動について今後研究を続ける予定である。

結 論

吸収性外科用縫合糸の放射線滅菌による消化吸収に及ぼす影響を研究するため、まず pH 1~10 までの緩衝液およびペプシン・トリプシンを添加した各種 pH 緩衝液中での未照射の腸線縫合糸の強度の経時変化を測定した。結果はつぎの通りである。

(1) 腸線縫合糸の乾燥状態での直径および引張強さは Table 1 に示すように、ばらつきは少なくさらに水中浸漬により、時間と共に強度の低下を示し、プレインは 41~64%、クロミックは 32~58% の減少をした。

(2) 各 pH 緩衝液の強度と浸漬時間の関係は Fig. 1, 2 に示すように、pH 1~3 で強度低下は大で、pH 4~9 では低下は少なく、又 pH 10 では低下はやや大であった。

(3) ペプシン溶液中では pH 1~3 の範囲で速やかに強度が低下し、4 時間で 0 に近くなったが、pH 4~5 では低下は緩慢で、6 以上では低下は認められな

かった。

(4) トリプシン溶液中では pH 8~10 の範囲で強度の緩慢な低下が認められたが他は低下が認められなかった。

本研究は原子力研究費によった。

文 献

- 1) 堀部隆ら：衛生試報，86，41（1968）
- 2) U.S.P. XVIII, p. 703
- 3) JIS. T 4102 腸線縫合糸
- 4) 宮木高明ら：常用化学定数表，p. 438（昭40）

広川書店

- 5) 藤井正道ら：衛生試報，77，505（1959）
- 6) 石川悟朗ら：歯学事典，p. 472, 272（昭45）永末書店
- 7) 日本生物物理学会：生体高分子Ⅱ，p. 50（1966）丸善
- 8) H.U. Bergmeyer: *Methods of Enzymatic Analysis*, p. 990, 999（1963）Academic Press, New York
- 9) 赤堀四郎：酵素ハンドブック，p. 507, 509（1966）朝倉書店

大気中の浮遊粉じんに関する研究（第1報）

低温灰化装置とポーラログラフ法による浮遊粉じん中の銅，鉛，カドミウム，亜鉛の定量

辻 楠 雄

Studies on the Suspended Particles in Air. I

Determination of Copper, Lead, Cadmium and Zinc in Air by Low Temperature Radio Frequency Oxidation Apparatus and Polarography

Kusuo TSUJI

For the direct determination of lead, copper, cadmium and zinc in air, the method with Low Temperature Radio Frequency Oxidation apparatus and successive Polarography gave good results.

The glass- or polystyrene-fiber filter attached to the High Volume Air Sampler which adsorbed the fine particles in air on its surface was inserted in the Low Temperature Radio Frequency Oxidation apparatus.

The particles were laid the ashes under the following condition; flow rate of oxygen 70 ml/min, output power of high frequency 150 w, temperature about 100°, heat for 3 hours.

The ash obtained here was extracted twice with 10 ml of hydrochloric acid and the acid extract was diluted to concentration required for the experiment test. The most suitable pH value was about 7.2, and the solution was used as the sample solution for the Polarography.

Half wave potentials of copper, lead, cadmium and zinc were -0.16, -0.47, -0.67, and -1.19 volt (v.s. S.C.E.) respectively in the measuring range of 0 to -1.40 volt.

By this methods, four kinds of metals in air were determined in some city of Japan and the valuable results were obtained.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

大気中には、微量の固体微粉末が浮遊しており、この中には、フライアッシュ、炭酸カルシウムなどのほかに、数多くの微量重金属がある。これらの重金属については、以前から衛生化学的見地より、多大の関心

を示しているものである。大気中には、鉄、亜鉛、鉛、カドミウムなど30種以上の金属が存在するといわれているが、本研究においては、銅、鉛、カドミウムおよび亜鉛の4種類について、低温灰化装置とポーラログラフを用いて、同時定量を行なった。

一般に、大気中に存在する微量の重金属を捕集する

場合に、インピンジャーなどを用いて、直接吸収液に重金属を捕集する場合と、フィルターを用いて捕集する場合がある。前者は特定の物質を捕集する場合に用いられることが多く、後者は全金属の捕集に用いられる。著者は、ハイボリウム・エア・サンプラーに、グラスフィルターと、最近わが国で開発されたポリスチレン製フィルターを用いて、重金属を吸着させそれを試料とした。

大気中の重金属の分析法については、今までに、発光分析法¹⁾、原子吸光分析法²⁾、ポーラログラフ法³⁾、X線分析法⁴⁾などにより、数多くの報告がなされている。しかし重金属の中には、カドミウム、鉛、亜鉛のように、低温で揮発しやすい金属などは、500°での乾式灰化ではむづかしく、それ以上の温度では、グラスフィルターの場合、溶ゆうして、含有している重金属類を包括してしまうなどの欠点がある。また硫酸による湿式灰化では、処理された試料のpH値がかなり低いために、それ以降の分析操作に、種々の影響を与えるものと思われる。

著者は、大気中に浮遊するこれらの重金属について、酸素プラズマによる低温灰化装置を用いて灰化したのち、ポーラログラフ法で分析を行ない、満足すべき結果がえられたので、ここに報告する。

実験方法

1. 実験装置

捕集装置：ハイボリウム・エア・サンプラー、Staplex 製と紀本電子製

低温灰化装置：International Corporation 製 model IPC, 1003, 高周波出力 300 W, 周波数 13.56 MHz, 真空度 0.1~10 mm/Hg.

ポーラログラフ：柳本製 AC-DC type PA-101

2. 試薬

塩酸と硝酸は和光純薬製精密分析用 (S.S.G) を用い、その他の試薬はいずれも特級品である。

3. 標準液

銅標準液：金属銅 (99.97%) 0.10 g をとり、できるだけ少量の硫酸で溶解煮沸して、窒素の酸化物を追い出したのち、水で 1 l とする。この液 1 ml は銅 100 μ g を含有する。

鉛標準液：金属鉛 (99.99%) 0.10 g をとり、少量の 6 N 硝酸に溶解し、冷後水で 1 l にする。この液 1 ml は、鉛 100 μ g を含有する。

カドミウム標準液：無水塩化カドミウム 1.631 g を水に溶解し、1 l とする。この液 1 ml は、カドミウム 100 μ g を含有する。

亜鉛標準液：金属亜鉛 (99.99%) 0.10 g をとり、6 N 硝酸 100 ml に溶解し、冷後水で 1 l とする。この液 1 ml は亜鉛 100 μ g を含有する。

4. 捕集用フィルター

捕集に用いたフィルターは、8×10 in で、グラスファイバー製としては Gelman type A, Watteman GF-A, 東洋 GB-100 R の3種、ポリスチレン製として、紀本 PF-2 を用いた。なお、グラスファイバー製のフィルターには、鉄や亜鉛などの金属成分が含まれているので、2 N 塩酸中に12~24時間浸漬し、つぎに脱イオン水で、水が中性になるまで洗滌し、乾燥後使用する。

5. 試料の作成

大気中の浮遊粉じんの捕集には、ハイボリウム・エア・サンプラーに、フィルターを装着させ、吸引時間は原則として24時間とし、大気の採気量はほぼ 2000 m³ である。捕集後は、吸着した浮遊粉じんを秤量⁵⁾したのち、吸着面を25×175 mm もしくは50×175 mm に切りとり、これを分析の試料とした。

6. 灰化

灰化条件：低温灰化装置は、高周波エネルギーの利用により、酸素をプラズマ状態に励起して、低温の状態では物質を灰化するものである⁵⁾。まず初めに、灰化速度を知るために、50×175 mm の試料4枚を用いて、30分ないし1時間ごとの浮遊粉じんの重量減を示したのが Fig. 1 である。酸素流量を 70 ml/min, 高周波出力 150 W の状態で、灰化はほぼ2時間半で完了したので、灰化時間は一応3時間とした。なおこの場合、試料枚数の増減、吸着量の多少によって、灰化時間を変更させた。またポリスチレン製のフィルターの灰化は、一応8時間とした。

灰化操作：規定の寸法に切りとった試料は、吸着した粉じんが急激な減圧や大気圧にもどすための加圧の際の飛散を防ぐため、捕集面を内側に折りまげ、チェンバー内のパイレックス製の棚に重ならないように並べる。灰化の終了した吸着面は、黒色から褐色へと変っている。またポリスチレン製の場合は、パイレックス製のボートからはみ出さないようにして灰化を行なう。

灰化の終わった試料は、20% 塩酸約 10 ml を加え、水浴上で2~3時間加温し別する。試料に、さらに塩酸 10 ml を加え、1時間加温し、別してろ液を合してホットプレート上で完全に濃縮する。

7. ポーラログラフ分析

ポーラログラフの操作の条件としては、水銀滴下電極の $h=69$ cm, オープンサーキットで $m=2.456 \times$

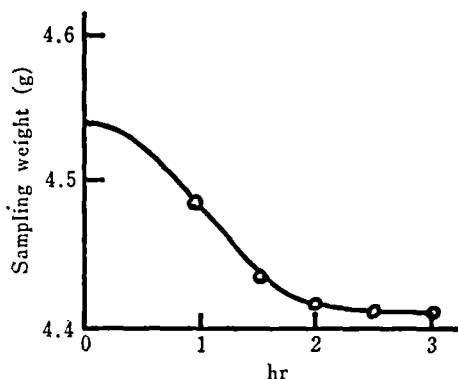


Fig. 1. Ashing time of dust particles
oxygen flow: 70 ml/min
RF Power : 150 W

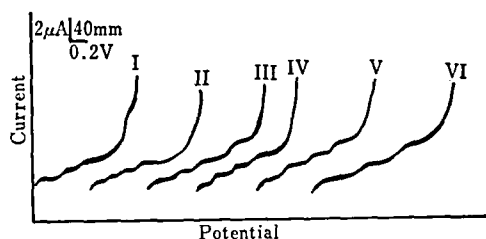


Fig. 2. Polarograms of Cu, Pb, Cd and Zn
I pH 2.52, II pH 4.45, III pH 6.19,
IV pH 7.22, V pH 8.5, VI pH 10.19

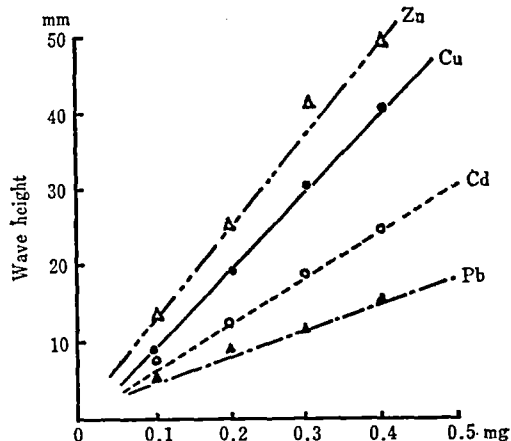


Fig. 3. Relationship between wave heights
and concentration of metals at pH 7.22

$10^{-3} \text{ g} \cdot \text{sec}$, $\text{m}^{2/3} \text{t}^{1/6} = 2.350$, 電極間距離 1 cm, 電解液の内部抵抗は 500Ω 以下とした。

pH の影響：pH の影響を求めるために Britton and Robinson 氏緩衝液を用い Fig. 2 のように pH 2.52 ~ 10.19 の範囲について検討を行なった。図に示すように、pH が低いときは、亜鉛の定量が困難で、また

Table 1. Recovery of copper, lead, cadmium and zinc in sample

metals	added μg	found μg	recovery %
Cu	1.0	0.95	95
Pb	"	0.91	91
Cd	"	0.98	98
Zn	"	1.04	104
Cu	2.0	1.86	93
Pb	"	1.90	95
Cd	"	2.01	100
Zn	"	2.04	102
Cu	4.0	3.82	95
Pb	"	3.88	97
Cd	"	3.95	99
Zn	"	4.10	103

pH が高いときは、銅の定量が完全に行なわれない傾向にあり、この6種の pH 値については、pH 7.22 が最適であった。

検量線の作成：つぎにこの4種の重金属について検量線を求めそれを Fig. 3 に示す。

図に示すとおり、4種の重金属についての同時定量では、亜鉛、銅の感度は良好であるが、カドミウム、特に鉛については、感度が低下している。

分析操作：抽出が終わって濃縮された試料は、水を加えて 25 ml もしくは 50 ml とし、pH は 7.2 前後に調製する。この試料溶液 2 ml にゼラチン液 1 滴を加え、1 N 塩化カリウム溶液で 5 ml とする。この溶液の一部を電解びんにとり、窒素ガスを約 10 分間通して飽和させたのち、0 ~ -1.4 V の範囲でポーラログラムをとる。

回収率：未使用の捕集用フィルターに、4種の重金属を添加し、前述の灰化条件およびポーラログラフ法によって、回収率の検討を行なった結果を Table 1 に示す。回収率の平均は銅 94%、鉛 94%、カドミウム 99%、亜鉛 102% であった。

つぎにこの実験法を用いて、日本の工業都市における大気中の重金属について行なった分析結果の一部を Table 2 に示す。

結果および考察

低温灰化装置の最適の灰化条件をうるためには、この装置の入力エネルギー、酸素の流量、それに圧力の適当なかねあいが必要である。Fig. 1 はグラスファ

Table 2. Concentration of various metals in atmosphere ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

Location		Cu	Pb	Cd	Zn
Tokyo,	No. 1	0.84	1.4	0.01	2.80
	No. 2	0.47	2.1	0.02	0.56
	No. 3	0.62	2.3	0.02	1.22
Kawasaki,	No. 1	0.25	1.5	0.01	3.08
	No. 2	0.79	2.2	0.02	5.11
Tokai,	No. 1	0.53	1.9	0.03	13.02
	No. 2	0.12	0.5	0.02	2.98
Osaka,	No. 1	0.36	1.3	0.01	1.33
	No. 2	0.25	0.7	0.04	2.68
Annaka,	No. 1	1.05	11.3	0.68	18.56
	No. 2	2.30	22.2	0.38	8.23

イバーフィルターを用いたとき、1 チェンバーにフィルター 1 枚分の灰化に必要な時間で、酸素流量や高周波出力によっても、その灰化速度は異なってくる。それゆえにこの図は一応の目安になるものである。また灰化速度を早めようとして、高周波出力を増大すると、ときには試料の一部がグラファイト化して、完全な灰化が困難になることもある。

ポーラログラフ法では、pH の変動によって分析結果に大きな影響がある。実験の結果、pH 値を 7.2 としたが、感度の点に若干問題があり、今後充分検討の余地がある。このことは、Fig. 3 の検量線によく現われている。また Table 1 で、銅、鉛の回収率が他の 2 種の金属より若干劣っているのも、その原因の一つかも知れない。

これらの実験結果に基づいて、工業都市における浮遊粉じん中の 4 種の重金属について分析を行ない、それを Table 2 にまとめたが、4 種の中では亜鉛が一番多く、鉛、銅、カドミウムの順になっている。また採取した全地域にこれらの重金属が存在していることは、このような形態をもっている日本の都市の全地域

に分布しているものと思われる。

総 括

低温灰化装置とポーラログラフを用いて、大気中の浮遊粉じん中の銅、鉛、カドミウムおよび亜鉛について、分析条件を検討して良好な結果を得た。

低温灰化装置については、フィルターを規定の寸法に切り、高周波出力 150W、酸素流量 70ml/min の条件で約 3 時間で完全に灰化を行なうことができた。灰化の終わった試料は、塩酸で抽出したのち、pH 7.22 で 0 ~ -1.4V の範囲で、銅、鉛、カドミウムおよび亜鉛を完全に分離定量した。

この方法を用いて、都市大気を捕集し、4 種の重金属について分析を行なった。地域によって大気中の重金属の濃度分布は異なっているが、採取した全部の地域に存在していることは、他の都市でも同様のことが考えられ、またあらゆる地域において、重金属が微量とはいえ、存在していることは衛生化学的にも重大な問題である。

文 献

- 1) 橋本芳一ら：産業公害，4，609 (1968)
- 2) T.V. Ramakrishna et al.: *Anal. Chem. Acta.*, **37**, 20 (1967)
- 3) C.D. Burnham et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **3**, 472 (1969)
- 4) G.L. Hoffman et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **3**, 1207 (1969)
- 5) C.E. Gleit et al.: *Anal. Chem.*, **34**, 1454 (1962)
- 6) U.S. Public Health Service: *Air Pollution Measurement of the National Air Sampling Network*, p. 211 (1957~1961), U.S. P.H.S. Cincinnati

食品中の残留農薬の分析に関する研究（第1報）
バレイシヨ中に残留するフェニル水銀化合物の分析

関田 寛・大槻久美子・武田由比子
伊藤誉志男・武田 明治・田辺 弘也

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. I
Analysis of Residual Phenylmercury Compound in Potatoes

Hiroshi SEKITA, Kumiko OTSUKI, Yuiko TAKEDA,
Yoshio ITO, Mitsuharu TAKEDA and Hiroya TANABE

The methods for the isolation and determination of residual phenylmercury compound in potatoes treated with phenylmercury compound were investigated.

From the recovery test, it was found that the mixture of ether and benzene (1:1) was the best for the extraction of phenylmercury compound in acidic potato homogenate.

In addition to phenylmercury compound, a natural substance which shows a considerable absorbance at 480 m μ as dithizonate was found in the ether-benzene extract, and it could be removed by treating with cysteine.

It was concluded that the residual phenylmercury compound of potatoes were 0.09 ppm on the whole, but about 60% of the whole residue were removed by paring, and about 20% were removed by washing potatoes with a neutral detergent.

(Received May 31, 1971)

昭和45年2月中旬、北海道十勝地方から農家保有の種用バレイシヨが当時の高値に乗じて道内ならびに東京、京都方面の市場に食用として出荷されているというニュースが報道された。そしてこれには農家で保存する目的で酢酸フェニル水銀を主成分とする防腐剤が塗布されていたことも同時に報道された。

このいわゆる「有毒じゃがいも事件」に関連して著者らの研究室に厚生省環境衛生局食品化学課を通じて酢酸フェニル水銀化合物の塗布されていたバレイシヨ試料が送付されてきた。これを契機として、著者らはまずバレイシヨ中に残留するフェニル水銀化合物の抽出分離定量法を検討し、ついで送付されてきたバレイシヨ試料に残留するフェニル水銀化合物を酢酸フェニル水銀相当量として、全体、表面ならびに内部それぞれについて、また全体を中性洗剤溶液で洗浄したものについて定量を行なったので、その間の経過について報告する。

試料ならびに実験方法

1. 試 料

厚生省食品化学課を通じて送付されてきた酢酸フェニル水銀の塗布されていた北海道産のバレイシヨ。このバレイシヨの表面には、所々に淡紅色のチョーク

でつけたような印があった。

なお、対照としては放射線照射食品研究用として著者らの研究室に保存されていた未照射（対照用）の北海道産バレイシヨを用いた。

2. 試 薬

酢酸フェニル水銀：市販品をベンゼンより再結晶して用いた（mp 149°）。

活性アルミナ：メルク社製の活性アルミナ（中性、ブロックマンによる活性度Ⅱ～Ⅲ）を水洗後150～170°で一夜加熱した後、4.5%（W/W）の水を加えてよく振とうし、室温で24時間放置したものを用いた。

ジチゾン・四塩化炭素溶液：ジチゾン（キシダ化学社製試薬特級品を再結晶して用いた）15 mgを四塩化炭素（市販特級品）300 mlに溶かしたもの。

安定液：氷酢酸、クロロホルム、四塩化炭素の1:1:10（v/v/v）の混液。

システイン液：L-システイン1 g、硫酸ナトリウム（無水）12.5 g および酢酸ナトリウム（無水）0.8 gを水に溶かして全量 100 ml としたもの。

3. 試料の前処理

全体：バレイシヨ 6個（900～950 g）を無作為にとった。

皮部：バレイシヨ 6個（950 g）からむいて得られ

た皮の部分 (200 g)。

中身：上記バレイショ 6 個 (950 g) から皮部を除いて得られた部分を軽く水洗したもの (750 g)。

洗浄：バレイショ 6 個 (900~950 g) を中性洗剤 (ライポンド F, ライオン油脂社製) の 0.5% 水溶液に時々ゆり動かしながら 5 分間ひたした後、流水で 1 分間洗浄した。

4. フェニル水銀化合物の抽出分離

i) エーテル・ベンゼンによる抽出：試料を細切した後、等重量の 2 N 塩酸を加えて pH を 1 以下にし、ワーリングブレンダーにて最高速度で 10 分間ホモジナイズして得られたホモジネート 100 g (バレイショとして 50 g 相当量) を 500 ml の分液ロートにとり、これにエーテル・ベンゼン (1 : 1) の混液 250 ml を加えて振とう器で 10 分間振とうした後、内容物を 2500 r.p.m. で 10 分間遠心分離して得られた有機溶媒層を駒込ピペットで 500 ml の三角フラスコに分取した。残渣および水層をもとの分液ロートにもどし、再び同様の抽出操作を繰返して得られた抽出液を合わせた後、水 100 ml で 1 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ液を Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧濃縮し、ベンゼン濃縮液 5 ml を得た。

ii) システイン処理による精製：前述のようにして得られた濃縮液 5 ml を住野の方法²⁾をいく分変えて、システイン液 5 ml を加えて振とう器にて 10 分間振とうし、2 層に分離した後、ベンゼン層は別の容器に分取し、水層はさらに 2 N 塩酸 3 ml およびベンゼン 5 ml を加えて振とう器にて 10 分間振とうした後、水層を除去してベンゼン抽出液を得た。

5. フェニル水銀化合物の定量 (比色法)

前述のエーテル・ベンゼン抽出法で得られたベンゼン濃縮液およびシステイン処理による精製で最終的に得られたベンゼン抽出液について、石倉ら³⁾の方法に従ってフェニル水銀のジチゾネートをアルミナカラムクロマトグラフィーによって溶出して、これを比色定量した。すなわち、フェニル水銀化合物を含むベンゼン溶液にジチゾン・四塩化炭素溶液を正確に 5 ml 添加して振とう器にて 10 分間振とうした後、その 5 ml をとって、あらかじめ内径 7 mm のクロマト管に活性アルミナ 2 g を充填したカラムの上端に積層し、これを四塩化炭素にて溶出し、カラム上で橙色に着色した部分がカラムの下端から溶出し始めた時点からあらかじめ安定液 1 ml を添加しておいた 10 ml のメスフラスコに標線に至るまで溶出液を取った。得られた溶出液について四塩化炭素をブランクとして島津製 Multiconvertible Spectrophotometer Double-40 型

を用いて 480 m μ の波長における吸光度を測定した。

なお、溶出液中のフェニル水銀化合物の含有量はあらかじめ標準の酢酸フェニル水銀の各種濃度のベンゼン溶液を用いて同様の操作を行なって検量線を作成しておき、この検量線に基づいて酢酸フェニル水銀相当量として求めた。

6. ECD ガスクロマトグラフィー

前述のエーテル・ベンゼン抽出法によって得られたベンゼン濃縮液およびシステイン処理による精製で得られた最後のベンゼン抽出液について下記の測定条件で ECD ガスクロマトグラフィーを行なった。

i) 測定装置：島津製 GC-3 AE 型ガスクロマトグラフ

カラム：内径 4 mm, 長さ 1.5 m (ガラス製)

カラム充填剤：2% OV-17/Chromosorb G

(AW-DMCS, 60~80 メッシュ)

カラム温度, 検出器温度, 注入口温度：いずれも 185°

キャリアーガス流量：N₂, 80 ml/min

ii) 測定装置：JOEL 製 JGC-810 型ガスクロマトグラフ

カラム：内径 4 mm, 長さ 1 m (ガラス製)

カラム充填剤：5% DEGS/Chromosorb G

(AW-DMCS, 60~80 メッシュ)

カラム温度：180°

検出器温度：230°

注入口温度：210°

キャリアーガス流量：N₂, 60 ml/min

実験結果ならびに考察

1. フェニル水銀化合物の検量線

実験方法の項で述べた定量法に従って標準溶液として酢酸フェニル水銀を 0, 15, 30, 45 および 60 μ g 含むベンゼン溶液 5 ml を用いて検量線を作成した。Fig. 1 に示すように酢酸フェニル水銀含有量が 0~60 μ g の範囲できわめて良好な直線性のある検量線が得られた。

2. フェニル水銀化合物の添加回収実験

対照のバレイショを用いて、酢酸フェニル水銀 50 μ g (1 ppm 相当量) を添加したものと無添加のものについて、エーテル・ベンゼン抽出を行ない、添加した場合の値から無添加の場合の値を差引いて回収率を求めた結果、回収率は平均 101% というきわめて良好な値が得られた (Table 1)。

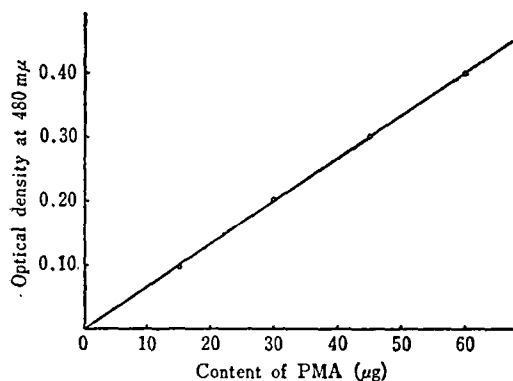


Fig. 1. Calibration curve of phenylmercuric acetate (PMA)

3. エーテル・ベンゼン抽出法によるフェニル水銀化合物の定量

種々の試料からの有機水銀化合物の抽出分離定量法については既に多くの報告があり、例えば、喜田村ら^{4,5)}は毛髪、血液、魚肉、精米などを処理し、あるいは無処理のまま塩酸性にした後、酢酸エチル抽出を行なっている。しかしながら、バレイショからの有機水銀化合物の抽出分離法についての報告は見当らず、著者らはバレイショの塩酸性ホモジネートと種々の有機溶媒を用いて混合状態ならびに抽出能力を検討した結果、抽出溶媒としてはエーテル・ベンゼン(1:1, v/v)が最も良好であることを見出した。そこ

で、前述のエーテル・ベンゼン抽出法に従ってバレイショ中の残留フェニル水銀化合物の量を全体、皮部、中身ならびに全体を中性洗剤溶液で洗浄したものについて定量し、Table 2 に示すような結果を得た。

送付試料および対照試料におけるそれぞれの測定値の差を送付試料に塗布されたフェニル水銀化合物に由来するものとみなすと、送付試料中のフェニル水銀化合物の残留量は全体として 0.09 ppm、そのうち皮の部分に 0.27 ppm、中身の部分に 0.04 ppm という値が得られた。また、全体を中性洗剤溶液で洗浄したものでは 0.07 ppm に減少していた。

これらの結果とバレイショの皮の部分と中身の部分の重量比から計算すると、送付されたバレイショに残留するフェニル水銀化合物の量は全体では 100 g につき平均 9.0 μ g となり、そのうち皮の部分には 5.7 μ g (63%)、中身の部分には 3.3 μ g (37%) という配分となった。

したがって、バレイショの皮をむくことにより、全体に残留しているフェニル水銀化合物の量を60%以上除去でき、また、全体を中性洗剤で洗浄することにより全残留量の約20%のフェニル水銀化合物を除去できることになる。

4. シス테인処理法によるフェニル水銀化合物の定量

住野²⁾は先に動物試料からの有機水銀化合物の抽出

Table 1. Recovery test of phenylmercuric acetate from potato homogenate

Addition of PMA	Optical density (480 m μ)						PMA equivalent (μ g)
	Observed					Average	
None	0.050	0.055	0.050	0.048	0.050	0.053	8.0
Addition (50 μ g)	0.390	0.380	0.395	0.390	0.400	0.391	58.5

PMA: Phenylmercuric acetate

Table 2. Residues of phenylmercury compound in potatoes by ether-benzene extraction method

Condition ¹⁾	Optical density (480 m μ)			PMA ²⁾ equivalent (μ g)
	Delivered samples	Control samples	Difference	
Whole	0.080	0.051	0.029	4.5
Rinds	0.197	0.107	0.090	13.5
Substances	0.042	0.028	0.014	2.0
Washed	0.071	0.047	0.024	3.5

1) Condition: See Experimental

2) PMA: Phenylmercuric acetate

Each value is the average of three measurements

Table 3. Residues of phenylmercury compound in potatoes by cysteine treatment method

Condition ¹⁾	Optical density (480 m μ)			PMA ²⁾ equivalent (μ g)
	Original benzene extract	Benzene layer after cysteine treatment	Final benzene extract	
Whole	0.089	0.050	0.034	5.0
Rinds	0.198	0.090	0.091	13.5
Substances	0.045	0.033	0.013	2.0
Washed	0.079	0.055	0.025	3.5

1) Condition: See Experimental

2) PMA: Phenylmercuric acetate

Each value is the average of two measurements

分離法において、試料の塩酸酸性ホモジネートのベンゼン抽出液をグルタチオン処理することにより、濃縮の操作なしに抽出液の精製ができることを報告している。

著者らはグルタチオンの代わりに L-システインを用いて標準の酢酸フェニル水銀を添加して同様の操作を行なったところ、最後のベンゼン抽出液に酢酸フェニル水銀が定量的に回収されることが確認できた。そこで、送付試料からエーテル・ベンゼン抽出法によって得られたベンゼン濃縮液、この濃縮液をシステイン処理した後のベンゼン層ならびにこの際のシステイン溶液層をさらに塩酸酸性にした後のベンゼン抽出液のこれら 3 者についてフェニル水銀化合物の含有量を測定した結果は Table 3 に示すとおりである。

Table 3 に示されているそれぞれの数値を Table 2 の各段各列に対応するそれぞれの数値と比較してみると、いずれもほとんど一致した数値を示している。言い換えると、Table 2 の対照試料における数値は Table 3 のシステイン処理で除去されたものの数値と一致している。したがって対照試料における数値は有機水銀化合物に基づく数値ではなくて、バレイショ中に本来存在する成分に由来する数値であるといえる。

5. ECD ガスクロマトグラフィーによるフェニル水銀化合物の確認

送付試料および対照試料の両者についてエーテル・ベンゼン抽出法で得られたベンゼン濃縮液ならびにシステイン処理による精製を行なった後のベンゼン濃縮液とを試料溶液として、フェニル水銀化合物の確認のために ECD ガスクロマトグラフィーを行なった。

今回の測定条件下における酢酸フェニル水銀の保持時間ならびに検出限界は、島津製 GC-3 AE 型においては、それぞれ 1.5 分、5 ng/ μ l (25 μ g/5 ml) で、JOEL 製 JGC-810 型においては、それぞれ 3.5 分、2 ng/ μ l (10 μ g/5 ml) であった。

GC-3 AE 型においては、いずれの試料溶液からも酢酸フェニル水銀に一致するピークは観察されなかったが、JGC-810 型においては、送付試料の両試料溶液から酢酸フェニル水銀に一致するピークが認められた。しかしながら、夾雑物のピークが多く観察され、ECD ガスクロマトグラフィーによってフェニル水銀化合物を定量できるまでには至らなかった。

結 論

昭和45年2月にフェニル水銀化合物を主成分とする防腐剤を塗布した北海道産種用バレイショが食用として市場に出荷された事件を契機として、バレイショからのフェニル水銀化合物の抽出分離定量法を検討し、その方法を用いて当該バレイショに残留するフェニル水銀化合物を酢酸フェニル水銀相当量として定量した。

1. バレイショの塩酸酸性ホモジネートからの酢酸フェニル水銀の抽出溶媒としては、エーテル・ベンゼン (1:1) の混合溶媒が最も良好であった。

2. バレイショの塩酸酸性ホモジネートからのエーテル・ベンゼン抽出液には、フェニル水銀化合物の定量を妨害するバレイショに本来存在する成分が共存するが、この夾雑物は抽出液をシステインで処理することにより除去することができた。

3. 送付されたバレイショ試料中のフェニル水銀化合物の残留量は全体で 0.09 ppm であったが、バレイショの皮をむくことにより、全残留量の約60%のフェニル水銀化合物が除去され、また全体を中性洗剤溶液で洗浄することにより、全残留量の約20%が除去された。

本研究にあたり、御助言ならびに ECD ガスクロマトグラフィーにおいて便宜を計ってくださった当所環境衛生化学部佐谷戸安好室長に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 中村達郎：食品衛生研究，20，1089（1970）
- 2) K. Sumino: *Kobe J. Med. Sci.*, 14, 115 (1968)
- 3) S. Ishikura, K. Yokota: *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 11, 939 (1963)
- 4) 喜田村正次ら：医学と生物学，72，274（1966）
- 5) 同上：同誌，73，276（1966）

食品中の残留農薬の分析に関する研究（第2報）

乳製品中の残留有機塩素系農薬の分析

伊藤誉志男・大槻久美子・関田 寛

武田由比子・武田 明治・田辺 弘也

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. II
Analysis of Organo-chlorinated Pesticide Residues in Dairy Products

Yoshio ITO, Kumiko OTSUKI, Hiroshi SEKITA,

Yuiko TAKEDA, Mitsuharu TAKEDA and Hiroya TANABE

In Japan, various kinds of organo-chlorinated pesticides have been used in quantities on the farms for a protection against insects. It has been well-known that the pesticides used on the farms remain in agricultural products, and the milk cows fed with fodder including pesticides are contaminated.

In order to determine organo-chlorinated pesticides residues in dairy products, analytical methods were studied. Furthermore, the residual organo-chlorinated pesticides in milk, modified milk, skimmed milk and butter in Japan were analyzed.

(Received May 31, 1971)

まえがき

わが国は農業害虫の種類が多く、そのため昭和42年までは、BHC, DDT 等の有機塩素系農薬が広く用いられ、特に稲作ではニカメイチュウの害が大きく、その駆除のために BHC を多く用いていた。

しかし有機塩素系農薬は体内貯留性が非常に高く、飼料などに含まれた農薬が動物体内に蓄積することが知られている。特に乳牛の場合、乳中になんかなり多量の農薬が混入していることが Henderson¹⁾により、既に報告されている。そこで著者らは各種乳製品中の残留有機塩素系農薬の抽出定量法について種々検討し、良好な結果が得られたので、さらにこれらの方法を用いて、国内の乳製品（牛乳、特殊調製粉乳、脱脂粉乳およびバター）の各種有機塩素系農薬の残留量を測定したので報告する。

実験方法

(1) 試料溶液の調製

牛乳：市販牛乳をそのまま用いた。

特殊調製粉乳（特調）および脱脂粉乳：試料15g をとり、温湯 100 ml に溶解した。

バター：10g をとり、50° の保温器中で融解し、保温器中でひだろ紙にてろ過し、ろ液を試料とした。

(2) 標準農薬添加量および添加方法

α -BHC 0.5 μ g, β -BHC 2.0 μ g, γ -BHC 0.5 μ g, δ -BHC 0.5 μ g, p, p' -DDE (ジクロルジフェニルエタン) 2.0 μ g, p, p' -DDD (ジクロルジフェニルジクロルエタン) 3.0 μ g, p, p' -DDT 5.0 μ g を特調の場合はエタノール 5 ml に溶解し、試料溶液 100 g に添加した。脱脂粉乳の場合は、アセトン 5 ml に溶解し、試料溶液 100 g に添加した。いずれも添加後、5 分間振とうし、1 時間放置後抽出を行なった。

(3) 抽出溶媒の精製

抽出溶媒として用いられる *n*-ヘキサン, アセトン, アセトニトリルは濃縮後, 電子捕獲型検出器付き (ECD) ガスクロマトグラフィーにより, 有機塩素系農薬の含量を分析するのであるが, これらの感度は $10^{-9} \sim 10^{-12}$ g の超微量の定量法であるため, 使用した溶媒は, いずれも特級品を再蒸留し, 60倍濃縮したものを ECD にかける, 夾雑ピークのないことを確認した後に用いた。

(4) 残留農薬抽出法

抽出法 A²⁾

牛乳および特調はこの方法を用い, バターは②から始まる。

①脂肪の抽出法

試料 100 g を 500 ml 容量の分液ロートに入れ, エタノール 100 ml, シュウ酸カリウム 1 g を加え, よく混和する。次にエチルエーテル 50 ml を加え, 1 分間振とうする。さらに石油エーテル 50 ml を加え, 1 分間振とうする。しばらく静置したのち, 有機溶媒層を分取する。さらに水層をエチルエーテル・石油エーテル (1:1) 混合液 50 ml で 2 回抽出し, 有機溶媒層を合わせ, 1 l 容量の分液ロートに移し, 水 500 ml ずつで 2 回洗浄する。つぎに有機溶媒層に無水硫酸ナトリウム 50 g を加え, 1 時間放置したのち, ひだろ紙にてろ過後, クデルナ・ダニッシュ型濃縮器で溶媒を減圧下で, 完全に留去する。残渣として得られた脂肪の重量を秤り, それより脂肪含量を求める。

② 脂肪からの残留農薬の抽出精製

①の脂肪 2 g をとり, *n*-ヘキサン 15 ml に溶解し, 100 ml 容量の分液ロートに移す。*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 ml を加え, 1 分間振とうした後, アセトニトリル層を取る。さらにこの操作を 2 回行なった後, アセトニトリル層を合わせ, 1 l 容量の分液ロートに移す。次に 2% 食塩溶液 700 ml を加え, よく混和したのち, 100 ml の *n*-ヘキサンを加え, 約 15 秒間激しく振とうする。しばらく静置したのち, 再びよく振とうする。水層を捨て, さらに 100 ml の水で 2 回洗浄する。次に無水硫酸ナトリウム 20 g を加え, 1 時間放置後, ひだろ紙にてろ過, ろ液をクデルナ・ダニッシュ型濃縮器で約 5 ml にまで濃縮する。つぎにこの溶液についてフロリジル・カラムクロマトグラフィー (後述) を行ない, 溶出液を再び, クデルナ・ダニッシュ型濃縮器で 5 ml に濃縮し, ガスクロマトグラフィー用試料とした。

抽出法 B

実験方法(1)にしたがって調製した 15% 脱脂粉乳溶液

の脂肪含量は牛乳の約 1/30 であるため, 脂肪を抽出後, 残留農薬を抽出する A 法は用いることはできない。そこで著者らは種々検討の結果, つぎのような抽出法を考案した。

脱脂粉乳溶液 100 g を 500 ml 容量の分液ロートに取り, シュウ酸カリウム 1 g を加え, よく溶解させた後, *n*-ヘキサン・アセトン (1:1) 混液 250 ml を加え, 10 分間振とう後, 有機溶媒層を分取し, その容量を計り, 有機溶媒層に移行したアセトン量を求める。試料にその不足分のアセトン (約 25~50 ml) を加え, *n*-ヘキサン 125 ml を加えさらに 10 分間振とう後, *n*-ヘキサン層を分取して, 前の有機溶媒層と合わせる。有機溶媒層を水 500 ml で洗い, さらに水 100 ml ずつで 2 回洗浄する。つぎに無水硫酸ナトリウム 50 g を加え, 1 時間放置後, クデルナ・ダニッシュ型濃縮器で 5 ml にまで濃縮する。つぎにこの溶液についてフロリジル・カラムクロマトグラフィーをおこない, 溶出液を再びクデルナ・ダニッシュ型濃縮器にて 5 ml にまで濃縮し, これをガスクロマトグラフィー用試料とした。

(5) フロリジルカラムクロマトグラフィーの条件

種々検討の結果, つぎのような条件を定めた。フロリジルを 140° で 1 夜加熱活性化し, 1 時間デシケター中に放置したものを使用した。内径 2.2 cm, 長さ 30 cm のガラスカラムにフロリジルを 10 cm の高さになるように, *n*-ヘキサンにて湿式法でつめ, さらにその上層部に無水硫酸ナトリウムを 1.2 cm の高さに積層した。溶出液には 15% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン 200 ml を用い, 流速は 5 ml/min とした。

(6) 電子捕獲型検出器付き (ECD) ガスクロマトグラフィーの条件

α -, β -, γ -, および δ -BHC の BHC 異性体, p, p' -DDT と o, p' -DDT および p, p' -DDT の代謝産物である p, p' -DDD と p, p' -DDE ならびにアルドリン, ディルドリンおよびエンドリンなど 11 種の有機塩素農薬を用い, これらを良く分離するカラムの種類と, そのガスクロマトグラフィーの条件を検討した結果, 下記の 4 種のカラムとその条件が良好であることがわかった。なお, いずれの場合も柳本製ガスクロマトグラフ G-800 型を使用し, カラムはいずれも内径 4 mm のガラスカラムを用いた。

① 2% QF-1/Chromosorb G (60~80 mesh) Column length 150 cm, Column temp. 170°, Gas flow (N₂) 120 ml/min

② 2% OV-17/Chromosorb G (60~80 mesh) Column length 130 cm, Column temp. 170°, Gas flow

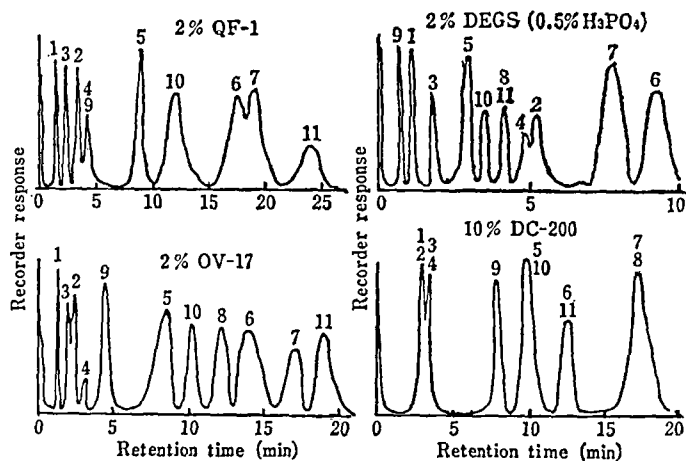


Fig. 1. Typical gaschromatograms of standard organo-chlorinated pesticides

1. α -BHC 2. β -BHC 3. γ -BHC 4. δ -BHC 5. p,p' -DDE 6. p,p' -DDD
7. p,p' -DDT 8. o,p' -DDT 9. Aldrin 10. Dieldrin 11. Endrin

(N₂) 120 ml/min

③ 2% DEGS-0.5% Phosphoric acid (Anachrom ABS 60~80 mesh)

Column length 130 cm, Column temp. 180°, Gas flow (N₂) 80ml/min

④ 10% DC-200 (Chromosorb G 60~80 mesh)

Column length 130 cm, Column temp. 200°, Gas flow (N₂) 110 ml/min

実験結果

(1) 各種標準農薬のガスクロマトグラム

2% QF-1 では δ -BHC とアルドリンのピークが完全に重なり、 p,p' -DDD と p,p' -DDT の分離も悪いが、2% OV-17 を用いることにより、 δ -BHC とアルドリン、 p,p' -DDD と p,p' -DDT の分離定量が可能である。しかし、2% OV-17 では γ -BHC と β -BHC の分離が悪い。2% DEGS では o,p' -DDT とエンドリンのピークが完全に重なるが、これは 2% OV-17 で、分離されている。10% DC-200 では、BHC 異性

体の分離が不可能であり、また p,p' -DDE とディルドリン、 p,p' -DDD とエンドリン、 p,p' -DDT および o,p' -DDT が重なるが、ディルドリン、エンドリン、 o,p' -DDT が他のカラムで検出されなかった検体では、 p,p' -DDE、 p,p' -DDD、 p,p' -DDT の定量が、かなり正確になる。

Fig. 1 からわかるように、2% QF-1 と 2% OV-17 の2種類のカラムのみで、これら 11 種の農薬が分離定量できるように見えるが、ECD ガスクロマトグラフィーは 10^{-9} ~ 10^{-12} g の超微量の定量であるため、食品試料本来の成分による妨害も認められたので、すべての試料について、上記の 4 種のカラムを用い、これらを組合わせて用いることにより、定性実験をより正確なものにした。

(2) 各種有機塩素系農薬の特殊調製粉乳での添加回収実験

Table 1 は特調での添加回収率であり、牛乳およびバターでも、抽出方法が全く同じであるためほぼこれらと同等の回収率が得られる。Table 1 に示す通り、

Table 1. Recoveries of organo-chlorinated pesticides in modified milk

No.	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	p,p' -DDE	p,p' -DDD	p,p' -DDT
1	77.2%	70.2%	73.6%	85.0%	83.4%	98.5%	88.2%
2	97.0	88.7	90.4	103.7	89.4	101.5	99.1
3	87.6	81.7	81.8	98.0	80.7	84.7	94.3
4	75.7	84.5	74.6	103.0	87.1	91.5	89.1
5	98.5	103.7	93.7	115.7	106.1	116.9	106.6
Average	87.2	85.8	82.8	101.1	89.3	98.1	95.4

Table 2. Recoveries of organo-chlorinated pesticides in skimmed milk

No.	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	p, p' -DDE	p, p' -DDD	p, p' -DDT
1	91.2%	80.0%	81.6%	96.0%	90.8%	98.0%	93.2%
2	75.5	81.4	76.0	88.0	87.7	88.5	88.1
3	94.8	84.6	80.0	92.1	92.1	92.1	84.6
4	84.2	62.4	77.6	84.8	83.0	98.7	98.2
5	84.2	79.4	76.0	83.2	93.3	101.0	98.7
Average	86.0	77.6	78.2	89.0	89.4	95.7	92.6

Table 3. Organo-chlorinated pesticide residues in dairy products (I)
average values on fat basis (ppm)

Sample	No.	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	Total BHC	p, p' -DDE	p, p' -DDD	p, p' -DDT
Milk	46	0.85 (1.89)	1.57 (4.37)	0.38 (2.18)	0.10 (0.40)	2.51 (8.34)	0.26 (0.50)	0.23 (0.53)	0.53 (1.41)
Modified milk	52	0.24 (0.52)	0.28 (0.68)	0.08 (0.28)	0.04 (0.32)	0.64 (1.32)	0.40 (1.08)	0.16 (0.28)	0.36 (0.60)
Butter	24	0.36 (0.58)	0.38 (0.65)	0.03 (0.04)	0.02 (0.40)	0.86 (1.22)	0.36 (0.81)	0.42 (1.39)	0.55 (1.60)

() : maximum values on fat basis (ppm)

Table 4. Organo-chlorinated pesticide residues in dairy products (II)
average values on whole milk basis (ppm)

Sample	No.	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	Total BHC	p, p' -DDE	p, p' -DDD	p, p' -DDT
Milk	46	0.024 (0.057)	0.036 (0.132)	0.012 (0.066)	0.004 (0.012)	0.076 (0.092)	0.007 (0.014)	0.009 (0.016)	0.016 (0.043)
Modified milk	52	0.006 (0.013)	0.007 (0.017)	0.002 (0.007)	0.001 (0.008)	0.016 (0.033)	0.010 (0.027)	0.004 (0.007)	0.009 (0.015)
Skimmed milk	20	0.001 (0.001)	0.001 (0.003)	0.001 (0.004)	nd (nd)	0.003 (0.004)	0.001 (0.001)	0.001 (0.002)	0.002 (0.003)

() : maximum values on whole milk basis (ppm) nd : not detected

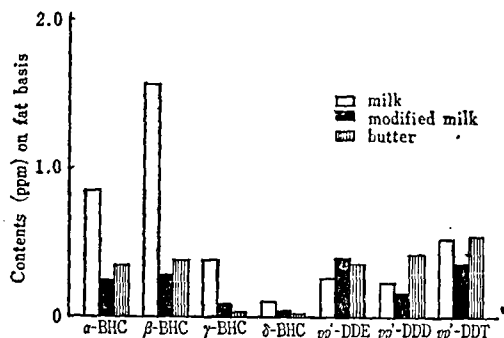


Fig. 2. Comparison of organo-chlorinated pesticide residues in dairy products (I) (average values)

BHC 異性体, 特に γ -BHC の回収率が若干低い, これら 7 種の農薬の平均回収率は 91.5% で, ほぼ良好な結果といえる。

(3) 各種有機塩素系農薬の脱脂粉乳での添加回収実験

Table 2 に示した通り, β -BHC, γ -BHC の回収率が若干低い, 再現性もあり, 7 種の農薬の平均回収率は 87.0% となり, ほぼ満足な結果が得られた。

(4) 市販牛乳, 特殊調製粉乳およびバター中の残留有機塩素農薬

Table 3 は牛乳, 特調およびバター中の残留農薬量を fat basis (ppm) で表わしたものであり, 上段は平均値, 下段の () 内は最高値を示したものである。 o, p' -DDT, デルドリン, アルドリンはほとんど検出できなかった。いずれの検体でも β -BHC が多く,

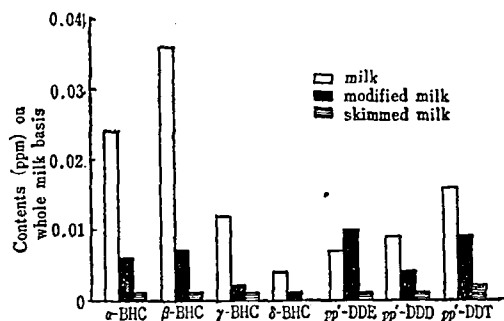


Fig. 3. Comparison of organo-chlorinated pesticide residues in dairy products (II) (average values)

ついで、 α -BHC, p,p' -DDT, p,p' -DDE, p,p' -DDD, γ -BHC, δ -BHC の順になった。つぎに Table 3 の平均値を Fig. 2 に示した。牛乳中の BHC 異性体の残留量は特調およびバターに比し、いずれも約4倍であるのに対して、DDT およびその代謝産物の残留量は3者間に著明な差は認められなかった。

(5) 市販牛乳、特殊調製粉乳および脱脂粉乳中の残留有機塩素系農薬の比較

Table 4 は牛乳、特調および脱脂粉乳中の残留農薬量を実験方法(1)にしたがって調製した溶液の全液中の濃度 (ppm) で表わしたものであり、上段は平均値、下段の () 内は最高値を示したもので、Fig. 3 はその平均値を図に示し、3者の比較を行なった。 α -BHC, β -BHC, p,p' -DDD, p,p' -DDT では、牛乳、特調、脱脂粉乳の順に減少しており、 γ -BHC では特調と脱脂粉乳は同程度、 δ -BHC は脱脂粉乳に全く認められなかった。 p,p' -DDE は、牛乳より特調に多く検出された。

考 察

特調および脱脂粉乳は粉末であるため、そのままの状態では残留農薬の抽出ができなかった。また特調および脱脂粉乳の残留有機塩素系農薬の残留量を牛乳と比較する場合も濃縮粉末と溶液では比較にならないので、たんぱく質量が、3者ともほぼ3%になるように考え、特調および脱脂粉乳は15gをとり、水100gに溶かし、このようにして調製したものについての全液量の ppm で表示し、比較した。標準農薬添加量は市販牛乳の平常含有レベル量を添加した。

また、フロリジルカラムクロマトグラフィーの条件の中で、FDA法²⁾ではフロリジルを乾式法でつめているが、著者らは再度追試を行なったが、乾式法では気泡が入り、特にディルドリンの溶離が悪いため、湿式

法を用いることにした。また FDA法²⁾では溶出液には6%エチルエーテル含有 n -ヘキサンと15%エチルエーテル含有 n -ヘキサンの2種類を用い、前者で BHC および DDT を溶出し、後者ではドリッジ剤を溶出しているが、著者らは多数の検体を処理しなければならないため、後者のみを用い、その代わりに4種のカラムを用いてガスクロマトグラフィーを行ない各農薬の良好な分離定量を行なった。

Table 1 および Table 2 に示した添加回収率は91.5%, 87.0%と低い。標準農薬添加量は、最も多い p,p' -DDT でも0.05 ppm ときわめて低いため、ほぼ満足な結果といわなければならない。

Table 3 および4において、 α - および β -BHC が比較的多いのは、農薬用 BHC には α -BHC が約55~80%, β -BHC が約5~14%, γ -BHC が約8~15%, δ -BHC が約2~10% 含まれているためと考えられる。また、 β -BHC が最も高いのは、 β -異性体の体外排泄が最も遅いためであろうと考えられる。

Table 4 の結果から、牛乳中の総 BHC の平均値は全乳中の濃度で、0.076 ppm であり、特調ではその約1/5、脱脂粉乳ではその1/25になった。牛乳中の BHC および DDT 含量が高いのは飼料によるものと考えられるので、目下農林省研究機関と協力し、さらに詳細な検討を行なっている。著者らの実験結果からみて、残留農薬の面から考えるならば牛乳は脱脂乳として飲用するのが安全だと思われる。

結 論

- 1) 脱脂粉乳中の残留農薬抽出法を考案した。
 - 2) FDA Manual 記載のフロリジルカラムクロマトグラフィーを乾式法から湿式法に改良した。
 - 3) ECD ガスクロマトグラフィーカラムについて検討し、4種のカラムを選び、その条件を定めた。
 - 4) 国内の市販牛乳、特殊調製粉乳、バターおよび脱脂粉乳中の各種有機塩素系農薬の残留量を測定した。
- 終りに、本研究に対して終始ご指導、ご鞭撻をいただいた前所長石館守三先生ならびに現所長川城巖先生に心から感謝いたします。また実験に協力された日本乳業技術協会の方々に感謝いたします。

なお本研究は、昭和44年12月より昭和45年3月までの実験結果である。

文 献

- 1) J. Lloyd Henderson: *Residue Reviews*, 8, 74 (1965)
- 2) *Pesticide Analytical Manual*, 1, p. 212 (1968)

食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第 3 報)

フロリジルの活性度の検討

大槻久美子・関田 寛・武田由比子・伊藤啓志男

武田 明治・田辺 弘也・皆川 興栄*

*Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. III**Activity of Florisil*

Kumiko OTSUKI, Hiroshi SEKITA, Yuiko TAKEDA, Yoshio ITO,

Mitsuharu TAKEDA, Hiroya TANABE and Okie MINAGAWA*

Dieldrin was completely eluted from 5 g of Florisil, with *n*-hexane containing ethyl ether (6%), while, organo-chlorinated pesticides except dieldrin were quantitatively recovered from Florisil column (20 g) with ethyl ether (30%) in *n*-hexane. In this case, 67% of dieldrin was recovered.

The effect of washing of Florisil to organo-chlorinated cyclo-diene pesticides were also examined.

(Received May 31, 1971)

残留農薬の分析は各方面において行なわれているが、各種食品の残留分析が進むにつれ、食品中に残留する農薬の実態が明らかにされてきた。

残留農薬分析に当って、特に注意すべき点の一つに、抽出液のフロリジルカラムによるクリーンアップがある。しかしフロリジルの活性度が各ロットにより大きく異なるため、吸着の割合が変化し、特にフロリジルと親和性の強いドリ系農薬が、フロリジルの活性度によっては全く溶出されないこともあり得る。

近年ドリ系農薬が土壌施用農薬として広く使用されているので、ドリ系農薬の残留分析の必要性が提起された。

従来農薬分析に用いられている *n*-ヘキサンを溶出溶媒とするフロリジルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップでは、ドリ系農薬がほとんど回収されないため、本農薬に対するクリーンアップ法設定が急がれた。

そこで今回ドリ系農薬に対する分析法設定の目的で、フロリジルに対して特に親和性の強いディルドリンを用いて、クリーンアップにおけるフロリジルの活性度および溶出溶媒の極性等の影響を検討し、有機塩素系農薬の残留分析への応用の可能性についてもあわせて検討した。

実験方法

1. 装置および試薬

a) 装 置

ガスクロマトグラフ：柳本製 Yanaco G-800 型、電子捕獲型検出器 (ECD) 付きガスクロマトグラフ

b) 試 薬

溶媒：*n*-ヘキサン (bp 69°) およびエチルエーテル (bp 35°) は市販一級品を全ガラス製蒸留装置で蒸留し、それぞれ 500 ml を 5 ml までクデルナ・ダニッシュ型濃縮器で濃縮し、その 5 μ l をガスクロマトグラフに注入し、妨害ピークのないことを確認して使用した。

フロリジル：フロリディン社製カラムクロマトグラフ用フロリジル (60~80メッシュ)。

ガスクロマトグラフ用充填剤：Chromosorb G (AW-DMCS, 60~80メッシュ)、シリコーン QF-1 およびジエチレングリコールサクシネート (DEGS) は日本クロマト工業より購入。

標準農薬： γ -BHC, *p,p'*-DDT, アルドリン、ディルドリンおよびエンドリンは和光純薬社製標準農薬を使用した。

ディルドリン溶液：ディルドリン 10 μ g/ml *n*-ヘキサン溶液

ドリ系農薬溶液：アルドリン 2.5 μ g, ディルドリン 10 μ g およびエンドリン 30 μ g を *n*-ヘキサン 1 ml 中に含有する。

農薬混合溶液：*n*-ヘキサン 1 ml 中に γ -BHC 1.5 μ g, *p,p'*-DDT 40 μ g, アルドリン 2.5 μ g およびディルドリン 10 μ g を含有する。

* 新潟県衛生研究所

2. 実験操作

a) フロリジル処理法

活性化は市販フロリジルを電気炉中で450°に24時間加熱して行なった。

フロリジルの水添加による不活性化は、活性化されたフロリジルに計算量の蒸留水 (w/w) を加え、よく振りまぜたのち、密栓してときどき振りまぜながら24時間以上室温に放置して行なった。

フロリジルの水洗処理は市販フロリジルを共栓三角フラスコにとり、100 倍量の蒸留水と共に、ときどき振りまぜながら室温に1時間放置、吸引ろ過したのち、電気炉中で450°に24時間加熱して活性化した。

b) フロリジルカラムクロマトグラフィー

b-1. フロリジル 3g を湿式法でクロマト管 (1.0 cm×30 cm) に充填し、さらに無水硫酸ナトリウム 1.5 g を積層する。農薬溶液 5 ml を加え、溶出液で溶出する。各溶出液は 50 ml ずつ分取し、クデルナ・ダニッシュ型縮濃器で 5 ml まで濃縮し、ガスクロマトグラフィー用検液とした。

b-2. フロリジル 20g を湿式法でクロマト管 (2.2 cm×30 cm) に充填し、さらに無水硫酸ナトリウム 8 g を積層する。ドリ系農薬溶液 5 ml を加え、溶出溶媒で溶出する。各分画は 100 ml ずつ分取した。以下 b-1 と同様に処理した。

c) ガスクロマトグラフィー

つぎに示されるガスクロマトグラフィー条件において、ガスクロマトグラフィー用検液 2 μ l を注入した。なお定量はヘプタクロルエポキシドを内部標準物質とする内部標準法で行なった。

カラム：内径 3 mm、長さ 1.5m のガラス製カラム

充填剤：担体 Chromosorb G (AW-DMCS, 60~80メッシュ) に 2% QF-1 あるいは 2% DEGS-0.5 % リン酸をコーティングし、200°~210° で36時間以上エージングして使用した。

温度：注入口、カラム、検出器とも180°

キャリアガス：高純度窒素ガス

実験結果

1. クリーンアップにおけるフロリジル含水量の影響

実験操作、に示される方法で処理した各フロリジルについて、フロリジルカラムからのディルドリンの回収率をフロリジル 5g につき溶出液として *n*-ヘキサンを用いて検討した (Fig. 1, 2, 3)。

これらの図は活性化されたフロリジルに対するディルドリンの溶出率を 50 ml の各分画について示している。Fig. 1 はディルドリンを完全にカラムから溶

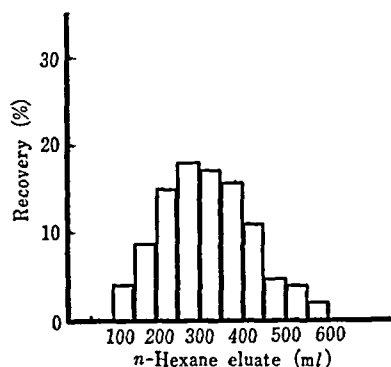


Fig. 1. Elution pattern of dieldrin by Florisil column-chromatography

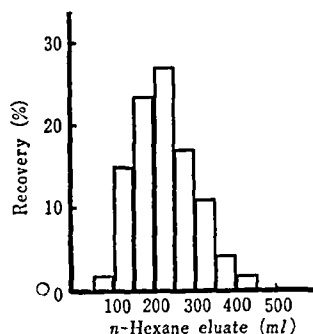


Fig. 2. Elution pattern of dieldrin by column-chromatography using Florisil containing water (5 w/w %)

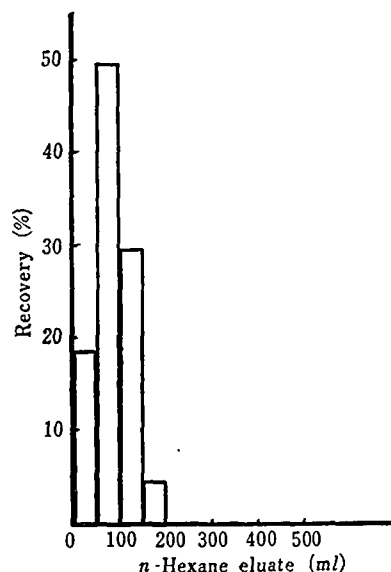


Fig. 3. Elution pattern of dieldrin by column-chromatography using Florisil containing water (10 w/w %)

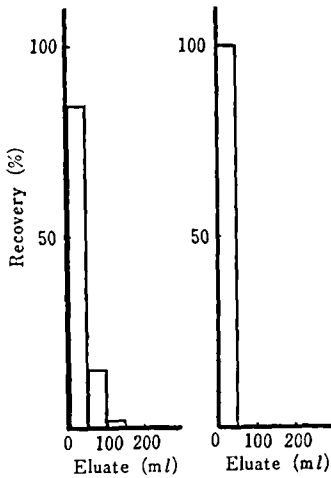


Fig. 4. Elution pattern of dieldrin by Florisil column chromatography using *n*-hexane containing ethyl ether.

Left : *n*-hexane with ethyl ether (6%)

Right : *n*-hexane with ethyl ether (15%)

出させるには、約 600 ml の *n*-ヘキサンが必要であることを示している。しかしながら、5%含水フロリジルカラムにあっては、ディルドリンは第2分画から溶出され始め、450 ml の溶出液で定量的にカラムから回収され (Fig. 2)、また10%含水フロリジルカラムにおいては、*n*-ヘキサン 200 ml で完全にディルドリンが回収されることが明らかとなった (Fig. 3)。

2. クリーンアップにおける溶出溶媒の影響

450°で24時間加熱、活性化されたフロリジルに対する溶出液の影響を、*n*-ヘキサン・エチルエーテル系混合溶媒を用いて検討した。

フロリジル 5 g を用いたカラムにおいては、*n*-ヘキサン、6%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンおよび 15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンを用いて溶出し、各分画中のディルドリンを定量した。

ディルドリンをほとんど完全にカラムから溶出させるのに、*n*-ヘキサンでは約 600 ml が必要であるのに対して、6%および15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンではそれぞれ 150 ml および 50 ml の溶出液で充分であることが明らかにされた (Fig. 4)。

つぎにフロリジル 20 g で調製されたカラムに対して、ドリ系農薬のカラムからの回収率を、種々の割合でエチルエーテルを含有する *n*-ヘキサン溶液を用いて検討した。Fig. 5 は各種濃度のエチルエーテル含有 *n*-ヘキサン溶出液によるアルドリン、エンドリンおよびディルドリンの各 100 ml の分画における回収率を示している。アルドリンは15%エチルエーテル

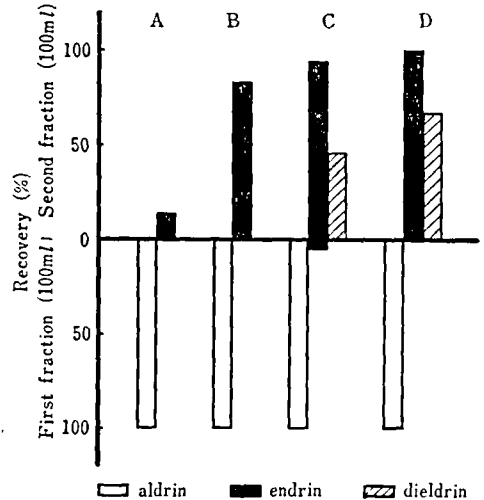


Fig. 5. Recoveries of chlorinated cyclodiene pesticides by Florisil column chromatography

A : 15% Ethyl ether in *n*-hexane

B : 21% //

C : 27% //

D : 30% //

20 g of Florisil was used

含有 *n*-ヘキサン溶液 200 ml で完全にカラムから回収される。またエンドリンは15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン溶液では 15.5% が回収されるに過ぎなかったが、30% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン溶液では97%が回収されることが見出された。しかしディルドリンにおいては30% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでも約 67% がカラムから溶出されるに過ぎなかった。

3. クリーンアップにおけるフロリジル水洗の影響

フロリジルを水洗したのち、450°で24時間加熱活性化したものにつき、*実験操作 b-1. に従って調製したフロリジルカラムを用いて、 γ -BHC, *p,p'*-DDT, アルドリン、エンドリンおよびディルドリンなどのカラムからの回収率を測定した。なお同時に水洗処理しないフロリジルについても、同一条件で操作し対照とした。

Table 1 に示されるように、水洗されたものと水洗しないものとの間には、エンドリンにおいて回収率に若干の差が認められるのみであった。

考 察

450°で24時間活性化されたフロリジル (3g) では、ディルドリンは最初の 100 ml 中には検出されず、つぎの 500 ml 中に約 98% が回収された (Fig. 1)。しかしながら含水フロリジルを用いた場合、Fig. 2 お

Table 1. Recoveries of organo-chlorinated pesticides from washed and unwashed Florisil columns

Treatment	Eluting solvents	Recoveries (%)				
		γ -BHC	Aldrin	Dieldrin	Endrin	<i>p,p'</i> -DDT
Washed	A	97.5	100.0	92.1	82.9	100.0
	B	0	0	0	0	0
Unwashed	A	110.0	98.4	107.0	103.8	100.5
	B	0	0	0	0	0

100 ml of each eluate was collected.

A : *n*-hexane with ethyl ether (6%)

B : *n*-hexane with ethyl ether (15%)

および Fig. 3 から明らかなように、5%含水フロリジルでは溶出液 450 ml 中に、10%含水フロリジルでは溶出液 200 ml 中にほとんど定量的に溶出されることが見出された。

n-ヘキサン、6%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンおよび15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンを溶出溶媒として、活性化フロリジルからのディルドリンの回収を検討した。Fig. 4 および Fig. 5 に示されるように、これらの結果は6%および15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでそれぞれ 150 ml および 50 ml ではほとんど完全に回収されることを示している。

フロリジル 5g のカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップには、6%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでは 150 ml、15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでは 50 ml で充分と考えられたが、食品中にはECD を妨害する種々の夾雑物の存在が推定され、かつ極性の大きい溶出液で溶出するとき、溶出液中への夾雑物の溶出が多くなることも考えられる。そこで本条件下におけるクリーンアップにおいては、6%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンによる溶出が適当であると考えられた。

活性化されたフロリジル (20g) を用いたカラムからのドリ系農薬に対する回収につき、15~30%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンを用いて検討したが、Fig. 5 から明らかなように、本条件下においては、15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンによる溶出では、アルドリンは定量的に回収されるのに反し、エンドリンでは約16%が回収され、ディルドリンでは全く回収されなかった。そこで21%、27%および30%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンを溶出液とした場合のフロリジルカラムからの回収を検討した。

21%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでは、エンドリンは約83%回収されたが、ディルドリンは 200 ml

溶出液中に全く溶出されなかった。30%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンで、エンドリンはほとんど定量的に回収されるのに反し、最もフロリジルと親和性の強いディルドリンは約67%が回収されるに過ぎなかった。

以上の結果からドリ系農薬を対象とした場合には、30%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン 200 ml では、アルドリンとエンドリンについては充分な結果が得られるが、ディルドリンの場合、溶出液量を増すか、より極性の高い溶出液を用いるか、あるいはフロリジルの活性を少し弱める必要があり、本条件下において FDA 法¹⁾ に示される6%および15%エチルエーテル含有 *n*-ヘキサンでの溶出は、ドリ系農薬を対象とする場合不十分であると推定された。

最後に、フロリジルは合成中に硫酸ナトリウムの生成の可能性が指摘されている。従って市販フロリジル中には少量の硫酸ナトリウムの混在が予想され、フロリジルの吸着性の変動がこれに混在する硫酸ナトリウムの影響によることも推測される。そこでフロリジルを水洗して混在する硫酸塩を除去したのち、450° に24時間活性化したものについて種々の農薬のフロリジルカラムからの回収率を検討した (Table 1)。この Table 1 はエンドリンにおいて、水洗しないフロリジルに対してわずかの差が認められたのみで、検討された他の農薬について回収率の差がほとんどないことを示している。この結果からフロリジルの各ロット間に見られる吸着性の変動は、フロリジル中に少量混在すると考えられる硫酸塩量にもとづくものでないと推定された。

文 献

- 1) Pesticide Analytical Manual, Vol. I, §211-15 (1968). U.S. Department of Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration

食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第 4 報)

農作物中の有機塩素系農薬の分析法

大槻久美子・関田 寛・武田由比子

伊藤登志男・武田 明治・田辺 弘也

*Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. IV
Analytical Method of Organo-chlorinated Pesticides Residues in
Agricultural Products*Kumiko OTSUKI, Hiroshi SEKITA, Yuiko TAKEDA, Yoshio ITO,
Mitsuharu TAKEDA and Hiroya TANABE

Several organo-chlorinated pesticides in Chinese cabbages were extracted with three 250 ml of *n*-hexane and the pesticides in each extract were measured by means of gas chromatography with electron capture detector.

It was found that about 98% of the added pesticides were recovered in the initial two extracts.

The effect of the addition of water in the extraction of organo-chlorinated pesticides residues in persimmons was examined and as a result of the addition of water good recovery was obtained.

Recovery test of organo-chlorinated pesticides from 16 agricultural products were also investigated in order to establish the official pesticide analytical method of Ministry of Health and Welfare.

(Received May 31, 1971)

著者らは昭和39年度より主要農産物の残留農薬許容量設定に伴う分析法の確立、ならびに種々の農産物中における農薬残留に関する実態調査を行なってきた。

前報¹⁾において、有機塩素系農薬に対するフロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製の条件につき検討し報告した。従来から行なわれてきたフロリジルカラムのエチルエーテルによる溶出では、ドリン系農薬を対象とする場合、ドリン系農薬は完全に溶出されないことが前報から明らかとなった。

残留農薬規制を受ける農産物が増加し、対象農薬が多種にわたるため、ますます分析法が複雑なものとなりつつある。農産物の種類が増加することは、各農産物中に含有される成分が農産物固有のものも多く、その成分も農産物によって多種多様であるため、個々の農産物に対して、各種農薬に関する分析法を検討し、確立せねばならず、残留農薬の分析を一層複雑かつ困難なものにしている。

現在わが国では厚生省告示にもとづくベンゼン抽出法²⁾と AOAC 法³⁾とがよく知られている。両者はそれぞれの特徴を有し、ともに捨て難いものがある。すなわち、AOAC 法は農薬の抽出率において優れているが、ベンゼン法に比べて抽出操作が繁雑であり、精製のためのフロリジルを多量に必要とし、2種の溶出液を必要とするため、ガスクロマトグラフィーに長時

間を要する。また抽出溶媒と用いるアセトニトリルは他の溶媒と比較して高価である。

わが国のように少ない研究員と研究費で、多量の仕事量をかかえる実情では、AOAC 法はわが国に最適の分析法とはいいい難く、抽出率は多少劣っても、より簡便な分析法の確立が急がれている。

そこで今回残留農薬許容量設定に伴い各種農産物に対して、ドリン系農薬を含む有機塩素系農薬の分析法の開発に当たって得られた若干の新知見について報告する。

実験方法

1. 装置および試薬

装 置

ガスクロマトグラフ：柳本製 Yanaco G-800 型電子捕獲型検出器 (ECD) 付きガスクロマトグラフ

ミキサー：市販営業用ミキサー

遠心沈澱機：クボタ製 K-12A 4 型

振とう抽出器：イワキ製振とう抽出器

試 薬

溶媒：*n*-ヘキサン (bp 69°), エチルエーテル (bp 35°), アセトン (bp 56.5°) およびアセトニトリル (bp 81.6°) は市販一級品を全ガラス製蒸留装置で蒸留し、それぞれ 300 ml を 5 ml まで濃縮し、その 1

～5 μ l をガスクロマトグラフに注入した場合、溶媒以外のピークが出現しないことを確認した上で使用した。

標準農薬： γ -BHC, アルドリン, ディルドリン, エンドリン, ケルセン, *p,p'*-DDT およびヘプタクロルは農薬原体をガスクロマトグラフィーで単一のピークを示すまで再結晶を繰返して使用した。

標準農薬試液 a：アセトン 1 ml 中に γ -BHC, アルドリンおよび *p,p'*-DDT 各 1 μ g を含有する。

標準農薬試液 b：アセトン 1 ml 中に γ -BHC 0.7 μ g, ヘプタクロル 1.2 μ g, ケルセン 1.3 μ g, ディルドリン 0.3 μ g, エンドリン 10.0 μ g および *p,p'*-DDT 10.0 μ g を含有する。

標準農薬試液 c：アセトン 1 ml 中に γ -BHC 0.5 μ g, アルドリン 1.0 μ g, ディルドリン 3.0 μ g, エンドリン 10.0 μ g, ケルセン 10.0 μ g および *p,p'*-DDT 6.0 μ g を含有する。

標準農薬試液 d：アセトン 1 ml 中に標準農薬試液 c に含まれる各種農薬以外に β -BHC 0.5 μ g を含有する。

フロリジル：フロリジン社製カラムクロマトグラフィー用フロリジル（60～80メッシュ）を130°で1夜加熱し、使用前にデシケーター中に1時間放冷したものを使用した。

ガスクロマトグラフ用担体および液相：Gas Chrom Q（60～80メッシュ）、Chromosorb G（AW-DMCS, 60～80メッシュ）、Silicone QF-1 および DEGS を日本クロマト工業（株）より購入した。

その他の試薬：リン酸および無水硫酸ナトリウムは市販特級品を使用した。

2. 実験操作

前処理

各種の農作物は下記の前処理を施し、穀類と緑茶以外のものについては、約1 kgをミキサーで細切均化したのち分析に供した。

a 穀類（米、小麦、大豆等）

粉碎機で全体が60メッシュのふるいを通過するように粉碎し、試料とする。

b イモ類および根菜類（ばれいしょ、かぶ等）付着した泥を落とす程度に軽く水洗する。

c 緑茶

茶6 gに熱湯360 mlを加え、5分間室温に放置したのちろ過し、ろ液を放冷して試料とする。

d その他の野菜および果物

原則として食用に適さない外皮、さや、種子、芯およびへたを除去する。

抽出法

1. 有機塩素農薬に対する抽出回数の検討

白菜のホモジネート150 gに標準農薬試液 a 5 ml を加え、よく混和したのち、ときどき振りまぜながら30分放置後、*n*-ヘキサン 250 ml と共に振とう機で10分間振とうし、さらに遠心分離する。沈澱にさらに2回 *n*-ヘキサン 250 ml を加えて前回同様に操作する。各抽出液は無水硫酸ナトリウムで乾燥後、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 20 ml に濃縮した。

2. 抽出率におよぼす水添加の影響

柿のホモジネート150 gに標準農薬試液 b 5 ml を加え、よく混和したのち、ときどき振りまぜながら30分放置する。1群は *n*-ヘキサン 250 ml と共に振とう機で10分間振とうしたのち、遠心分離する。沈澱に *n*-ヘキサン 250 ml を加えて前回同様に操作し、*n*-ヘキサン層は無水硫酸ナトリウムで乾燥後、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 20 ml まで濃縮した。

他方は蒸留水 100 ml を加え、よく混和したのち1群同様に操作した。

3. 添加回収実験

ホモジナイズされた各試料150 gに標準農薬試液 c あるいは d 5 ml を加え、よく混和したのち、ときどき振りまぜながら30分放置し、以下に示される実験操作を行なった。

a 一般野菜および果実

試料150 gを分液ロートに秤取し、*n*-ヘキサン 250 ml を加える。試料と溶媒がよく混和しない場合は適宜蒸留水を加え、振とう機にて10分間振とう抽出したのち、遠心分離する。沈澱物を分液ロートにもどし、*n*-ヘキサン 250 ml で再度抽出し、遠心分離する。

全抽出液は無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 20 ml に濃縮した。

b 穀類

粉末試料30 gを *n*-ヘキサン 250 ml と共に10分間振とうし、暫時静置して *n*-ヘキサン層を分離したのち分取する。さらに沈澱は *n*-ヘキサン 250 ml で前回同様抽出し、全 *n*-ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 5 ml まで濃縮する。

なお大豆においては、試料20 gを *n*-ヘキサン 250 ml ずつで2回振とう機にて振とう抽出する。全抽出液は無水硫酸ナトリウムで乾燥後、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 10 ml に濃縮し、*n*-ヘキサン 5 ml で洗いながら分液ロートに移した。

n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 ml ずつで3回抽

出し、全アセトニトリル抽出液を 2% 食塩水溶液 700 ml で希釈したのち、*n*-ヘキサン 100 ml と共に激しく振とうする。*n*-ヘキサン層を蒸留水 100 ml ずつで 2 回水洗したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、Kuderna-Danish 型濃縮器で減圧下 5 ml に濃縮した。

c いも類

試料 150 g を *n*-ヘキサン・アセトン (1:1) 混液 250 ml と 10 分間振とうしたのち、遠心分離する。沈澱を *n*-ヘキサン 125 ml で同様に抽出する。両抽出液を合わせ、蒸留水 600 ml で洗ったのち、一般野菜および果実の抽出法に準じて操作する。

4. 緑茶中の有機塩素系農薬の熱湯による抽出

緑茶 30 g を *n*-ヘキサン 250 ml と共に 10 分間振とう機で振とうし、*n*-ヘキサンを分離したのち、*n*-ヘキサン 250 ml で再度抽出する。全 *n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、Kuderna-Danish 型濃縮器で約 5 ml まで濃縮する。

熱湯による抽出効果を見る実験においては、緑茶 6 g を 100° の熱湯 360 ml 中に 5 分間浸漬したのち、ヒダろ紙を用いてろ過し、得られたろ液を *n*-ヘキサン 250 ml で 2 回抽出し、抽出液を緑茶の場合と同様に処理する。

精製法

a 一般野菜、いも類、緑茶および果実

内径 10 mm、長さ 30 cm のガラス製カラムにフロリジル 3 g を *n*-ヘキサンによる湿式法で充填し、さらに無水硫酸ナトリウム 1 g を層積する。

濃縮した抽出液の 5 ml をカラムに加え、6% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン 200 ml で 5 ml/min の流速で溶出する。溶出液を Kuderna-Danish 型濃縮器を用いて正確に 5 ml まで濃縮して、ガスクロマトグラフィー用検液とした。

b 穀類

内径 22 mm、長さ 30 cm のガラス製カラムに 10 cm の高さにフロリジルを、さらに無水硫酸ナトリウムを 1.2 cm に湿式法で詰める。

抽出液の 5 ml をカラムに加え、15% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン 200 ml、ついで 30% エチルエーテル含有 *n*-ヘキサン 200 ml を 5 ml/min の流速で流して溶出し、おのおのを正確に 5 ml に濃縮してガスクロマトグラフィー用検液とした。

定量法

下記のガスクロマトグラフィー操作条件下で、2 種のカラムを用いて測定し、波高法、絶対検量線法で定量した。

カラム：内径 4 mm、長さ 150 cm のガラス製カラム

μ

充填剤：Chromosorb G (AW-DMCS) あるいは Gas Chrom Q に 2% QF-1 あるいは 2% DEGS-0.5 % リン酸をコーティングし、200~210° で 36 時間以上エージングして使用した。

温度：注入口、カラムおよび検出器はいずれも 180°

キャリアガス：高純度窒素ガスを用い、QF-1, DEGS に対してアルドリンの保持時間がそれぞれ約 3 分、約 1 分になるように流速を調節した。

実験結果および考察

農作物に対する残留有機塩素系農薬許容量設定に伴う分析法の開発のために、まず最初に有機塩素系農薬を定量的に回収するため、白菜を用いて有機塩素系農薬を添加し、その回収率と抽出回数との関係を抽出溶媒として *n*-ヘキサンを用いて検討した (Table 1)。

Table 1 に示されるように、 γ -BHC では、1 回目および 2 回目の抽出でそれぞれ 91.7%, 6.6% が回収され、2 回抽出で添加量の 98.3% が回収された。またアルドリンおよび *p,p'*-DDT では 2 回抽出でそれぞれ 98.1%, 97.0% が回収されることが明らかにされた。以上の結果から有機塩素系農薬の抽出回数は 2 回で充分であると考えられた。

著者らは種々の農作物の残留農薬の分析に当って、しばしば添加回収率の非常に良くない場合を体験した。この原因として次の二つの理由が考えられた。第 1 は振とう抽出中に溶媒との混和が不良であるため、抽出溶媒との接触が不十分で回収率が悪い場合で、第 2 はいも類のように澱粉が多く、遠心分離しても抽出溶媒の分離が良くなく、溶媒の回収が充分にできない場合である。前者は検体の水分含量が低いものとか、糖分の含有量が高く粘稠なものとか溶媒との混和がうまくいかない場合によく起こる現象である。このような検体に対して蒸留水を添加することにより、抽出のさいに溶媒との混和状態が改善されることが見出されたので、水の添加が有機塩素系農薬の抽出に及ぼす影響を柿を用いて検討した (Table 2)。

水を添加しない場合、添加回収率は *p,p'*-DDT の 18.5% からヘプタクロルの 40.0% と非常に低かったが、蒸留水 100 ml を添加した場合の回収率は 70.0% (ケルセン) から 88.9% (ヘプタクロル) と約 3 倍改善されることを Table 2 に示した。この実験結果から有機塩素系農薬の分析に当って、検体が抽出溶媒と混和するに充分な蒸留水を添加することが必要であると結論された。

さらに後者の抽出溶媒の回収が不良ないも類の場合

Table 1. Recoveries of organo-chlorinated pesticides from Chinese cabbage in each *n*-hexane extract (%)

Pesticides	Times of extraction	Samples			Averages
		1	2	3	
<i>γ</i> -BHC	1	92.6	94.7	87.8	91.7
	2	8.8	5.5	5.9	6.6
	3	1.3	0.3	0.0	0.5
	Averages	102.7	100.5	93.7	98.3
Aldrin	1	89.0	101.4	85.4	91.9
	2	10.3	0.0	8.4	6.2
	3	0.0	0.0	0.0	0.0
	Averages	99.3	101.4	93.8	98.1
<i>p, p'</i> -DDT	1	85.0	82.6	81.9	83.2
	2	10.4	19.6	11.4	13.8
	3	0.0	2.3	3.1	1.8
	Averages	95.4	104.5	96.4	98.8

Table 2. Effect of the addition of water to the extraction of organo-chlorinated pesticides in persimmons

	Recoveries (%)					
	<i>γ</i> -BHC	<i>p, p'</i> -DDT	Kelthane	Dieldrin	Endrin	Heptachlor
No addition	14.5	8.8	11.0	21.2	20.4	21.7
	34.4	22.0	26.8	30.5	31.2	35.0
	27.8	24.8	28.3	35.3	33.6	40.0
Averages	25.6	18.5	22.0	32.3	31.7	32.2
Addition	87.5	74.4	79.1	80.6	73.6	87.7
	87.0	75.2	77.7	83.0	72.8	86.7
	88.0	74.8	85.3	89.0	84.0	92.3
Averages	87.5	74.5	70.7	80.4	76.8	88.9

には、種々の抽出溶媒を検討した結果、*n*-ヘキサン・アセトン（1：1）混液で抽出すると良好な回収率が得られることが見出されたので、ばれいしょおよびかんしょの場合に本溶媒系を使用することにした。

穀類の場合、粉碎された検体を「抽出法」に示される条件で抽出し、濃縮抽出液を「精製法 a」に準じて精製するとき、ガスクロマトグラム上に多くの夾雑ピークが出現し、分析が不可能であったので、種々のフロリジル量を用いて穀類に適した精製法を検討した結果、「精製法 b」に示される方法により良好な結果が得られたので、穀類の分析は本法により行なった。

なお大豆は脂肪含有率が平均17.5%と高いため、粉

砕した試料を AOAC 法の脂肪性食品に準じて分析した。

このような外部から添加された化合物の回収率が検体中に一成分のようなかたちで存在する物質の真の抽出率を忠実に示しているか否かについては議論の余地があると思うが、現在の段階では分析法の重要なポイントであることには疑いない。そこでは著者らは以上の実験結果を勘案し、残留農薬許容量設置に伴う種々の農作物に対する分析法として開発した方法により添加回収実験を行なった (Table 3)。

Table 3 に示されるように本法による各農作物に対する添加回収率は 70～99 % の間に分布している。し

Table 3. Recoveries of organo-chlorinated pesticides from agricultural products

Samples	Recoveries (%)						
	γ -BHC	β -BHC	p, p' -DDT	Kelthane	Aldrin	Dieldrin	Endrin
Rice	85.2	—	85.7	—	84.1	83.2	74.2
Wheat	77.6	—	—	84.0	—	94.1	76.0
Soybean	86.3	—	93.1	87.6	73.4	—	—
Corn	68.4	—	—	—	82.2	87.4	90.4
Sweet potato	85.4	—	—	87.7	75.8	74.0	—
Turnip	89.3	—	—	—	—	79.9	70.1
Mandarin orange	97.1	—	—	—	—	90.5	85.7
Broad bean	88.1	86.9	77.9	—	71.4	82.0	—
Asparagus	93.7	99.3	83.5	100.8	83.3	88.8	—
Eggplant	—	78.2	69.6	73.8	66.4	73.2	—
Cherry	80.3	79.3	73.7	79.7	72.6	81.0	—
Celery	75.9	72.9	76.4	77.6	82.8	74.9	—
Burdock	77.6	84.5	79.4	80.5	69.1	81.5	—
Lettuce	82.8	—	79.8	—	69.7	—	83.5
Green pepper	83.8	—	81.7	—	79.4	—	78.7
Pumpkin	90.5	—	74.2	—	71.5	—	79.5

Each value is the average of five measurements

Table 4. Organo-chlorinated pesticides in tea leaves and tea

Samples	α -BHC	δ -BHC	p, p' -DDT
1	B	0.022	0.009
	A	0.088	0.016
	A/B	4.0	1.8
2	B	0.016	0.007
	A	0.061	0.012
	A/B	3.8	1.7
3	B	0.047	0.013
	A	0.180	0.045
	A/B	3.8	3.4
4	B	0.032	0.013
	A	0.108	0.025
	A/B	3.4	1.9
5	B	0.018	0.007
	A	0.128	0.027
	A/B	7.1	3.8
Averages of A/B		4.4	2.5

Trace amount of p, p' -DDE was detected in tea leaves but not in tea

A: tea leaves B: tea

かしながら同一農薬あるいは同一農作物の個々について検討すると、かなりのばらつきのあることがわかる。これらの結果は、単に農作物中の残留有機塩素系農薬の分析という漠然としたものでなく、有機塩素系農薬の分析法の開発に当っては、個々の農作物に対する個々の農薬に対する分析法の検討が非常に重要なことを示唆している。

厚生省告示に示される残留農薬の分析法のうちで、緑茶の分析法は他のものとは非常に異なっている。すなわち、緑茶はその浸液を飲用に供するという理由から、その浸液について農薬の分析を行なうように規定されている。そこで茶中へ緑茶葉に存在する農薬の何割が浸出されるかを知る目的と、茶に対する分析法を確立する目的で本実験を行なった。

Table 4 に示されるように、各検体から p, p' -DDT が高濃度に検出されたほか、 α -BHC と δ -BHC が検出されたが、 p, p' -DDE が緑茶葉のみから微量検出された。本条件下における緑茶葉と茶との濃度比は α -BHC、 δ -BHC および p, p' -DDT でそれぞれ平均 4.4、2.5 および 52.2 であって、茶中へ浸出される有機塩素系農薬は緑茶葉に含まれる一部が抽出されるに過ぎないことがわかった。

終りに臨み、本研究に御協力くださった各県衛生研究所の研修生の諸氏に感謝いたします。

文 献

1) 大槻ら：衛生試報 89, 34 (1971)

2) 厚生省告示第 223 号 (昭和45年 6 月26日)

3) Change in Official Methods of Analysis: J. Assoc. Offic. Anal. Chemist, 51, 470 (1968)

食品中の残留農薬の分析に関する研究（第5報）
果実、野菜類の農薬残留量に対する剥皮および洗浄の効果武田 明治・大槻久美子・関田 寛
田辺 弘也・高橋 典子*・土谷 輝代**Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. V*
Effects of Paring and Washing on the Removal of Pesticide Residues
*from Fruits and Vegetables*Mitsuharu TAKEDA, Kumiko OTSUKI, Hiroshi SEKITA, Hiroya TANABE,
Noriko TAKAHASHI* and Teruyo TSUCHIYA*

Effects of the cooking processes, especially paring and washing, on the removal of pesticide residues from some fruits and vegetables were examined.

The results were that the considerable amounts of pesticide residues in agricultural products such as apples, persimmons, pears, potatoes, sweet potatoes and radishes were removed by paring, but by washing little effect was found in the elimination of pesticide residues in spinach, cabbages and Chinese cabbages.

(Received May 31, 1971)

戦後農業技術の著しい進歩とあいまって、新農薬の開発はめざましく、相次いで強力な合成農薬が登場し、その優れた病害虫の防除効果によって農産物の増産に多大の貢献をしてきた。しかし農産物の増産に寄与したこれら農薬も、使用された農薬が農産物中に残留することが明らかにされるにつれて、国民の保健衛生上重大な問題となってきた。

厚生省においては昭和43年以来種々の食品中の残留農薬許容量を設定してきているが¹⁾、これらは市場に流通している食品についてである。しかし、実際食用に供される食品の大部分はそれ以前に調理されたものであって、調理の段階で食品中に残留する農薬の一部が除去されることが予想される。したがって生鮮食品中に残留する種々の農薬が調理中にどの程度除去されるかについて検討することは食品衛生上きわめて重要な問題であると考えられるが、これらに関する報告はきわめて少ない²⁻⁴⁾。

今回、りんご、柿、日本梨などの果実類およびばれいしょ、かんしょ、大根などの根菜類において皮を除去することの効果ならびに白菜、キャベツ、ほうれん草などの葉菜類において、洗浄することの効果について検討し、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 装置、試料および試薬

装 置

ガスクロマトグラフ：柳本製Yanaco G-800型およびVarian製Aerograph series 1700型、検出器 電子捕獲型検出器 (ECD)

ミキサー：市販営業用ミキサー

遠心沈殿機：クボタ製 K-12 A 4 型

振とう抽出機：イワキ製振とう抽出機

試 料

りんご、柿、日本梨、ばれいしょ、かんしょ、大根、白菜、キャベツおよびほうれん草は一般市販品を購入した。

* 共立薬科大学

試 薬

溶媒： n -ヘキサン (bp 69°) およびエチルエーテル (bp 35°) は市販一級品を全ガラス製蒸留装置で蒸留し、それぞれ 300 ml を 5 ml まで Kuderna-Danish 型濃縮器で濃縮し、その 1~5 μ l をガスクロマトグラフに注入した場合、溶媒以外のピークが出現しないことを確認して使用した。

標準農薬： γ -BHC, アルドリン, ディルドリン, エンドリン, ケルセンおよび p,p' -DDT は農薬原体を、ガスクロマトグラフィーで単一のピークを示すまで再結晶を繰返して使用した。

合成ケイ酸マグネシウム：フロリジ社製カラムクロマトグラフィー用フロリジル (60~80メッシュ)。

ガスクロマトグラフ用充填剤：Chromosorb G (AW-DMCS, 60~80メッシュ), Gas Chrom Q (60~80メッシュ), Silicone QF-1, DEGS および Silicone XE-60 を日本クロマト工業社より購入した。

その他の試薬：リン酸, 無水硫酸ナトリウムは市販特級品を使用した。

2. 実験操作

検体処理法

皮部の除去効果を検討するためのものについては、一般家庭で調理されている方法に従って庖丁を用いて可食部の汚染に注意しながら皮をむき、皮部と可食部とに分けた。

洗浄効果を検討するためのものについては、各試料を四分法により 2 群に分け、一方は 0.5% 中性洗剤水溶液中で 5 分間、時々ゆり動かしながら浸漬したのち、流水中で充分に水洗し、検体とした。他方は何ら処理することなく分析に供した。

抽出および精製

各検体をミキサー中で充分にホモジナイズしたのち、それらの 150 g を厚生省告示²⁾の残留農薬試験法にしたがって、 n -ヘキサンで抽出し、フロリジルカラムクロマトグラフで精製し、ガスクロマトグラフィー用検液を調製した。

定 量 法

つぎに示されるガスクロマトグラフィー操作条件下において、ガスクロマトグラフィー用検液 2 μ l をカラムに注入して行ない、分析値は少なくとも 2 種類のカラムを併用して測定して求めた。なお定量は波高法による絶対検量線法によった。

カラム：内径 3 mm, 長さ 1.5m のガラス製カラム
充填剤：担体 Chromosorb G (AW-DMCS) あるいは Gas Chrom Q に 2% QF-1, 2% DEGS-0.5% H_3PO_4 および 2% XE-60 をそれぞれコーティング

し、200~210°で36時間以上エージングして使用した。

温度：Yanaco G-800 では注入口、カラムおよび検出器はいずれも 180°, Varian Aerograph 1700型では注入口215°, カラム200°, 検出器210°。

キャリアガス：高純度窒素ガスを用い、QF-1, DEGS- H_3PO_4 および XE-60 に対して、アルドリンの保持時間がそれぞれ約3分, 約1分, 約1分になるように流速を調節した。

実験結果および考察

1. 残留農薬に対する剥皮効果

りんご, 柿, 日本梨, ばれいしょ, かんしょおよび大根などの果実ならびに根菜類に対して一般家庭で通常行なわれている条件で庖丁を用いて皮をむき、皮部および実質部について、実験操作法に示された方法に従って各部位における有機塩素系農薬の分布を測定した結果を Table 1 に示した。

Table 1 で明らかなように、 γ -BHC, p,p' -DDT およびエンドリンがいずれの検体中にも見出されたが、ケルセンがりんごおよび日本梨に、アルドリンが柿に、ディルドリンがばれいしょ, かんしょおよび大根などの根菜類に微量ながら検出された。

皮部と実質部の有機塩素系農薬の含有量を比較した場合、検出されたすべての農薬について、各部位の含有量に明らかに有意の差が認められた。

堺ら³⁾ はりんごにおけるヒ素, 鉛および銅などの重金属の残留分布を検討し、果皮部は果肉部と比較してヒ素 180 倍, 鉛64倍および銅15倍も残留量が多く、これは洗浄してもほとんどその効果を認め得なかったと報告しており、さらに金沢⁴⁾ はりんご果実中の残留 DDT の分布に関して、 p,p' -DDT, o,p' -DDT および全 DDT の残留量が果肉部より果皮部に100~500倍も多いことを見出し、残留 DDT に対する洗浄効果もほとんど認められなかったと報告している。

今回の著者らの実験で、市販りんごの場合、皮部と実質部の有機塩素系農薬残留量を比較すると、皮部の濃度は γ -BHC では25倍, エンドリンでは34倍, ケルセンでは175倍および p,p' -DDT では 196 倍も高いことが見出された。これらの傾向は他の果実や根菜類にも同様に認められ、堺らおよび金沢の報告とよく一致した傾向を示している。

さらに Lichtenstein ら⁵⁾ はアルドリンおよびヘプタクロールを散布した土壌中に栽培されたニンジンを中心部から外層まで7層に分けて、各層における農薬分布を検討しているが、その結果はいずれの場合も外部に近い部分ほど農薬残留量の多いこと、特に外部から

Table 1. Distribution of pesticide residues in rinds and substances of fruits and vegetables

Samples		Pesticide Residues (ppm)					
		γ -BHC	Aldrin	Dieldrin	Endrin	Kelthane	<i>p,p'</i> -DDT
Apples	A	0.001	—	—	0.004	0.005	0.004
	B	0.025	—	—	0.137	0.874	0.783
	B/A	25	—	—	34	175	196
Persimmons	A	0.001	0.001	—	0.001	—	0.002
	B	0.002	0.002	—	0.016	—	0.013
	B/A	2	2	—	16	—	7
Pears	A	0.001	—	—	0.001	0.005	0.005
	B	0.003	—	—	0.015	0.041	0.059
	B/A	3	—	—	15	8	12
Potatoes	A	0.001	—	0.001	0.003	—	0.003
	B	0.077	—	0.029	0.169	—	0.135
	B/A	77	—	29	56	—	45
Radishes	A	0.001	—	0.007	0.001	—	0.003
	B	0.007	—	0.031	0.002	0.002	0.007
	B/A	7	—	4	2	—	2
Sweet potatoes	A	0.001	—	0.002	0.002	—	0.008
	B	0.036	—	0.005	0.006	—	0.024
	B/A	36	—	3	3	—	3

A : substances

B : rinds

— : not detected

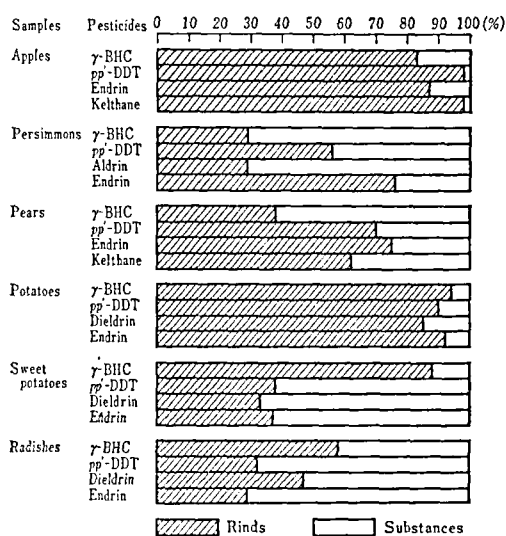


Fig. 1. Distribution of pesticide residues in rinds and substances of fruits and vegetables

8 mm以内の部分に全残留量の96~99%が分布すると報告している。

本実験条件下において処理された果実および根菜類の場合の皮部と実質部との重量比は平均すると1:5であった。本実験結果を基にして各部位における有機塩素系農薬の分布率を Fig. 1 に示した。

Fig. 1 より、りんごの場合、 γ -BHC、エンドリン、ケルセンおよび p,p' -DDTが皮部にそれぞれ83%、87%、98%および98%分布しており、他の果実や根菜類においても、残留した有機塩素系農薬の大部分が皮部に分布していることを示している。この結果は前述の Lichtenstein らのエンジンの外皮に近い部分ほど農薬残留量が高いというデータとよく一致している。

種々の食品中に農薬の残留していることは広く認められており、本実験の結果から果実および根菜類の皮を除くことはこれらの食品中から残留農薬を除き、体内に摂取される農薬量を減少させる有効な手段であると考えられる。

Table 2. Effects of washing with solution to pesticide residues in vegetables

Samples		Residues (ppm)				
		γ -BHC	Aldrin	<i>p, p'</i> -DDT	Endrin	Dieldrin
Chinese cabbage	unwashed	0.001	nd	0.001	0.008	nd
	washed	0.001	0.001	0.006	0.008	nd
Cabbage	unwashed	0.006	nd	0.002	0.001	0.001
	washed	0.007	nd	0.002	0.001	0.002
Spinach	unwashed	0.002	0.002	0.003	nd	nd
	washed	0.002	0.002	0.003	nd	nd

nd: not detected

2. 残留農薬に対する洗浄効果

白菜、キャベツおよびほうれん草などの葉菜類について、実験操作に示された条件で処理し、有機塩素系農薬に対する洗浄効果を検討した結果は Table 2 に示した。

これら葉菜類において、 γ -BHC と *p, p'*-DDT は全ての試料中から検出された。

洗浄処理されたものと未処理のものとの間には、残留農薬量に有意の差は認められず、白菜の *p, p'*-DDT が未処理の 0.011 ppm が処理後 0.006 ppm に減少しているのが目立つ程度であった。洗浄効果が顕著に認められなかった理由としては、市場価値を高めるため、市場に出荷前に農家で傷んだ外葉の部分を除き、さらに簡単に水洗いすることも考えられる。

また、これら葉菜類は表面積が非常に大きく、かつ表面にはロウ質に富んだ層があるため、付着した塩素系農薬の表面からの吸収あるいは浸透移行に適した条件にあることが推定される。したがって農薬が洗浄という物理的処理によって除去され得る状態で葉の表面に存在しないと考えられる。

結 論

1. りんご、柿、日本梨、ばれいしょ、かんしょおよび大根などの果実ならびに根菜類について残留農薬に対する皮を除去することの効果を検討した。

これら果実ならびに根菜類に関しては、皮を除去することは体内に摂取される農薬量を減少させる有効な手段であると考えられる。

2. 白菜、キャベツおよびほうれん草などの葉菜類について、残留農薬に対する家庭用中性洗剤による洗浄効果を検討したが、顕著な効果は認められなかった。

文 献

- 1) 厚生省告示第109号 (昭和43年3月20日), 同第410号 (昭和44年12月26日), 同第395号 (昭和45年11月20日)
- 2) 堺敬一ら: 第8回農民の健康会議
- 3) 金沢純: 農業技術研究所報告, 25, 109 (1971)
- 4) E.P. Lichtenstein et al.: *J. Agr. Food Chem.*, 13, 129 (1965)
- 5) 厚生省告示第223号 (昭和45年6月26日)

赤痢菌感染サルから採取した膿粘血便のサル腸管内投与に関する研究

林 長 男・岩 原 繁 雄

Studies on the Introduction into the Intestinal Lumen of Monkeys with the Hemorrhagic-Mucopurulent Feces Collected from the Shigella Infected Monkeys

Nagao HAYASHI and Shigeo IWAHARA

Clinical, pathological and histopathological examinations were carried out with four monkeys introduced the hemorrhagic-mucopurulent feces (H.M.F.) collected from the *Shigella* infected monkeys into the intestinal lumen.

The specimens were divided into feces (dysentery bacilli+H.M.F.) and chloramphenicol-treated feces (CM+H.M.F.) and introduced to the intestinal lumen of four monkeys.

Clinically, 3 among 4 monkeys showed conspicuous degree of the brain symptoms consistently 3~4 hours after the introduction.

Pathologically, in 2 above 3 monkeys which were introduced with the feces (dysentery bacilli+H.M.F.), the erosion of mucous membrane over the whole stomach were observed. One of 2 monkeys showed the pool of coffee-like-ground in the stomach.

Histopathologically, various degenerative changes were observed in the brain, liver, kidney, spleen and gastrointestinal tract.

(Received May 31, 1971)

緒 論

著者は現在まで、サルに対し赤痢生菌あるいは破壊菌の胃腸管内投与を試み、これらの実験結果について報告¹⁻⁵⁾を行ってきた。

今回はサルが排泄した膿粘血便をサルの腸管内に直接注入し、臨床的見地からみた膿粘血便の生体に及ぼす影響、病理組織学的見地からみた生体各臓器の反応、さらにこれらの所見と赤痢生菌との関連性について検討を行ってみた。

実験材料ならびに方法

試料の膿粘血便は既報⁴⁾の前処置として2~3日絶食後、*Shigella flexneri* 2a (菊島株) 生菌1千億以上の胃内経口投与を行なったサル、M20, M21, M24の各排泄物を用いた。

サルは横浜市立野毛山動物園より分与を賜った体重1.8~8.5kgのアカゲザル1匹、カニクイザル2匹、タイワンザル1匹、計4匹を用いた。

投与は1) 膿粘血便 (赤痢生菌+膿粘血便) ならびに2) 膿粘血便を Chloramphenicol (CM) 処置 (CM+膿粘血便) したものとに分けて行なった。

1) 赤痢生菌+膿粘血便：膿粘血便 3.4 ml (1 ml/kg) をガラス毛细管により注入する方法と膿粘血便 1 ml (0.3 ml/kg) を生理食塩水 9 ml に溶解し、No.

18 注射針 (直径 1.2~1.29 mm) により注入する方法との2種。

2) CM+膿粘血便：膿粘血便 6 ml (0.7 ml/kg) に CM 1 g と生理食塩水 1 ml を加え、ガラス毛细管により注入する方法と膿粘血便 1.8 ml (1 ml/kg) に CM 90mg と生理食塩水 1.8 ml を加え、1500回転、15分、ホモジナイズして No. 19 注射針 (直径 1.02~1.10 mm) により注入する方法の計4種に分け、いずれも麻酔開腹後、空腸内に直接、できるだけ速やかに試料の注入を行なった。

注入後は直ちに檻に戻し、昼夜の別なく詳細な観察を続け、1例は仔ザルのため、斃死直前にと殺、その他は斃死をまって直ちに解剖し、その剖検所見をとるとともに、病理組織標本作製のため、各臓器を10%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋、ヘマトキシリン、エオジン染色を行なった。

開腹時における麻酔はチオペンタールナトリウム (ラボナール、田辺製薬) 0.025 g/kg の静脈内注射を、そして手術中覚醒が認められる場合は、適宜追加麻酔を施し、手術後3時間以内には回復するように心がけた。

飼料は1匹に対し、サルの大きさ、食思に応じて適宜増減を計りながら、1日平均サンミール (犬の固形飼料) 100 g と牛乳 50 ml を給与した。

Table 1. Description on monkeys used and hemorrhagic-mucopurulent feces introduced

Animal No.	Species	Sex distinction	Body weight	Number of <i>Shigella flexneri</i> 2a introduced	Place injected	Specimen introduced and amounts injected
M. 22	<i>Macacus rhesus</i>	♀	3.4 kg	38×10^7	Jejunum	3.4 ml H.M.F.* ¹ (M 21)* ²
M. 23	<i>M. irus</i>	♂	3.5 kg	13×10^8	Jejunum	1 ml H.M.F. (M24)* ² +9 ml normal saline
M. 26	<i>M. cyclopis</i>	♂	8.5 kg		Jejunum	6 ml H.M.F. (M 24)+1 g CM +1 ml normal saline
M. 27	<i>M. irus</i>	♀	1.8 kg		Jejunum	1.8 ml H.M.F. (M 20)* ² +90 mg CM+1.8 ml normal saline

*¹ H.M.F.: Hemorrhagic-mucopurulent feces*² M 20, M 21, M 24.: *Shigella* infected monkeys discharged H.M.F.

実験成績

サルの種類、性別、体重、投与時腸粘血便に含まれている赤痢生菌数、注入箇所、投与材料ならびに注入量を Table 1 に示す。

つぎに、腸粘血便の空腸内注入を行なったサル4匹の臨床、剖検、病理組織学的各所見について記載する。

臨床所見

M22: 投与第2日、早朝よりあおむけの姿勢をとり、脱力、倦怠感、嗜眠、意識障害が顕著でときおり欠伸する。食思、飲思は認められず、ヒトが檻に近づくと臆縮とした生気のない眼差を向け、手足を緩慢に動かし、檻につかまって起きあがろうとするが、それもならず、また嗜眠状態に陥いるという動作をくり返していた。午後からは横臥姿勢となりほとんど動かず、ヒトが近づくと手足を緩慢にわずかに動かし、睨もわずかに開くが、また閉じるという状態を続け、一般症状は次第に悪化、夜に至ってからは昏睡状態に陥り、ヒトが近づいても全く反応を示さず、胸の呼吸運動から生気を伺う程までになった。第3日、早朝コーヒー様残渣約 20 ml を嘔吐して斃死した。

M23: コーヒー様残渣の嘔吐を除いて、その他の一般症状はM22と全く同じ所見を示した。

M26: 投与第2日は前例と同じ所見を示していたが、第3日、オロシ大根様の消化不良便を大量に排泄し、脱力、倦怠感、嗜眠、意識障害などの一般症状に好転のきざしがみられた。第4日、食思、飲思もともに活発となり、固形便を排泄し、回復したかのごとくにみえたが、第6日、急に食思欠乏、沈うつとなり、全身症状悪化、夜に至って斃死した。

M27: 投与第2日、第3日、ヒトが近づくと、比較

的活発に檻の中を動き廻っているが、排便は認められず、食思不振、渴を訴えていた。第4日、夕方より運動不活発、戦りつ、衰弱が顕著となり、第5日、初めてわずかに軟便を排泄したが食思、飲思は欠乏し、沈うつ、ときおり檻の一隅に盤居、歩様蹣跚、全身症状とみに悪化、直ちにと殺、解剖を行なった。

剖検所見

M22: 胃の粘膜は蒼白となり、腐爛性変化が強く、内容物には多量のコーヒー様残渣を認める。小腸の粘膜面は潤濁し、乾燥状にみえる。内容物はゼリー様の粘液物で満たされ、十二指腸ではコーヒー様の粘液物が認められる。盲腸、結腸は固形便で満たされ、肉眼的変状は認められない。直腸はガスで膨満し、内容物にはわずかの粘液物が認められ、腫大した汙胞の点在が明瞭である。腎は右側のみで左側は認められない。その他の臓器には肉眼的な変状が認められない。

M23: 胃の粘膜は蒼白となり腐爛性変化が強く、小腸上部にはカタル性変化を認める。小腸下部はゼリー様の粘液物で満たされ、粘膜面は潤濁し、乾燥状にみえる。大腸ならびにその他の臓器には肉眼的な変化は認められない。腸管には全体にわたって軽度の癒着が認められる。

M26: 小腸、大腸の粘膜面に潤濁が認められ、小腸の注入箇所に小指頭大の穴があり、腸内容物の腹腔内流出が認められる。

M27: 胃、小腸には黄色状の粘液物がわずかに存在し、小腸の注入箇所に注射時の痕跡を、またその周囲の腸管には軽度の癒着を認める。大腸の内容物は軟便で満たされ、特に結腸、直腸はソーセージ様に太く膨大している。肝のうっ血ならびに腸間膜リンパ節の腫大を認めるのみで、その他の臓器における肉眼的変状は観察されない。

病理組織学的所見

脳：白質には一部空胞状に抜けた浮腫性の像がみられ、その中には周囲の組織から遊離した毛細血管が残っているものもある。またその空胞周囲にはグリア線維の明瞭化あるいは増生が顕著である。グリア細胞は一般に浮腫変化を示し全体にわたって組織膨化がみられる。このような脳実質の破壊像はいずれのサルにも強く現われ、大脳から橋、延髄の白質にかけて数多く、白質に近い灰白質の部分にも好んで認められる例（M22, M23）もある。皮質における神経細胞には、原形質が狭小となり、chromatin が萎縮濃染している細胞、核の融解、萎縮濃染が著明な錐体細胞、仮性神経喚現象などのさまざまな変性像が認められる。

肝：いずれのサルも肝細胞の空胞形成、漿液性肝炎の像を示し、なかには肝細胞の腫脹（M22）、解離、腫大、空胞化（M26）が特に強く認められるものもある。

腎：尿管上皮細胞の空胞形成（M22）、細尿管上皮の硝子滴様変性像（M23）、腫脹（M26）が認められる。

脾：いずれのサルにも中心動脈の硝子様変性像が強く、それぞれに萎縮した汚胞（M23, M26）、あるいは腫大して細網細胞に硝子化の傾向が伺われる変化（M22）を認める。

心：心外膜下の心筋膨化変性像（M22）が認められる。

胃・腸管：いずれのサルも胃においては腺細胞の変性、脱落、粘膜層、粘膜下層の血管拡張充盈および円形細胞の浸潤を認め、M22, M23では特に強く、また腸においては腺細胞の萎縮、壊死、粘膜上皮の剝離、腸絨毛上皮の変性、乳糜腔の拡張、粘膜層の血管拡張充盈、出血、粘膜面の一部欠損、粘膜下層の強い炎性水腫および円形細胞浸潤などのさまざまな変性像を示している。

考 察

ヒトの赤痢症は全身倦怠、食思欠乏、発熱、悪感、膿粘血便の排泄、tenesmus、大腸の変状などが主で、疫痢においては突発的な高熱、痙攣、意識昏迷などの脳障害、チアノーゼ、四肢の厥冷などの循環障害を主体とし、両者は臨床的には全く異なった症状を示している。

また赤痢、疫痢を病理解剖学的な見地からみると、赤痢の腸病変は成人の場合、消化管下部に局限される傾向にあり、小児の場合は、胃、小腸にまで病変が及ぶといわれている。清野⁶⁾らも同様な知見を人体材料

で確認し、動物実験からもこれを実証している。

疫痢については大腸より小腸に強い変化が認められるもの⁷⁾、大腸に病変が強く現われているもの⁸⁻¹⁰⁾、消化管にはほとんど病変が認められないもの¹¹⁾、また赤痢、疫痢の腸病変は組織的にも区別が困難で、両者は全く同一のもの¹²⁾、反対に疫痢の腸病変には赤痢のごとき潰瘍形成は認められない¹¹⁾など、さまざまな所見の報告がなされている。

また疫痢の本態に関する研究では疫痢便の分析を行ない、疫痢腸内容物と疫痢発症機転との関係についての報告¹³⁻¹⁵⁾もなされている。

各種動物における赤痢菌感染実験では成人赤痢と同様、大腸に病変が局限される傾向にあるといわれている¹⁶⁻²⁰⁾。著者ら¹⁻⁵⁾のサルを用いた実験では大腸に病変が強く現われるもの、さらに胃、小腸にまで及んでいる例も観察している。

膿粘血便の空腸内注入を行なったサルは4匹中3匹に注入数時間後から脱力、倦怠感、嗜眠、意識昏迷などの終始一貫した強い脳症状が認められ、なかでも赤痢菌1億前後＋膿粘血便のものは腸管の炎性変化のみでなく、胃粘膜は蒼白となり、強い糜爛性変化を示し、そのうち1匹は多量のコーヒー様残渣を胃内に留めていた。これらの所見は赤痢菌感染サルあるいはヒトの赤痢とは全く異なった病的所見を示し、既報⁹⁾の生菌1億前後を投与しても何等の症状を示さなかったM8, M9と比較してみると膿粘血便の成分が生体にかなりの障害を与えていると思われる。さらに病理組織学的所見においては、大脳白質の一部空胞化、皮質神経細胞の変性、肝の脂肪変性、肝細胞の腫大、空胞化が主な病変であった。

これらのことから膿粘血便注入サルの臨床、剖検、病理の各所見を総括してみると、いずれもサルにおける実験的赤痢症、あるいはヒトにみられる赤痢症とは全く異なり、サルの疫痢様症状とも考察される。

結 論

赤痢菌感染サルから採取した膿粘血便（赤痢生菌＋膿粘血便）とCM処置したもの（CM＋膿粘血便）とに分け、4匹のサルの空腸内に直接注入し、臨床ならびに病理所見について検討を行なった。

(1) 膿粘血便注入サル4匹のうち3匹は注入数時間後から終始一貫した強い脳症状を示した。

(2) 赤痢生菌＋膿粘血便の注入サルはCM処置したものに比較して各臓器の病変が強く、剖検所見では胃粘膜の著しい糜爛、胃内のコーヒー様残渣貯留など、また病理組織学的所見では、脳、肝、腎、脾、胃

腸管の各臓器にさまざまな変性像が認められた。

稿を終るに臨み、終始御指導を賜った三共株式会社中央研究所、小此木丘博士に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 林長男, 岩原繁雄: 日本細菌学雑誌, **17**, 282 (1962)
- 2) 林長男, 岩原繁雄: 日本細菌学雑誌, **19**, 16 (1964)
- 3) 林長男, 岩原繁雄: 日本細菌学雑誌, **19**, 117 (1964)
- 4) 林長男, 岩原繁雄: 日本細菌学雑誌, **19**, 131 (1964)
- 5) 林長男, 岩原繁雄: 日本細菌学雑誌, **20**, 27 (1965)
- 6) 清野謙次, 大久保直穆: 日病会誌, **7**, 497 (1918)
- 7) 小田常治: 日病会誌, **32**, 465 (1942)
- 8) 西野卓: 日新医学, **29**, 99 (1940)
- 9) 坂井田日出男, 吉田順一: 京都府立医大雑誌, **52**, 568 (1953)
- 10) 安在貞吉: 札幌医学雑誌, **3**, 261 (1952)
- 11) 諏訪紀夫: 日本臨床, **6**, 523, 573 (1948)
- 12) 石井秀夫: 日病会誌, **32**, 469 (1942)
- 13) 泉仙助: 小児科診療, **22**, 749 (1959)
- 14) 伊沢為吉, 上原純子, 今井千尋: 日伝染会誌, **26**, 46 (1952)
- 15) 小笠原一夫, 阿多実茂, 米田正彦, 浅野信夫, 高取常二郎, 田内久: 日新医学, **40**, 200 (1953)
- 16) 遠城寺宗徳: 小児科雑誌, **363**, 69 (1930)
- 17) S.B. Formal et al.: *J. Bact.*, **75**, 604 (1958)
- 18) S.B. Formal et al.: *J. Bact.*, **78**, 800 (1959)
- 19) 岩田和夫, 本江博子: 日本細菌学雑誌, **17**, 434 (1962)
- 20) H. Ogawa et al.: *Jap. J.M. Sc. & Biol.*, **17**, 321 (1964)

塩酸ピペサネートの薬理学的研究 (第 1 報) 中枢に及ぼす影響について

川島邦夫・田中 悟・中浦慎介・長尾重之
桑村 司・大森義仁・Ginette SARRAZIN*

Studies on Pharmacological Effect of Pipethanate. I *Effect of Pipethanate on Central Nervous System*

Kunio KAWASHIMA, Satoru TANAKA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO,
Tsukasa KUWAMURA, Yoshihito OMORI and Ginette SARRAZIN

The effect of pipethanate hydrochloride (pipethanate) which is an antiphobic on central nervous system was studied.

1) The body temperature of rabbit decreased temporarily following shock phase after intravenous injection of 10 mg/kg of pipethanate, whereas with lower dose (3 mg/kg) no effect on the body temperature was observed.

2) No effect on mice behaviour was observed with 20 mg/kg of pipethanate given intraperitoneally. However, prolongation of pentobarbital anaesthesia and the latent time of strychnine induced convulsion, and inhibition of Straub-Herrmann reaction with morphine were demonstrated by pretreatment of pipethanate, and suggested the depressive effect of pipethanate on central nervous system.

(Received May 31, 1971)

* Faculté de Pharmacie Université de Paris

緒 言

Pipethanate hydrochloride (2-1 piperidinoethyl-benzilate hydrochloride) は、局所麻酔作用と抗コリン、抗バリウム作用を有すると報告されている¹⁻³⁾。

さらに近年、これらの末梢作用を現わさない程度の微量でも中枢に作用し、従来のトランキライザー等他の精神安定薬と異なり、中枢の著明な抑制作用および催眠作用を示すことなく、不安、緊張、恐怖感を緩解除去するとされ、抗恐怖薬として不安、ストレスを基調とする精神神経的および精神身体的疾患に用いられるようになり^{4,5)}、1961年 NND⁶⁾ に記載された薬物であるが、なお十分に吟味されていない。そこで今回、その薬理作用について検討を加え、本報告では主として中枢に対する作用について述べる。

実験方法

ウサギ体温に及ぼす影響に関する実験

体重2.10～2.75kgの白色雄性ウサギを用い、体温はウサギを首輪式固定器に固定したのち⁷⁾、電子管式自動平衡自記温度記録計を用いて連続的に直腸温を測定記録した。

Pipethanate は3mg および10mg/kg を、対照薬物には reserpine を用い、その0.2mg/kg をそれぞれ耳静脈内に投与した。

マウスの行動に及ぼす影響に関する実験

体重30～40g ICR 系雄性マウス1群5匹を用いて実験を行なった。

Pipethanate 20mg/kg を、対照薬物として、reserpine 2mg/kg を腹腔内投与した。薬物投与後4時間、行動として覚醒度および運動性について観察し、これらの行動の増減の程度を点数によって1時間ごとに記録した。採点方法はマウス1匹に対して、正常と思われる行動に対し正常点として4点を与え、正常状態より運動量等において、減退もしくは逆に増大した場合はその程度によって弱い=±1、中等度=±2、強い=±3、著しい=±4と評点した。従って減退した場合は正常点とした4点から点数を減じて0点まで、増大した場合は点数を加えて8点まで採点した。

Pentobarbital の麻酔時間に及ぼす影響に関する実験

体重25～30gのddY系雄性マウス1群5匹を用い、pipethanate は25mg および50mg/kg、対照薬物として用いた benactyzine は5mg、10mg/kg を腹腔内に投与した。これらの薬物投与30分後 pentobarbital 50mg/kg を腹腔内投与し、正向反射消失時から正向

反射回復までの時間を測定した。正向反射の判定は動物をお向けに寝かせ、5秒以内に自然の位置にもどらないときは、正向反射消失とみなした。

Morphine による挙尾反応に及ぼす影響に関する実験

使用した動物ならびに薬物は前項同様 ddY 系雄性マウスを用い、benactyzine を対照薬物として実験を行なった。pipethanate および benactyzine 投与30分後に morphine 10mg/kg を背部皮下に投与し、その後10分ごとに6回、反応の程度を採点した。採点の基準は、底面上に尾をおいているものを0、底面より約45°の角度で尾をあげたものを1、底面より約90°の角度で尾をあげたものを2、尾を背部側に曲げ、その先端が頭部近くまで達したものを3とし、上記に示した位置の中間の場合は0.5を加算し1.5、2.5というように採点した。

Strychnine の痙攣作用に及ぼす影響に関する実験

体重10～25gのddY系雄性マウス1群7匹を用い、前2項と同量の pipethanate および benactyzine を腹腔内投与30分後に strychnine 1mg/kg を背部皮下に投与し、痙攣が発現するまでの時間（痙攣発現時間）、および痙攣回数について観察した。痙攣回数の観察は strychnine 投与後1時間行なった。

なお、本実験に用いた薬物は reserpine（アポロン、第一製薬）以外すべて生理食塩液に溶解して用いた。

実験成績

ウサギ体温に及ぼす影響

Reserpine では投与直後から体温は急激に下降しはじめ、投与後3時間で最低に達し、以後持続的に低体温を実験終了時（投与後13時間）まで維持し、回復の傾向は見られなかった。pipethanate 3mg/kg では体温に対する影響も中毒症状も観察されなかったが、10mg/kg では投与直後ショック状態で間欠性痙攣を40分間にわたり繰返した。この間体温は1°近く下降したが、投与2時間では投与前の体温レベルまで回復し、これ以後特に著明な変化は観察されなかった (Fig. 1)。

マウスの行動に及ぼす影響

Fig. 2 に示すとおり reserpine では覚醒度、運動性とも投与後1時間において明らかに減退し、投与後3時間では自発運動はほとんど消失した。一方、pipethanate 群では覚醒度において投与2時間以後軽度の減少が見られたが、しかし強い刺激（ころがす、強く押えるなど）に対する反応は対照群と特に差はなく、また運動性においても対照群とほぼ同様であっ

Table 1. Effect of pipethanate on sleeping time after pentobarbital administration in mice

	Pentobarbital alone 50 mg/kg	Benactyzine 5 mg/kg	Benactyzine 10 mg/kg	Pipethanate 25 mg/kg	Pipethanate 50 mg/kg
Latent period (min)	4.4±0.25	4.0±0.84	7.0±0.95	4.0±1.05	3.6±0.40
Sleeping time (min)	52.4±10.7	98.6±6.3	175.4±20.9	95.2±10.8	122.2±22.2

Benactyzine and pipethanate were injected intraperitoneally 30 min before subcutaneous administration of pentobarbital

Numerals in the table indicate mean and standard error

Table 2. Effect of pipethanate on strychnine convulsion in mice

	Strychnine alone 1 mg/kg	Benactyzine 5 mg/kg	Benactyzine 10 mg/kg	Pipethanate 25 mg/kg	Pipethanate 50 mg/kg
Latent period of convulsion (min)	8.1±1.7	5.7±1.0	5.0±1.0	9.2±1.4	10.8±2.0
Numbers of convulsion	10.6±4.0	25.0±4.5	21.8±6.2	12.3±4.4	27.0±7.0

Benactyzine and pipethanate were injected intraperitoneally 30 min before subcutaneous administration of strychnine

Numerals in the table indicate mean and standard error

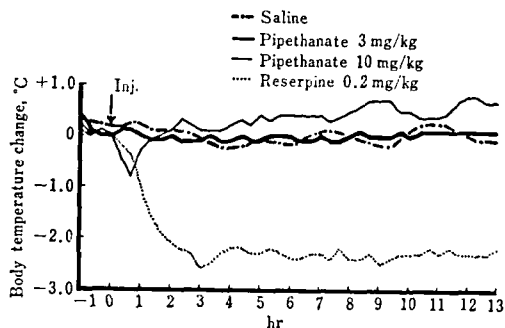


Fig. 1. Effect of pipethanate on body temperature of rabbit

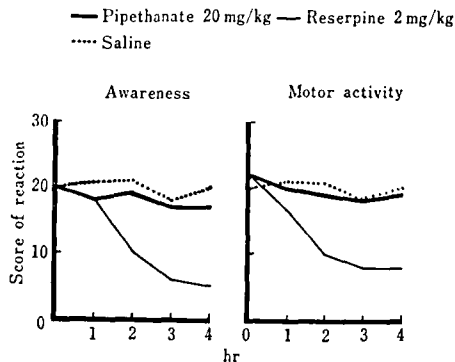


Fig. 2. Effect of pipethanate on behaviour in mice

た。すなわち, pipethanate 単独投与ではマウスの行動にはほとんど影響が見られなかった。

Pentobarbital の麻酔時間に及ぼす影響

Pentobarbital の睡眠発現までの経過時間(入眠時間)においては, pentobarbital 単独投与群に比較して, pipethanate 25 mg および 50 mg/kg 前処置では, 両用量ともにほとんど入眠時間に影響をあたえなかったが, 対照薬物として用いた benactyzine 前処置では, 10 mg/kg により入眠時間が若干延長した。他方, 睡眠時間において pipethanate は 2 用量ともそれぞれ延長を示したが, 両者間にほとんど差はなかった。しかし, benactyzine では用量間に大きな差が認められた (Table 1)。

Morphine による挙尾反応に及ぼす影響

Morphine 単独投与群の平均反応値 1.40 に比較して, pipethanate 25 mg および 50 mg/kg 前処置群では, それぞれ 1.27, 0.90 となり, pipethanate は morphine による挙尾反応を抑制することが観察された。また, benactyzine 5 mg, 10 mg/kg の前処置においても値は 1.20 および 0.69 となり, 挙尾反応を抑制することが認められた (Fig. 3)。

Strychnine の痙攣作用に及ぼす影響

結果は Table 2 に示すとおりで, strychnine の痙攣発現時間においては, strychnine 単独投与群に比較して, pipethanate 前処置群では, 痙攣発現時間を若干延長する傾向が観察された。しかしながら対照薬物として用いた benactyzine 5 mg, 10 mg/kg の前処

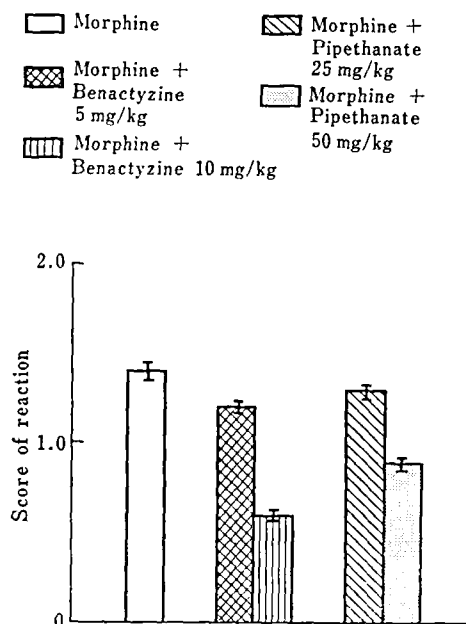


Fig. 3. Effect of pipethanate on Straub-Herrmann reaction after morphine administration in mice. Benactyzine and pipethanate were injected intraperitoneally 30 minutes before subcutaneous administration of morphine (10 mg/kg).

置では、pipethanate と異なり、発現時間を短縮する成績が得られた。一方、痙攣回数においては、strychnine 単独投与群に比べ、pipethanate 25 mg および 50 mg/kg の前処置群はそれぞれ高い値を示し、pipethanate の用量を増すに従って strychnine の痙攣回数は増加した。また、benactyzine 5 mg, 10 mg/kg の前処置群においても痙攣回数の増加が見られたが、2 用量ともほぼ同じ痙攣回数を示し、用量間に差が認められなかった。

ま と め

Pipethanate 10 mg/kg 投与でウサギの体温は一過

性の下降を示した。著明かつ持続的な体温下降が認められた reserpine の場合と異なり、pipethanate ではショック症状を呈し、本症状消失と共に体温下降も回復した。したがって pipethanate による体温下降は、ショック症状に随伴した現象であって、reserpine の様な体温下降作用は pipethanate にはないと考えられる。事実、中毒症状の観察されなかった用量では、体温にも影響がみられなかった。また、pipethanate 単独投与では、マウスの行動にもほとんど影響が見られなかった。しかしながら pipethanate の pentobarbital の睡眠作用、morphine による挙尾反応および strychnine の痙攣作用に及ぼす影響を観察した結果、pipethanate を前処置することにより、pentobarbital の睡眠時間を延長し、morphine による挙尾反応を抑制した。この点については Holten ら^{1,3)}も検討を加えており、われわれと一致した成績を報告している。また strychnine の痙攣作用に対しては、痙攣回数を増加させるような成績が得られ、睡眠時間延長、挙尾反応抑制等から考え、pipethanate の中枢作用が示唆される。

文 献

- 1) C.H. Holten, V. Larsen: *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **12**, 346 (1956)
- 2) 林 衛ら：新薬と臨床, **15**, (11), 89 (1966)
- 3) V.C. Lipman: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **126**, 173 (1967)
- 4) Louis A. Roseblum: *AM & CT*, **6**, (6), 343 (1959)
- 5) 牧野秀夫, 田辺 郎：新薬と臨床, **14**, 5, 27 (1965)
- 6) Council on Drugs: *New and Nonofficial Drugs*, p. 319 (1961) A.M.A., Chicago
- 7) Y. Yokoi, K. Uesato, T. Kuwamura: *Jap. J. Physiol.*, **10**, 331 (1961)
- 8) C.H. Holten: *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **13**, 113 (1957)

塩酸ピペサネートの薬理学的研究 (第 2 報)
呼吸, 循環器系および平滑筋に及ぼす影響について

田中 悟・川島邦夫・中浦楨介・長尾重之
桑村 司・大森義仁・Ginette SARRAZIN*

Studies on Pharmacological Effect of Pipethanate. II
Effect of Pipethanate on Respiration, Circulation System and Smooth Muscle

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO,
Tsukasa KUWAMURA, Yoshihito OMORI and Ginette SARRAZIN

The effect of pipethanate hydrochloride (pipethanate) was studied on the respiration and the circulating system in anaesthetized rabbit and with the preparation of the isolated ear of rabbit and ileum of rat.

Intravenous administration of 1 mg/kg or more of pipethanate caused temporary decrease of blood pressure and concomitant inhibition of respiration, heart rate and heart contraction. The hypotensive effect of pipethanate was not blocked with dichloroisoprothenerol or atropine treatment.

No influence of pretreatment with pipethanate to the effect of adrenaline or acetylcholine on blood pressure was observed. However, the vascular contraction by adrenaline in the isolated ear preparation of rabbit was markedly inhibited following pretreatment with pipethanate. On the other hand, in the examination with rat ileum, pipethanate revealed atropine and papaverine like and antihistaminic actions.

(Received May 31, 1971)

われわれは前報¹⁾で, pipethanate hydrochloride (pipethanate) の中枢に対する作用について検討した。今回は, さらに呼吸および血圧, 心運動, 心電図等の循環器系ならびに摘出平滑筋に対する pipethanate の作用について検索したので報告する。

実験方法

呼吸および循環器系の実験では, 体重 2.2~2.9 kg の白色雄性ウサギを用い, urethane 麻酔下で呼吸, 血圧, 心運動および心電図を測定した。測定にはポリグラフ (日本光電) を使用し, 呼吸はサーミスタープローブ, 血圧は歪圧力計, 心運動はストレインゲージを介して記録した。心電図の電極の位置はヒトの場合に準じ, 電極は皮下に刺入し, 標準肢誘導ならびに単極誘導を行なった^{2,3)}。pipethanate ならびに用いた薬物はすべて生理食塩液に溶解し, ポリエチレンカニューレを介して耳静脈内に投与した。また, 経口的に投与する場合にはゴム製胃ゾンデを用いた。

平滑筋の実験では, ウサギ摘出耳介血管およびラット摘出回腸片を用いた。耳介血管については灌流実験を行ない, 灌流液はリンゲル液を使用し, 灌流液の流

出滴数を電磁弁式滴数計を介して媒煙紙上に記録し, 薬物はリンゲル液に溶解して, 常に 0.1 ml/容量を灌流液内に直接投与した。回腸片についての実験はマグヌス法によって行ない, 使用タイロード液は 30 ml, 浴槽内温度は 37°, 薬物はタイロード液に溶解し, 成績はマグヌス管内最終濃度で表わした。

実験成績

1) 呼吸, 血圧, 心運動および心搏数に及ぼす影響

まず, pipethanate 0.5, 1, 2 および 3 mg/kg を静脈内投与し, 血圧に及ぼす影響を観察した。0.5 mg/kg では血圧に変化は見られなかったが, 1 mg/kg 投与により血圧は一過性の下降を示し, 2 mg/kg では 10 mmHg, 3 mg/kg では 28 mmHg というように, pipethanate の用量を増すに従って血圧下降度は大きくなった (Fig. 1)。3 mg/kg 投与の場合, 個体差はあるがその最低血圧を示すに至るまでの経過時間は大体 1~2 分, ついで血圧は上昇に転じ数分後投与前値まで回復し, この後緩やかに水銀柱として 4~10 mmHg の上昇を示したのち徐々に下降し, 投与後 10~20 分ではほぼ投与前のレベルとなった。

また, 本投与量 (3 mg/kg) で, タキフィラキシス発現の有無を見るために, 10 分間隔で 5 回, 反復静脈

* Faculté de Pharmacie Université de Paris

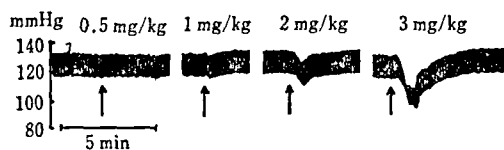


Fig. 1. Effect of pipethanate on blood pressure of rabbit

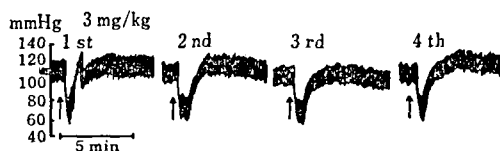


Fig. 2. Effect of repeated intravenous injection of pipethanate on blood pressure of rabbit

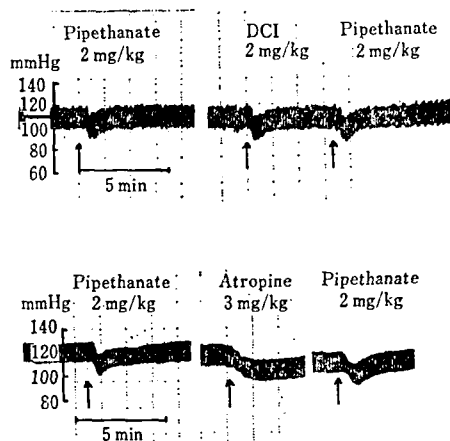


Fig. 3. Effect of DCI and atropine treatment on hypotensive effect of pipethanate in rabbit

内投与したが、血圧下降度は毎回ほとんど同程度で、pipethanate の血圧下降作用にタキフィラキシスは認められなかった (Fig. 2)。

Pipethanate のこのような血圧下降作用はアドレナリン作動神経 β 受容体の遮断薬である dichloroisoproterenol (DCI) 2 mg/kg を pipethanate 投与 5 分前、あるいは副交感神経遮断薬である atropine 3 mg/kg を 15 分前に投与しても、ともに遮断されなかった (Fig. 3)。ちなみに本実験で用いた量の DCI は adrenaline 3 μ g/kg による β 作用を、atropine は acetylcholine (ACh) 5 μ g/kg の血圧下降作用をほぼ完全に遮断する量である。

さらに pipethanate 3 mg/kg 投与 15 分後 ACh 5 μ g/kg あるいは adrenaline 3 μ g/kg を投与して ACh の血圧下降作用ならびに adrenaline の血圧上

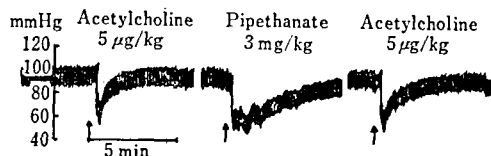


Fig. 4. Effect of pretreatment of pipethanate on acetylcholine and adrenaline induced blood pressure change in rabbit

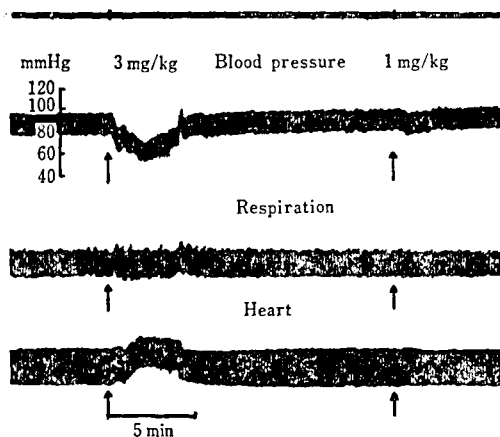


Fig. 5. Effect of pipethanate on blood pressure, respiration and cardiac movement of rabbit

昇作用に対する pipethanate の影響を見た。結果は、Fig. 4 に示すように、本投与量の pipethanate では ACh に対する atropine のような作用は観察されず、また adrenaline の α 作用に対しても影響を与えなかった。

なお、臨床量の約 200 倍 (10 mg/kg) から 1600 倍 (80 mg/kg) 量の pipethanate を経口投与して血圧に対する影響を観察したが、最高用量においても全く変化は認められなかった。

つぎに、pipethanate 1 および 3 mg/kg を静脈内投与し、呼吸、血圧および心運動を同時に測定記録した。なお心運動において pipethanate 投与前記録に比べて上方への変化はストレインゲージの緊張低下を、下方への変化は緊張増加を表わす。成績は Fig. 5

Table 1. Effect of pipethanate on heart rate of rabbit

Drugs		Time after injection, (sec)								
		0	10	20	30	40	50	60	120	180
Pipethanate	0.5 mg/kg	288	288	288	288	288	288	288	288	288
Pipethanate	3 mg/kg	288	264	252	246	254	252	258	276	276
Atropine	3 mg/kg	282	276	276	276	276	276	276	282	276
Acetylcholine	5 μ g/kg	294	288	288	300	300	300	294	288	288

Numerals in the table indicate heart rate per minute



Fig. 6. Effect of pipethanate (3 mg/kg) on electrocardiogram of rabbit

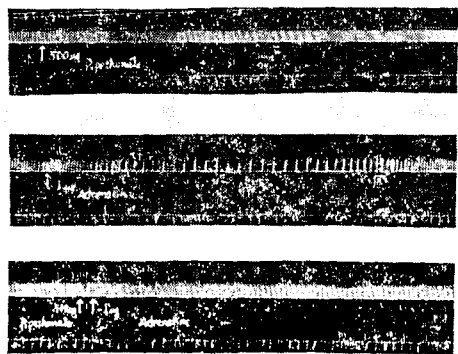


Fig. 7. Effect of pipethanate on vasoconstriction by adrenaline in isolated ear of rabbit

に示すとおり、1 mg/kg では軽度の血圧下降が認められたのみで呼吸、心運動にはほとんど変化が見られなかった。3 mg/kg では、呼吸において投与直後軽度の抑制、ついで数分間断続的ではあるがわずかに振幅の増大が見られ、心運動では振幅の減少とともに心収縮力の低下が認められた。

心搏数については Table 1 に示すとおり、pipethanate 3 mg/kg 投与時には、血圧下降とほぼ平行して心搏数の減少が見られたが、血圧下降をきたさぬ量である 0.5 mg/kg では減少しなかった。また、血圧下降を招来せしめる量の atropine 3 mg/kg, ACh

5 μ g/kg においてもほとんど心搏数の減少は認められなかった。

2) 心電図に及ぼす影響

Pipethanate 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2 および 3 mg/kg を静脈内投与したのち、30分まで心電図を記録した。

0.3 mg/kg 以下の用量では特に変化は見られなかったが、0.5 mg/kg 投与時には、投与直後に I, II, III 誘導の P 波と QRS の減高が見られ、1 mg/kg 投与後は標準肢誘導で同様な変化を現わすとともに、V₂, V₃ 誘導では ST 波の上昇をきたした。しかしこれらの変化はすみやかに回復に向かい、5 分後には投与前とはほぼ同様のパターンを示した。

2 mg/kg 投与時にはほぼ同様な経過をとり、P の減高と ST の上昇が I, II 誘導ならびに V₁~V₆ 誘導で明らかとなった。

3 mg/kg 投与後は、これらの変化はさらに著明となり、標準肢誘導の結果は Fig. 6 に示すように、II, III 誘導では P の減高と QRS の延長および ST の上昇が見られ、徐脈を認めた。5 分後にも I 誘導では各波の減高が残る、II, III 誘導における ST の上昇は明らかであったが、10 分後にはほぼ投与前の状態に回復した。単極誘導においても同様な経過が見られた。なお、血圧における実験と同様、臨床量の約 200 倍から 1600 倍量の pipethanate を経口投与して心電図に対する影響を観察したが、最高用量においても変化は見られなかった。

以上、pipethanate の呼吸、血圧、心運動、心搏数および心電図におよぼす影響について検索したところ、静脈内投与により、血圧は一過性の下降を示し、この血圧下降時に呼吸は軽度の抑制、心運動は振幅の減少と心収縮力の低下、心搏数の減少ならびに心電図でも変動が観察された。しかし、これらの変化はいずれも一過性で、pipethanate 投与 10~20 分後には回復しており、以後再び異常を認めるようなことはなかった。

3) 摘出耳介血管に及ぼす影響

Table 2. Effect of pipethanate on contraction induced by barium, acetylcholine and histamine in rat ileum

		Papaverine	Atropine	Diphenhydramine	Pipethanate
Barium	5.00×10^{-5}	6.16×10^{-7}			3.33×10^{-6}
Acetylcholine	3.33×10^{-8}		1.63×10^{-9}		2.00×10^{-10}
Histamine	$\begin{cases} 1.67 \times 10^{-5} \\ 3.33 \times 10^{-5} \end{cases}$			5.43×10^{-9}	8.39×10^{-7}

Numerals in the table indicate ED_{50} (g/ml) in final concentration

Pipethanate 0.5, 1, 2 および 4 mg 量の灌流では、流出滴数にほとんど影響が現われなかった。一方、adrenaline 1 μ g 灌流時流出滴数は著明に減少するが、pipethanate 0.5 mg ついで直ちに adrenaline 1 μ g を灌流した場合、adrenaline の血管収縮作用は著しく減弱され、pipethanate は papaverine 様の作用を示した (Fig. 7)。

4) 摘出回腸片に及ぼす影響

Pipethanate 単独では収縮作用は見られず、若干弛緩作用が認められた。そこで barium, ACh ならびに histamine 収縮に対する pipethanate の拮抗作用を調べ、これら薬物による収縮に対する緩解作用を ED_{50} として Table 2 に示した。

Pipethanate の ACh 収縮に対する ED_{50} は atropine のその約 1/8 であり、barium 収縮に対しては、papaverine の約 5 倍量の濃度を必要とした。また histamine 収縮に対しては、対照薬物として用いた diphenhydramine の緩解作用が著しく、このため diphenhydramine と pipethanate はそれぞれ異なった histamine 濃度を用いて実験を行ない、直接比較はできないが、pipethanate の緩解作用は diphenhydramine よりかなり弱いことがうかがえた。

考 察

Pipethanate はウサギの静脈内に投与したとき、一過性の血圧下降を示した。しかし、DCI および atropine によって遮断されなかったことから、pipethanate の血圧下降作用はアドレナリン作動神経 β 受容体の刺激あるいは副交感神経興奮作用によるものではないものと考えられる。また、われわれのラット回腸片を用いた実験およびモルモット回腸片を用いた報告⁴⁻⁶⁾で、pipethanate は atropine 様の作用を有することが示されたので、ACh の血圧下降作用に対する pipethanate の影響を見たが、本実験条件下では ACh に対して atropine のような作用は認められなかった。

このような血圧下降時に心運動では、振幅の減少と

ともに心収縮力が低下し、これとはほぼ平行して心搏数の減少が認められた。同時に心電図では一過性に P 波および QRS 波の減高、QRS および RR の延長、ST 波の上昇が認められ、心房および心室の興奮性低下、プルキエン氏繊維の興奮伝達および心室興奮性の遅延傾向がうかがえ、心臓に対する直接作用が示唆される。

心運動、心電図の所見から、pipethanate による血圧下降の原因として心搏出力の減退が考えられるが、しかし一方、摘出耳介血管を用いた実験において、pipethanate が adrenaline の血管収縮作用に対して著しい拮抗作用を示したことは、末梢血管に対する作用も血圧下降の一因になるものと考えられる。

なお、pipethanate を経口的に投与した場合、臨床量の約1600倍量においても循環器系に特に変化は認められなかった。一般に四級アンモニウム塩は消化管からの吸収が良くないとされており⁷⁾、pipethanate も四級アンモニウム塩であるところから、本薬物を経口的に適用したとき、消化管からの吸収が悪く、従って循環器系に対する作用が見られなかったものと考えられる。

総 括

1) Pipethanate をウサギの静脈内に投与したとき、血圧は一過性の下降を示し、用量を増すに従って血圧下降度は増大した。しかし、反復投与してもタキフィラキシスは認められず、DCI および atropine によって遮断されなかった。また、pipethanate の前処置は ACh あるいは adrenaline の血圧作用に影響を及ぼさなかった。この血圧下降時に、心運動では振幅の減少とともに心収縮力が低下し、これとはほぼ平行して心搏数の減少が認められた。

2) ウサギ心電図では、pipethanate の静脈内投与により P 波および QRS 波の減高、QRS および RR の延長、ST 波の上昇が認められた。

3) ウサギ摘出耳介血管の灌流では、pipethanate

単独投与では流出滴数に変化を与えなかったが、pipethanate ついで直ちに adrenaline を投与した場合、adrenaline の血管収縮作用は著明に抑制された。

4) ラット摘出回腸片に対しては、pipethanate 自体に収縮作用は見られず、ACh, barium および histamine 収縮に拮抗し、抗アセチルコリン、抗バリウム、抗ヒスタミン作用のあることが認められた。

文 献

- 1) 川島邦夫ら：衛生試験報, 89, 50 (1971)
- 2) 戸木田菊次ら：東邦大医学誌, 7 (5), 1227

(1961)

- 3) W.F. Ganong: *Review of Medical Physiology*, p. 398 (1963) Maruzen, Tokyo
- 4) C.H. Holten, V. Larsen: *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 12, 346 (1956)
- 5) Council on Drugs: *New and Nonofficial Drugs*, p. 319 (1961) A.M.A., Chicago
- 6) V.C. Lipman: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 126, 173 (1967)
- 7) R.R. Levine, E.W. Pelikan: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 131, 319 (1961)

ラット胎仔における化骨と骨カルシウムおよびリン含量について

田中 悟・川島邦夫・桑村 司

Ossification and Contents of Calcium and Phosphorus in the Bone of Rat Fetus

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA and Tsukasa KUWAMURA

The contents of calcium and phosphorus in bone of rat fetus on the 20th day of gestation were determined. The dry bone weight and the contents of calcium and phosphorus in the whole skeleton were 24.38 ± 0.11 mg, 8.93 ± 0.18 mg, and 3.23 ± 0.08 mg, respectively ($n=63$).

Highly significant relationship between calcium or phosphorus contents and body or bone weights were observed in parallel with the development of fetal bone examined by alizarine red staining method.

(Received May 31, 1971)

現在、催奇形実験に際しての化骨状態の判定は、アリザリンレッドによる骨格染色の状態から主観的になされているが、動物の大きさ、染色時の温度等の差異により一様な骨格染色標本を得ることが難しく、判定に困難を生じることはこれまでにしばしば経験してきたところである。

骨に含まれている鉱物質はカルシウム、ナトリウム等で、大部分はカルシウムであり、そのほとんどがハイドロキシアパタイト ($3\text{Ca}(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$) として存在している^{1,2)}。

そこで骨中のカルシウムおよびリンの含量に着目し、これらを定量することによって化骨の状態を客観的に判定しようと試みた。

実験材料および方法

用いた動物はウイスター系ラットで、胎仔は妊娠20日目(出産予定日の前日)に母ラットをエーテル麻酔

下で開腹してとり出し、体重を測定後アリザリンレッドによる骨格染色標本を作製して³⁾、骨格異常の有無および化骨の状態を拡大鏡下で観察したのち、カルシウムおよびリンの定量に供した。

定量にあたっては、骨格標本をアルカリで処理して骨部分を取り出し、その乾燥骨重量を測定したのち、硝酸で壊機したものを定量用試料とした (Fig. 1)。

以下その詳細について述べる。

まず骨格標本を拡大鏡下で胸骨部(胸骨)と胸骨を除いた全骨部(全骨)に分け、あらかじめ秤量した15 ml 容目盛付遠沈管にとり、蒸留水(精製水をガラス製蒸留器で2回再蒸留)で洗浄したのち、10%水酸化カリウム 5 ml を加え沸騰水浴中で2時間煮沸し、放冷後 3000 rpm 5分間遠沈してその上清を吸引除去した。その沈渣に蒸留水約 10 ml を加えて攪拌後再び遠沈して上清を吸引除去、この操作を2回繰返して沈渣を洗った。さらにアセトン約 5 ml を加えて同様

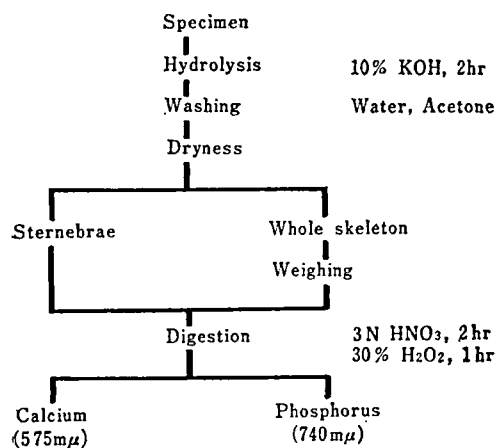


Fig. 1. Preparation of sample for determinations of calcium and phosphorus in skeleton of rat fetus

の操作を行なったのち、温浴中でアセトンを蒸発除去した沈渣を骨組成とした。ついで100°の乾燥器内で1時間乾燥したのち、骨重量を測定した。

壊機は、前記骨組成に3N硝酸を胸骨に1ml、全骨に2ml加えて砂浴中(150~180°)で2時間行ない、さらに30%過酸化水素水を胸骨に0.5ml、全骨に1ml加えて無色透明になるまで再び壊機した。

ついで、蒸留水で胸骨は2ml、全骨は10mlとし、全骨はさらにその1mlを別の目盛付試験管にとり5mlとした。

以上のようにして得られた試料をカルシウムおよびリンの定量に供した。

カルシウムの定量はKingsleyらのnuclear fast red (NFR) 法⁴⁾を多少改変して行なった。すなわち胸骨の試料0.5mlおよび全骨の試料0.1mlを試験

管にとり、砂浴中で蒸発乾固後0.01N硝酸を0.2ml加えて加温溶解し、放冷後NFR液5mlを加えて20分間放置したのち、575mμで吸光値を測定した。なお、NFR液はnuclear fast red(東京化成)100mgを蒸留水に溶かして100mlとし、冷暗所に48時間放置後ろ過して、使用直前に0.1N水酸化ナトリウムで5倍に希釈する。

リンの定量はTauskyらの方法⁵⁾に従った。胸骨の試料はカルシウムの定量に用いた残り1.6mlをそのまま、全骨ではその試料0.3mlを目盛付試験管にとり、ともに蒸留水で3mlとしたのち、濃硫酸0.05mlを加えて硫酸酸性とし、リンモリブデン硫酸鉄試薬2mlを加えて20分後、740mμで吸光値を測定した。リンモリブデン硫酸鉄試薬は使用時硫酸第一鉄1gを蒸留水18mlに溶かし、モリブデン酸アンモニウム試薬2mlを加える。モリブデン酸アンモニウム試薬はモリブデン酸アンモニウム5gを10N硫酸500mlに溶解する。

なお、本実験に用いた標準液は、第一化学製カルシウム標準液(mg/ml)ならびにリン標準液(mg/ml)である。

実験成績

1) 回収率

塩化カルシウムおよび第一リン酸ナトリウムとカルシウムおよびリン標準液を用いて検討したが、いずれにおいてもカルシウムは92.4~100.2%、リンは96.4~101.5%の回収率を示した。

2) 全骨中のカルシウムおよびリンの含有量

妊娠20日目のラット胎仔63例について得られた成績をTable 1に示す。カルシウムおよびリンの平均含

Table 1. Calcium and phosphorus contents of whole skeleton and sternebrae in rat fetus on 20th day of gestation

Number of sample	63	
Body weight of fetus (g)	3.90±0.25	
Dry bone weight (mg)	24.38±0.11	
Content of minerals	Calcium	Phosphorus
Whole skeleton (mg)		
total content	8.93±0.18	3.23±0.08
per 100 mg dry bone weight	36.63±0.72	13.25±0.22
per 100 g body weight	228.97±11.25	82.82±3.14
Sternebrae (μg)		
total content	69.14±1.94	22.22±1.01

Numerals in the table indicate mean and standard error

量とその標準誤差はそれぞれ 8.93 ± 0.18 mg, 3.23 ± 0.08 mg, カルシウムとリン含量の比は2.7対1で, 両者間に正の有意な相関 (相関係数 $r=0.69$) が認められた (Fig. 2).

乾燥骨重量とカルシウムおよびリン含量の関係は Fig. 3 に示すように, カルシウムは相関係数 $r=0.67$,

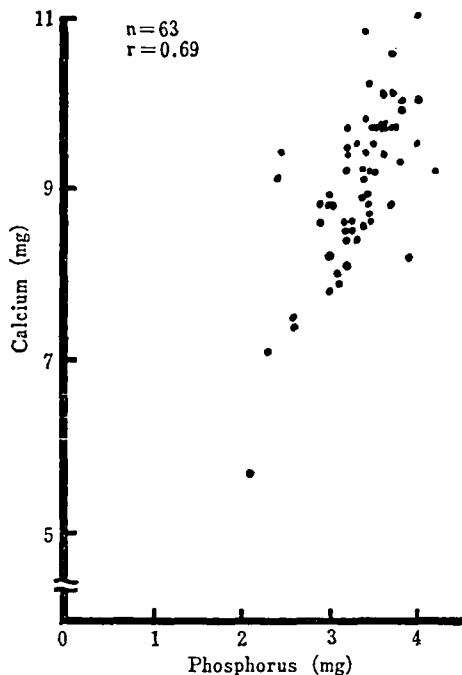


Fig. 2. Relationship between calcium and phosphorus contents in whole skeleton of rat fetus

リンは $r=0.59$ でカルシウムおよびリンともに正の有意な相関関係が認められた. また体重との間においても, 骨重量の場合と同様にカルシウム, リンともそれぞれ正の相関が認められた (Fig. 4).

3) 胸骨中のカルシウムおよびリンの含有量

カルシウムおよびリンの平均含量はそれぞれ 69.14 ± 1.94 μ g および 22.22 ± 1.01 μ g で (Table 1), 胸骨カルシウム含量と全骨カルシウム含量間ならびに胸骨リン含量と全骨リン含量の間にそれぞれ正の有意な相関関係が認められた (カルシウム $r=0.67$, リン $r=0.50$, Fig. 5). すなわち, 全骨中の両成分含量の少ないものは胸骨中の両成分含量も低い値を示した.

一方, アリザリンレッド染色骨格標本の形態的観察で, 胸骨の一部が欠損 (染色されていない) していたり, 小さいか不正形を呈していたものがかなり多数見られた. そこで胸骨の形態的所見とカルシウムおよびリン含量の関係を 63 胎仔全例について調べ, これらの内, 胸骨の形が整っている (well stained sternabrae) 胎仔と, その一部が欠損していたり, 小さいか不正形 (faintly stained sternabrae) の胎仔それぞれ 5 例についての両成分含量を Table 2 に示すとともに, Table 2 に記載した胎仔 1 と胎仔 6 の胸骨を Fig. 6 (胎仔 1 は左, 胎仔 6 は右) に示した. Fig. 6 に見られるとおり, 胸骨の一部が欠損していたり, 小さいか不正形を呈していたものは胸骨の形が整っているものに比べ, 胸骨, 全骨ともにカルシウムおよびリン含量はかなり低い定量値を示し, アリザリンレッド染色骨格標本の形態的観察と骨中両成分含量とは比較的良好に平行するという成績が得られた.

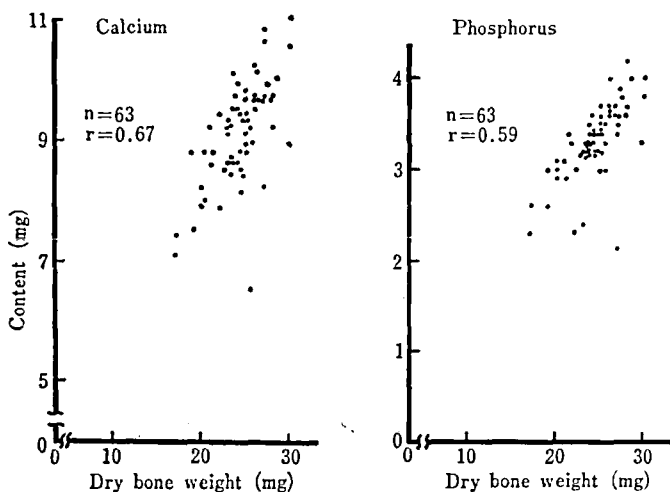


Fig. 3. Relationship between dry bone weight and mineral contents in whole skeleton of rat fetus

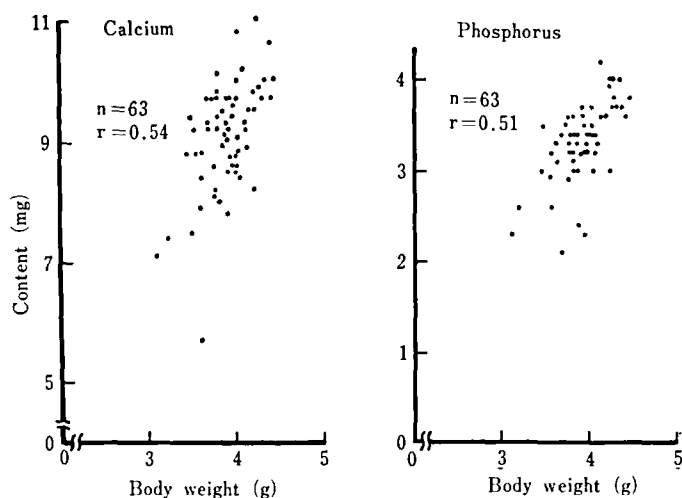


Fig. 4. Relationship between body weight and mineral contents in whole skeleton of rat fetus

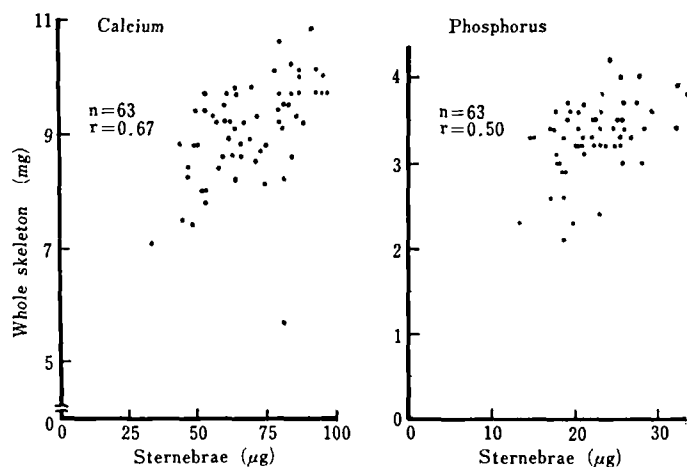


Fig. 5. Relationship between mineral contents in sternbrae and whole skeleton of rat fetus

考 察

カルシウムの定量法には、Kramer & Tisdall 法⁶⁾、Clark & Collip 法⁷⁾などの滴定法と Yanagisawa 法⁸⁾、NFR 法⁴⁾などの比色法があるが、Yanagisawa 法は試薬の調製が難しく、また滴定法は比色法に比べて微量定量できない欠点に加えてかなりの熟練と時間を必要とする。多数の試料を処理しなければならない催奇形実験において、定量に長時間を要求されることは致命的である。この点、本実験に適用した NFR 法は操作が簡単でしかも短時間で定量し得る長所があり、一部試料について滴定法と比較したところ、定量値も

良く平行し、本法は胎仔骨のカルシウムの定量に十分応用できるものと考ええる。

リンの定量法には、代表的なものとして、Fiske-Subbarow 法⁹⁾、Gomori 法¹⁰⁾、Taussky 法⁵⁾があるが、Fiske-Subbarow 法は発色が不安定で多数の試料に応用し難く、また Gomori 法は発色は安定であるが多量の試料を必要とする。これらに比べて Taussky 法は操作が簡単で発色も比較的安定であり、多数の試料を同時に測定する場合有効な定量法であると考え、本実験ではこの方法を用いた。

全骨中のカルシウムおよびリン含量の乾燥骨重量比において、カルシウム36.6%、リン13.3%という値が

Table 2. Calcium and phosphorus contents of whole sheleton and sternabrae in rat fetus with well and faintly stained sternabrae by alizarine red staining method

Fetus no.	Whole skeletone (mg)		Sternabrae (μ g)	
	Calcium	Phosphorus	Calcium	Phosphorus
Well stained sternabrae				
1	10.65	3.75	98.5	32.5
2	10.32	3.86	92.3	28.0
3	11.02	3.75	96.5	29.5
4	10.21	3.74	91.5	27.2
5	10.35	3.88	97.2	31.0
Faintly stained sternabrae				
6	7.31	2.55	45.0	17.2
7	7.10	2.32	33.1	13.0
8	7.72	2.95	50.0	18.5
9	7.25	2.52	42.2	18.2
10	7.81	2.98	51.5	18.8

Numerals in the table indicate total content



Fig. 6. Showing well (left) and faintly (right) stained sternabrae of rat fetus by alizarine red staining method

得られ、成熟ラットについて行なった Long ら¹¹⁾のカルシウムは28.0%，リンは12.7%という成績に比べて、カルシウム含量はかなり高い値であった。そこでわれわれも成熟ラットの大腿骨について、カルシウムおよびリンの含量を測定したところ、カルシウムは27.3%，リンは14.5%で、Long らの成績とよく一致し、骨カルシウムの沈着において胎仔と成熟ラットではかなりの差異があるものと考えられる。

また、全骨中のカルシウムおよびリン含量の少ないものは胸骨中のカルシウムおよびリン含量も低い値を示し、このように低い定量値が得られたものは形態的観察においても、胸骨の一部が欠損して数が少なかったりあるいは小さく、骨カルシウムおよびリン含量と

形態的所見が比較的良好に平行することを示した。

最近、Abdul-Karim ら¹²⁾は抗エストロゲン作用¹³⁾以外に胎仔の骨形成を遅延させるといわれている¹⁴⁾、非ステロイド物質である1-(*p*-2-diethylamino-ethoxyphenyl)-2-methoxyphenyl ethanol (ethamoxxytriphetol)を妊娠ウサギに投与し、その胎仔の骨カルシウムおよびコラーゲン含量を測定して、本物質が胎仔の化骨機転に影響を及ぼすことを証明しており、催奇形実験に際し骨格標本の形態的観察のみならず、骨中のカルシウム、リンさらにコラーゲン含量を測定することにより、なお一層化骨の状態を明瞭に、

しかも定量的に示し得るものと考える。

ひ す び

胎令20日目のラット胎仔について、催奇形実験の立場から、その骨中のカルシウムおよびリンを測定した結果、両成分含量は胎仔の体重、乾燥骨重量ならびに骨数などの形態的所見とよく平行し、骨格中のカルシウムおよびリンの含有量を定量することによって客観的に化骨の状態を判定し得る可能性を示唆する成績を得た。

文 献

- 1) F.C. Mclean: *Science*, **127**, 451 (1958)
- 2) F.C. Mclean, M.R. Urist: *Bull. Hosp. Joint. Dis.*, **12**, 431 (1951)
- 3) A.B. Dawson: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 4) G.R. Kingsley, O. Robnett: *Anal. Chem.*, **25**, 1738 (1953)
- 5) H.H. Taussky, E. Shorr: *J. Biol. Chem.*, **202**, 675 (1953)
- 6) B. Kramer, F.F. Tisdall: *ibid.*, **48**, 223 (1921)
- 7) E.P. Clark, J.B. Collip: *ibid.*, **122**, 665 (1938)
- 8) F. Yanagisawa: *J. Biochem.*, **42**, 3 (1955)
- 9) C.H. Fiske, Y. Subbarow: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925)
- 10) G. Gomori: *J. Lab. Clin. Med.*, **27**, 955 (1942)
- 11) C. Long: *The Biochemist's Handbook*, p. 717 (1961) E. & F.N. Spon Ltd., London
- 12) R.W. Abdul-Karim, L.D. Marshall: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **15**, 185 (1969)
- 13) M.R. Callantine: *Clin. Obstet. Gynecol.*, **10**, 74 (1967)
- 14) R.W. Abdul-Karim, J.T. Prior: *Am. J. Pathol.*, **52**, 38 (1968)

家兎における内因性発熱物質に対する解熱剤の効果

西 尾 晃・加 納 晴三郎

Studies on the Effect of Some Antipyretics against Endogenous Pyrogen in Rabbit

Akira NISHIO and Seizaburo KANOH

Mechanism of antipyretics (aminopyrine, antipyrine, aspirin, phenacetin and quinine) on the endogenous pyrogen including leucocytic pyrogen (LP) was studied in rabbit, and following results were obtained:

- 1) Among the drugs, aminopyrine was the most active on the fever of LP, and the degree of antipyretic activity was ordered as follows; aspirin, phenacetin and quinine. Antipyrine did not show any activity on the fever of LP.
- 2) Aminopyrine reduced the endogenous pyrogen which was appeared in the blood stream by the injection of lipopolysaccharide, while, antipyrine did not show such effect.
- 3) Both antipyretics mentioned in 2) did not influence to the release of LP from polymorphonuclear leucocytes *in vitro*.

(Received May 31, 1971)

前報¹⁾において著者らは、細菌性発熱物質 (lipopolysaccharide; LPS) による家兎の発熱反応に対する数種の解熱剤の効果を定量的に比較検討した結果、aminopyrine が最高の効果を示し、以下 quinine, antipyrine, aspirin, および phenacetin の順でそれ

ぞれの効果が認められた。しかし、薬理作用の詳細についてはなお不明の点が残されていた。

一般に LPS による発熱反応は、生体内において二次的に産出される内因性発熱物質 (白血球性発熱物質を含む) が主要な発熱媒体であることが知られている

が²⁻⁶⁾、これらの薬物が LPS によらない内因性発熱物質による発熱反応に対してどのような効果を示すかということは、解熱剤の作用機序を解明する上での重要な問題点であると考えられた。

本論文は内因性発熱物質として、最も主要な意義をもつ白血球性発熱物質 (leucocytic pyrogen; LP) に対する解熱効果を検討し、その系における内因性発熱物質 (endogenous pyrogen; EP) の動態を明らかにするとともに、各種解熱剤の薬理作用を一層明確にするために行なったものである。

実験材料および方法

- 1) 家兎体温の測定および発熱量 (fever index; FI) の計算: 前報¹⁾に従った。
- 2) LPS: 前報¹⁾と同じく Westphal 法⁷⁾により抽出精製したものを使用した。
- 3) LP の調製法: 多核白血球 (polymorphonuclear leucocyte; PMNL) を Wood ら⁸⁾およびわれわれの方法⁹⁾に従って採取し、 10^8 cells/ml に調整後、 41° の回転培養器を用いて 60 分間培養したのち、細胞を遠心分離し、上清を凍結乾燥したものを使用した。
- 4) 供試薬物: 前報¹⁾と同じく aminopyrine, antipyrine, aspirin, phenacetin および quinine の 5 種を使用した。
- 5) その他: その他の必要な事項についてはそれぞれの個所で記載した。

実験結果

〔I〕 LP による発熱曲線と FI

凍結乾燥 LP が家兎にどのような発熱を起こすのかを知るため、30 mg/kg を静脈注射した。そのときの発熱曲線を示したのが Fig. 1—a である。図に示すように静脈注射後 1 時間前後にピークのある 1 峰性の発熱曲線を示した。

つぎに投与量と発熱量との関係を知るため、10~100 mg/kg の LP を静脈注射して FI を求めた。Fig. 1—b に示すように 10~30 mg の間では作用—用量曲線に直線性が得られたが、30 mg 以上の投与では発熱度、発熱量ともに頭打ちの状態となることから LPS と異なった性質が明らかにされた。

なお LPS との比較のため LP を静脈以外の経路、すなわち皮下、筋肉、腹腔内および経口投与したが、LPS のときと同様に発熱効果は静脈注射時に比して著しく弱かった。

〔II〕 LP による発熱に対する解熱剤の効果

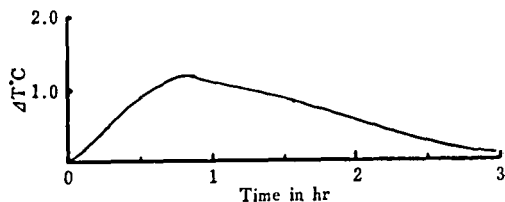


Fig. 1—a. Typical fever curve of LP
Dose of LP: 30 mg/ml/kg (i.v)

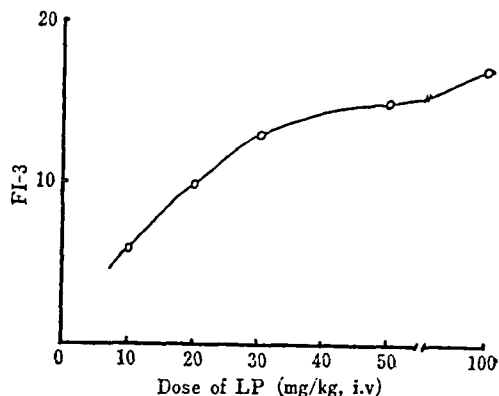


Fig. 1—b. Dose-response relation of LP

Antipyretics*	Dose mg/kg	Route	FI-3
None	—	—	0
Antipyrine	100.0	i.v	10
"	200.0	i.v	12
Quinine	100.0	p.o	5
Phenacetin	250.0	p.o	4
Aspirin	250.0	p.o	4
Aminopyrine	12.5	i.v	1
"	25.0	i.v	1

Fig. 2. Effect of antipyretics on LP-induced fever

* LP (30 mg/ml/kg) was injected intravenously before administration of antipyretics

LP 投与による発熱を各種解熱剤がどの程度抑制するかを知るため、LP (30 mg/kg) を静脈注射し、その直後に各種解熱剤を投与して解熱効果を検討した。Fig. 2 に示すように aminopyrine は 12.5 mg で著明な解熱効果を示したが、antipyrine は 200 mg でも解熱効果を示さなかった。他の解熱剤も多少の解熱効果を示した。

解熱剤を LP 投与前に与えるとその解熱効果に変化があるかどうかを aminopyrine と antipyrine を用

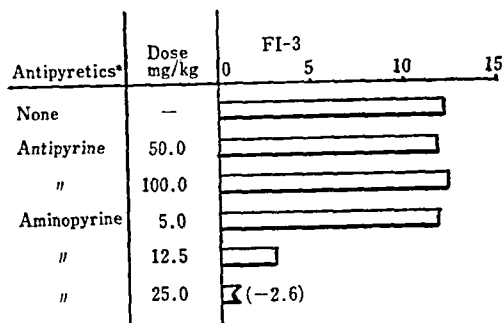


Fig. 3. Effect of pre-administered antipyretics on LP-induced fever

* LP (30 mg/ml/kg, i.v.) was injected after 5 min of intravenous administration of antipyretics

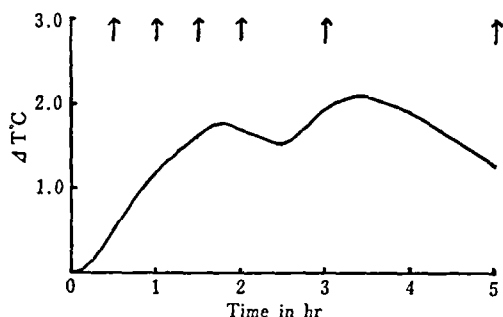


Fig. 4. Typical fever curve of LPS and time of bleeding

Dose of LPS: 0.2 μ g/ml/kg, i.v. At 0.5, 1, 1.5, 2, 3 and 5 hr later, each group was bled by cardiac puncture

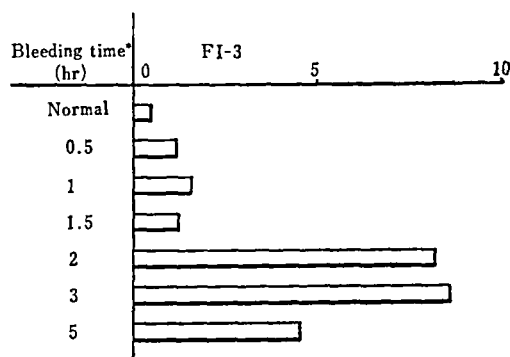


Fig. 5. Endogenous pyrogen in blood stream during the fever

* Serum was obtained from LPS injected rabbits at the time indicating in the figure, and then injected intravenously (2 ml/kg) to another rabbit

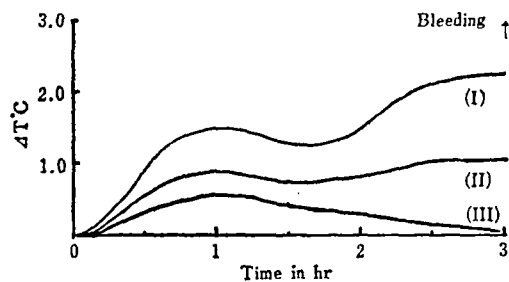


Fig. 6. Effect of antipyretics on LPS-induced fever

Curve (I) shows LPS (0.2 μ g/ml/kg, i.v.) induced fever

Curve (II) shows LPS and antipyrine (100 mg/kg, i.v.)

Curve (III) shows LPS and aminopyrine (50 mg/kg, i.v.)

Antipyretics was injected at 5 min after administration of LPS. Each group was bled by cardiac puncture at 3 hr after LPS injection

いて検討した。Fig. 3 に示すように両者ともに LP 投与後に与えた場合に比し、その効果に著しい差は認められなかった。

〔III〕 LPS による EP 産生

1) EP 産生量の経時的変化

LPS を投与すると流血中に易熱性で頻回注射しても耐性が発現しないなどの性質で、LPS と区別される EP の出現することはよく知られている^{2-4, 10-12}。

著者らは、LPS 投与後の EP 産生量ならびにその時間的経過を調べるため、1 群 3 羽の家兎 6 群に LPS (0.2 μ g/kg) を静脈注射した。Fig. 4 に示すように典型的な 2 峰性の発熱曲線を示した。投与 0.5, 1, 1.5, 2, 3 および 5 時間後にそれぞれの群の家兎より心臓採血して常法により血清を分離した。それぞれの群の分離血清を 1 群 3 羽の家兎に 2 ml/kg ずつ静脈注射してその発熱性を調べた。Fig. 5 に示すように LPS 投与 2 ~ 3 時間後に流血中の EP 量の増大が認められた。

2) EP 産生に対する解熱剤の影響

LPS 投与後の EP の流血中への出現に対して解熱剤がどのような影響を及ぼすかを知るため、LPS (0.2 μ g/kg) 静脈注射直後に aminopyrine (50 mg/kg) および antipyrine (100 mg/kg) をそれぞれに静脈注射した。そのときの発熱曲線を Fig. 6 に示した。図に示したように aminopyrine, antipyrine はともに発熱第 1 峰および第 2 峰を抑制した。抑制の程度は

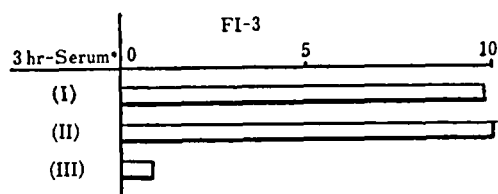


Fig. 7. Effect of antipyretics on the appearance of endogenous pyrogen *in vivo*

* Serum was obtained from the same rabbit indicating in Fig. 6 and was injected intravenously (2 ml/kg) to another rabbit

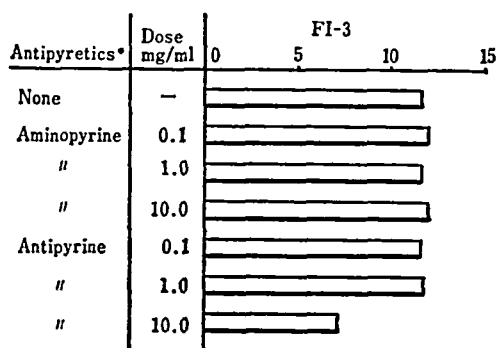


Fig. 8. Effect of antipyretics on LP-release from PMNL *in vitro*

* PMNL (1.0×10^8 cells/ml) was incubated in saline for 60 min at 41° with or without antipyretics, and the supernatants were injected (1 ml/kg) intravenously

aminopyrine が著しく、とくに第 2 峰を完全に抑制した。このような時点、すなわち LPS 投与 3 時間後の流血中のそれぞれの EP 量を調べた。Fig. 7 に示すように aminopyrine は EP の産生を完全に抑制したが antipyrine は EP 産生には効果が認められなかった。

[IV] *In vitro* での多核白血球からの LP 遊離に対する解熱剤の影響

In vivo で aminopyrine が EP の産生を抑制し、antipyrine が抑制しないという結果を得たので、これら両薬物が *in vitro* で多核白血球からの LP 遊離に対していかなる効果を有するかを調べるため、多核白血球をこれら薬物とともに 41° で 60 分間回転培養器内で incubate した後、遠心分離により細胞を除いた上清中の LP 量を測定した。その結果を Fig. 8 に示した。すなわち、図に示すように aminopyrine、antipyrine ともに LP 遊離に対して著明な影響は認められなかったが、antipyrine の 10 mg/ml の濃度では

多少の抑制が認められた。

なお aminopyrine (10 mg/ml) で白血球を incubate した場合、この濃度の aminopyrine は遊離された LP の発熱を阻止してしまうので、LP と aminopyrine の混合している白血球培養上清を生理食塩水に対して透析し、aminopyrine を除いた後に LP 量を測定した。

考 察

前報¹⁾において著者らは、LPS 発熱に対する各種解熱剤の解熱効果を比較検討した。

本報においては、LPS による発熱機序ならびに各種解熱剤の作用点を解明するための一つの手段として、LP による発熱に対する各種解熱剤の効果を比較検討した。

用いた 5 種の解熱剤のうち antipyrine を除く 4 種の解熱剤はそれぞれ LP による発熱に対して解熱効果を示した。その中でも aminopyrine は最も強い解熱効果を示した (Fig. 2)。このように同じ pyrazolon 誘導体でありながら aminopyrine と antipyrine は LP 発熱に対する効果が全く異なっていた。両者の作用機序を EP 産生系においてさらに追求したところ、*in vivo* における EP 産生に対する効果は、Fig. 6, 7 に示したように、aminopyrine は EP による発熱と推定される発熱第 2 峰を完全に抑制するとともに、EP の産生をも完全に抑制しており、発熱曲線と EP 量とがよく一致した。しかし antipyrine は EP の産生には影響しないが発熱は抑制しており、発熱曲線と EP 量との間に相関性が認められなかった。また antipyrine が LP による発熱を抑制しないという成績 (Fig. 2) ととも一致しなかった。なお、aminopyrine および antipyrine を投与したときの血中濃度の消長については、すでに前報¹⁾で報告しており、投与 3 時間後では両者ともに EP の発熱に対しては無影響の濃度に減少している。また *in vitro* での多核白血球からの LP 遊離に対しても両者ともに著明な影響がなかった。これらの成績は、EP 産生には LPS と EP 産生細胞、とくに多核白血球との相互作用以外の因子の関与を示唆するものと思われる。Haan ら¹³⁾は EP 産生に対する中枢神経系の関与を推論している。われわれもこの点に関しては今後検討の予定である。

いずれにせよ発熱現象を支配する因子は多数交錯しており、今後さらに多くの実験系を設定して検討を加えねばならない。その際 aminopyrine と antipyrine はそれぞれの実験系において有力な武器となり得るものと思われる。

総 括

1) LP による発熱に対して aminopyrine が最も強力な解熱効果を示した。ついで aspirin, phenacetin および quinine が有効であった。しかし antipyrine は全く効果を示さなかった。

2) *In vivo* での EP 産生に対して aminopyrine は抑制したが, antipyrine は抑制しなかった。

3) *In vitro* での多核白血球からの LP 遊離に対して aminopyrine, antipyrine とともに著明な影響を及ぼさなかった。

文 献

- 1) 西尾晃, 吉田稔, 加納晴三郎: 日薬理誌, 64, 314 (1968)
- 2) E. Atkins, W.B. Wood, Jr.: *J. Exp. Med.*, 101, 519 (1955)
- 3) E. Atkins, W.B. Wood, Jr.: *J. Exp. Med.*, 102, 499 (1955)
- 4) E. Atkins: *Physiol. Rev.*, 40, 580 (1960)
- 5) S.M. Gillman, D.L. Bornstein, W.B. Wood, Jr.: *J. Exp. Med.*, 115, 27 (1962)
- 6) E.S. Snell, E. Atkins: *J. Exp. Med.*, 121, 1019 (1965)
- 7) O. Westphal, O. Lüderitz: *Angew. Chem.*, 66, 407 (1954)
- 8) W.B. Wood, Jr., M.K. King: *J. Exp. Med.*, 107, 279 (1958)
- 9) S. Kanoh, H. Kawasaki, M. Yoshida, A. Nishio, K. Mochida: *Jap. J. Pharmacol.*, 17, 125 (1967)
- 10) R.G. Petersdorf, I.L. Bennett, Jr.: *J. Exp. Med.*, 106, 293 (1957)
- 11) M.K. King, W.B. Wood, Jr.: *J. Exp. Med.*, 107, 291 (1958)
- 12) R.G. Petersdorf, W.R. Keene, I.L. Bennett, Jr.: *J. Exp. Med.*, 106, 787 (1957)
- 13) J. Haan, A.W. Schmidt: *Biochemical and Neurophysiological Correlation of Centrally Acting Drugs*. Vol. 2, p. 211-217 (1963), Pergamon Press Ltd., Czechoslovak Medical Press., Prague

ケッソウ（カメバキッソウ）とホッカイキッソウの栽培試験（第1報）

品山 好雄・本間尚治郎・逸見誠三郎

ヒキノヒロシ*¹

Studies on the Cultivation of Kesso (Kamebakisso, Valeriana sp.) and Hokkaikisso (V. sp.). I

Yoshio HATAKEYAMA, Naojiro HOMMA, Seizaburo HEMMI and Hiroshi HIKINO

Studies on the cultivation of Kesso (Kamebakisso, *Valeriana* sp.) and Hokkaikisso (*V. sp.*) have been carried out since 1965 at Nayoro in Hokkaido.

1. The suitable weight of the cuttings of Hokkaikisso was about 70g.
2. It is desirable for the cultivation to pinch the inflorescence on the early stage. Pinching of inflorescence increases the root yield and the oil content.
3. The root yield of Kesso per 10ares was 120kg, and the oil contents were from 3 to 5 percent. On the other hand, those of Hokkaikisso were 360kg and 1 to 2 percent, respectively.
4. It could not be confirmed experimentally that the newly-cultivated field would be more favorable to the root yield of Kesso than the common field. However, it was interesting fact that the oil content in the root of Kesso, the former was much higher than the latter. Judging from the very low yield of the plot V₁₂ (not fertilized), Kesso seems to require a great quantity of fertilizers or fertile soil.
5. From the standpoint of the root yield and oil content, the most suitable harvesting season of Kesso was the first stage of Yellowing.

(Received May 31, 1971)

Table 1. Growth, development and yield of Hokkaikisso cv. 'Tako'. Comparison among the different weights of the cuttings. (Planted on Sept. 8, 1967 and harvested on Oct. 22, 1968)

	Date of sprouting	Date of appearance of inflorescence	Weight per plant (g)	
			Fresh radix	Dry radix
V ₁ 10g	IV 20, 1968	V 22, 1968	261.0	75.3
V ₂ 30	IV 18, 1968	V 18, 1968	306.3	93.0
V ₃ 50	"	"	298.7	90.0
V ₄ 70	"	"	398.3	94.7
V ₅ 100	"	"	405.0	100.3
		M. D. (0.05) ^{a)}	89.02	30.59
		M. D. (0.01)	117.54	40.39

a) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significance at the 5% level.

Table 2. Comparison among the different amounts of fertilizer on the yield per plant of Hokkaikisso (1967~1968)

	Amounts of fertilizer kg per 10 ares				Fresh weight of radix (g)	Dry weight of radix (g)	Drying percentage
V ₆	Compost 2500,	Compound chemical ^{a)} 50	Rape seed oil cake 30		333.2	81.2	24.4
V ₇	"	" 100	" 60		370.2	83.6	22.6
V ₈	"	" 150	" 120		356.8	89.8	25.2
M. D. (0.05)					99.03	17.14	

a) N 2, P 3, K 2.6 kg per 20kg

カノコソウは北海道、南千島から九州に至る全国、中国東北、朝鮮に分布し^{1,2)}、その根を吉草根（纈草根）として薬用に供し、鎮静薬として神経過敏症、精神不安、ヒステリーなどの治療に用いられる^{1,3)}。

また吉草油を香料として用いるドイツなどに大量に輸出されていたこともある⁴⁾。しかし現在は吉草根のうちで最優良品種であるケツソウ（カメバキソウ）に代わり性強健で収量は多いが品質の悪いホッカイキソウが栽培されている。ホッカイキソウには北見の一農家によって選抜された「タコ*2」と「ボタン」という栽培品種がある⁵⁾。

著者らは1965年にホッカイキソウの2品種を北見から、1968年にケツソウを北大から入手し、その栽培法および含油率を主とした品質の試験を実施し、同時に現在ほとんど絶滅しているケツソウの育成をはかっているが現在までに多少の知見を得たので報告する。

*1 東北大学医学部薬学科

*2 同じ北見地方においてカメバキソウを「タコ」と称しホッカイキソウを「ボタン」と名づけているところもある。

実験材料

- 1969年1月に北見市広郷より入手したホッカイキソウ「タコ」と「ボタン」の栽培2品種。
- 1968年10月に北海道大学薬学部生薬学教室より入手のケツソウ（カメバキソウ）

試験方法

1. 苗の大きさに関する試験

苗の大きさ別に活着、生育、収量について比較試験を行ない適正な苗を決定する。

材料は1の「タコ」を用いた。

試験区 V₁-10g, V₂-30g, V₃-50g, V₄-70g, V₅-100g 各区のくりかえし 3回
1くりかえし 10株

栽培法 定植 1967年9月8日
収穫 1968年10月22日

施肥 基肥 10a当り たい肥 2,500kg, 油粕 50kg

追肥 10a当り複合化成肥料 50kg

畦間、株間 60×30cm

Table 3. Influence of pinching of the inflorescence on the yields and oil contents of Hokkaikisso (1967~1968. Pinched on June 7, 1968)

	Fresh weight of radix (g)	Dry weight of radix (g)	Drying percentage	Oil content (%)
V ₀ ^{a)}				4.03
V ₉ pinching	353.4	84.9	24.0	1.82
V ₁₀ control	300.2	75.0	25.0	1.14
M. D. (0.01)	49.59	8.79		

a) Kesso donated from Hokkaido University

Table 4. Comparison between Kesso and Hokkaikisso on the growth and yields per 10 ares and oil contents. (1968~1969)

	Date of sprouting	Plant height (cm)	Fresh weight of radix (kg)	Dry weight of radix (kg)	Drying percent	Oil content(%)
Kesso	IV 21, 1969 ^{a)}	29.4	410.6	121.1	29.4	3.0
Hokkaikisso	"	46.7	1473.0	362.1	25.2	2.0
M. D. (0.01)		8.34	736.95	96.88		

a) last snow

Table 5. Yield per 10 ares of Kesso in the newly-cultivated fields where no crop has been grown. (Planted on Oct. 30, 1968, Harvested on Nov. 1, 1969)

	Fertilizer(kg/10a)	Date of sprouting	Fresh weight of radix (kg)	Dry weight of radix (kg)
V ₁₃ Common fields	N10, P10, K 7	IV 21, 1969	417.6	121.4
V ₁₁ newly-cultivated	"	IV 25, 1969	322.0	92.0
V ₁₂ newly-cultivated	—	"	156.2	45.4
M. D. (0.05)			222.78	63.47
M. D. (0.01)			297.84	84.85

管 理 中耕除草 3 回, 薬剤散布 3 回

摘心 1968年 6 月 7 日

乾 燥 室内乾燥 以下の試験も同じ

2. 肥料および摘心に関する試験

カノコソウの栽培は肥よくな新墾地が適しているといわれているので³⁾, 施肥量に関する試験を行なった。

同一は場において花茎の摘心を行ない, 無処理の場合と収量, 品質について比較試験を実施した。

材料は「タコ」

試験区 a) 単位は10a 当り kg, 追肥 は全区とも1968年 5 月30日に施した。

V₆ 基肥 たい肥2500 油粕30

追肥 複合化学肥料50

V₇ 基肥 たい肥2500 油粕60

追肥 複合化学肥料100

V₈ 基肥 たい肥2500 油粕120

追肥 複合化学肥料150

b) V₉ 摘心 1968年 6 月 7 日

V₁₀ 無処理

a, bとも各区のくりかえし 5 回

1 くりかえし 20株

栽培法 乾燥とも 1 に同じ。

精油定量法 第7改正日本薬局方の一般試験法に収載の精油定量法を一部改変して行なった。

3. 品種別収量と品質に関する試験

ケッソウとホッカイキッソウ「タコ」の10a 当り収量と含油率を比較調査する。

材料は 1 と 2 を用いる。苗は 50 株平均でケッソウ 43 g, ホッカイキッソウ 56 g

Table 6. The oil contents of Kesso listed in Table 5

	Oil contents (%)
V ₁₃	3.00
V ₁₁	4.12
V ₁₂	4.58
M. D. (0.05)	0.50
M. D. (0.01)	0.67

試験区 Kesso ケッソウ

Hokkaikisso ホッカイクissoウ

各区のくりかえし 5回

1くりかえし 10株

栽培法 定植 1968年10月30日

収穫 1969年11月1日

施肥 栽植密度 管理は1に同じ

調査 草丈 1969年7月11日

生重 1969年11月9日

乾重 1969年11月14日

精油定量法 2に同じ

4. 新墾地における栽培試験

既述のようにカノコソウは肥よくな新墾地で栽培す

ると病害の発生が少なく収量が多いといわれているので、新墾地において実際栽培を行ない、既墾地のそれと収量、品質、病害について比較した。

材料は2を用いた。

試験区 V₁₁ 名寄市日進、秋田屋利弘氏の新墾地旧クマイ笹地を開墾したもので、作物の栽培は全くされていない。東西に約15°の傾斜地である。マンモスブラウで開墾したために作土と心土が逆転している。

V₁₂ 同上 無肥料区V₁₃ 既墾地

各区のくりかえし 5 1くりかえし 10株

栽培法 定植 1968年10月30日

収穫 1968年11月1日

基肥10a当り 油粕50kg 過石10kg 硫加5kg

追肥 // 複合成肥料50kg

なお追肥は両区とも5月30日、7月12日に半量ずつ分施した。

管理 乾燥は1に同じ

精油定量法 2に同じ。

Table 7. Yields per 10 ares and oil contents of Kesso on the different harvesting seasons. (Planted on Nov. 11, 1969. Pinched on June 5, 1970. Dried within doors during 15 days)

Date of harvesting	Date of sprouting ^{a)}	Fresh weight of leaves (kg)	Fresh weight of radix (kg)	Dry weight of radix (kg)
V ₁₄ Sept. 1, 1970	IV 27, 1970	211	283	85
V ₁₅ Sept. 15, 1970	//	302	365	113
V ₁₆ Oct. 1, 1970	//	254	437	134
V ₁₇ Oct. 15, 1970	//	193	370	138
V ₁₈ Nov. 1, 1970	//	199	371	135
M. D. (0.05)		109	140	53
M. D. (0.01)		135	173	65

Drying percentage ^{b)}	Oil content (%)	Oil yield ^{c)} (kg)	Note
30.19	4.7	4.011	Vigorously growing. Lieves are green.
30.88	4.9	5.713	
30.72	4.4	5.915	First stage of yellowing season.
36.94	4.2	5.800	Yellowing season. A few new leaf bud appear.
39.36	4.2	5.650	First stage of browning season. Many new leaf bud appear.

a) last snow

b) Rate of the dry weight of radix

c) Dry weight by oil contents

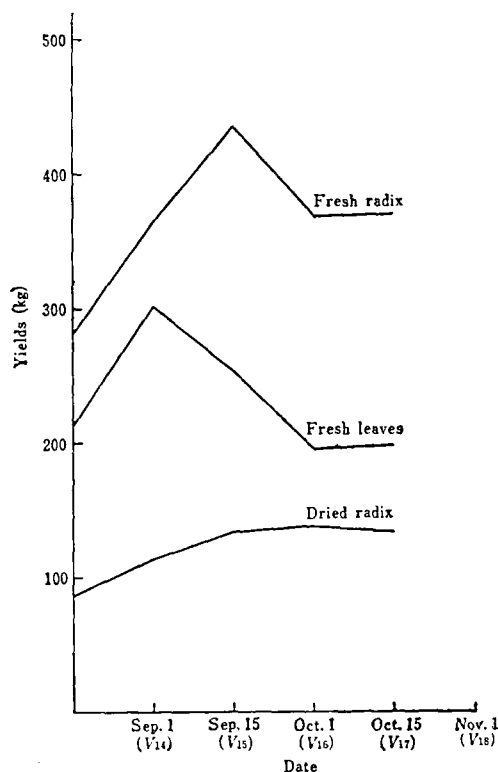


Fig. 1. Yields per 10 ares at the different harvesting seasons

5. 収穫期に関する試験

最大収量と最高含油率は必ずしも一致しないと考えられる。

収量も多く含油率も高い収穫適期を実験的に決定するため、1970年9月1日から11月1日（緑葉末期からかっ変期）まで15日おきに収穫し、その収量と含油率を調べた。

材料は2を用いた。

試験区 V₁₄-1970年9月1日 V₁₅-1970年9月15日

V₁₆-1970年10月1日 V₁₇-1970年10月15日

V₁₈-1970年11月1日 各区5畦

くりかえしなし

栽培法 定植 1969年11月11日

施肥 基肥10a当り 鶏ふん150kg 油粕 50kg

追肥 // 複合成肥料25kg

鶏ふん 50kg 油粕 50kg

栽植密度 管理は1に同じ

乾燥 各区とも室内で5日間乾燥し、16日目に調査した。

精油定量法 2に同じ

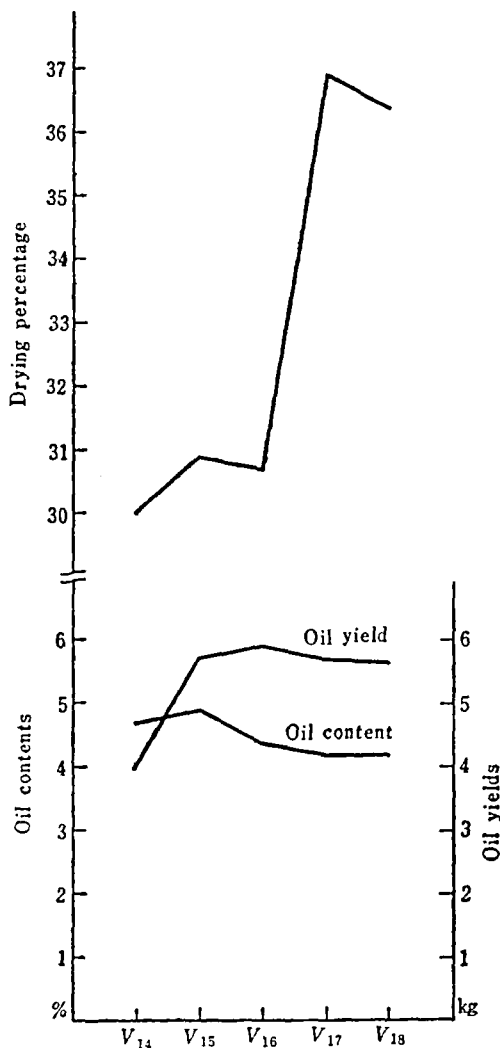


Fig. 2. The oil contents and drying percentage at the different harvesting seasons

実験結果および考察

1. 苗の大きさ

ホッカイクッソウの栽培品種「タコ」を用いて苗重試験を実施したところ春のほう芽は終雪と同時に（すなわち積雪下でほう芽している）抽たいは V₁ (10g) がやや遅く、V₂ (30g), V₃ (50g), V₄ (70g) および V₅ (100g) は同日であった。活着については V₁ が60%と極端に悪い。収穫された根は生重で V₄, V₅ が特によかったが、乾重では各区に差がなかった。

他の試験において歩留は25%前後となっており、V₁~V₂は歩留が著しく高い。これは株が小さいため、きょう雑物の完全な除去ができ、地上部の残基も少な

いためと思われる。

活着および収量の観点から苗重は土付で70g前後が適当と結論できる。

2. 施肥量と摘心

試験に供した施肥量の区分では各区とも差が見られない。

基肥と追肥の種類と施肥量およびその時期などについて追試験の必要がある。抽たいした花茎を初期の中に摘心した場合の生育に対する影響を見たところ、収量(生、乾重とも)含油率ともに摘心しない対照区に比べて、著しくまざっていることがわかった。

栽培管理上花茎の摘心は不可欠の作業である。

3. 品種別収量

北海道においても神奈川県などと同様に以前はケッソウ(カメバキッソウ)が栽培されていた。ところがホッカイキッソウが移入⁴⁾され、急速に普及し、ケッソウはほとんど絶滅した。

著者らはケッソウとホッカイキッソウの収量と含油率(品質)にどの程度の相異があるのか実験的に確かめたところ、収量では後者が前者の3倍あるが、含油率は前者はるかに高く、他の試験(Table 3, 6)では2.5倍ほどになっている。

ちなみに北海道のケッソウ10a当り収量は約200kgであった。品質のよい生薬が要求され、輸出することなども合せ考えると、栽培上の困難や少収量のもので含油率の高い良品種のケッソウを栽培していくべきではないかと考えられる。

4. 新墾地栽培

カノコソウの栽培は既墾地より新墾地の方が有利であることは収量的には確認できなかった。これは耕土と心土の逆転に起因するものと思われ、再度の試験をする予定である。新墾地無肥料区の収量が10a当り45kgと著しく少なく、株も小さいので、肥よくな土地に栽培するか、多肥栽培が必要ではないかと思われる。

含油量に関して既墾地よりは新墾地の方がはるかに高いのは興味もたれる。しかし1地域1栽培期間のみの実験結果なのでさらに追試験をする予定である。

5. 収穫期

ケッソウの地上部が黄変する直前から変期まで15日ごとに5回収穫し、その収量と含油率を調査したところ、地上部は黄変直前に最高を示し、その後漸次下向し黄変期から変期には急激に減少する(Fig. 1)。

収量は黄変直前より変期まで大差はない(Table 7)。歩留については地上部が黄変乾燥する時期に急激に高くなり、それ以前の30%に対して36%の高率を示す(Fig. 2, Table 7)。

しかし含油率は歩留に反比例して黄変が進むほど低くなる(Fig 2)。

収量、品種の観点より地上部の黄変初期をもって収穫適期とする。

なお各収穫期における精油の質的变化については今後検討の予定である。

摘 要

ケッソウ(カメバキッソウ)およびホッカイキッソウの栽培試験を1965年より名寄において行なった。

1. ホッカイキッソウの苗重は土付で70g前後が適当である。
2. 栽培管理上花茎の摘心は不可欠の作業である。摘心を行なえば収量多く品質もよくなる。
3. ケッソウは収量が10a当り120kgと少なく、含油率は3~5%と高い。これに対してホッカイキッソウは収量が360kgと多いが、含油量は1~2%と非常に低い。
4. 新墾地の有利性は耕土の関係で確かめることができなかった。しかし無肥区の収量が著しく少ないので肥沃な土地または多肥が適している事を示唆している。また既墾地に比し著しく含油率の高い事は興味ある事実である。
5. 収穫は地上部の黄変初期が良く、収量多く含油率も高い。

本試験にあたり種苗の提供を頂いた北大生薬学教室三橋 博教授および北見市西野 猛氏に深謝します。

文 献

- 1) 刈米達夫ら：薬用植物大辞典，p. 87 (1963) 広川書店
- 2) 大井次三郎：日本植物誌，p. 1273 (1965) 至文堂
- 3) 藤田路一：生薬学，p. 141 (1963) 南山堂
- 4) 刈米達夫ら：薬用植物栽培法，p. 75 (1941) 養賢堂
- 5) 日本公定書協会：新しい薬用植物栽培法，p. 93 (1970) 広川書店

アヘン製剤中のモルヒネの定量 (第1報)
アヘン散およびアヘントコン散について

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Determination of Morphine in Opium Preparations. I
Studies on the Assay of Diluted Opium Powder
and Opium Ipecac Powder

Masako ŌNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

The official assay (JP VII) of morphine in Diluted Opium Powder or of Opium Ipecac Powder, which was believed to give low results, which we found to be due to various factors such as incomplete liberation from the excipient starch and interference of ipecac.

The assay involves the extraction of the alkaloid from the preparation with diluted ethanol followed by the lime method.

The repeat extraction with warm, diluted ethanol makes it possible to obtain greatly improved results though it is extremely long (see Table 2).

By means of further extraction of morphine with a mixture of ethanol (or iso-propanol) and chloroform (1:3), in unfavorable cases, where diluted ethanol extract contains number of substances hindering precipitation, better results are obtained than by traditional method (see Tables 3 and 4).

(Received May 31, 1971)

JP VII のアヘン散およびアヘントコン散には、賦形剤としての乳糖の使用を禁止し、エマルジョン生成を防ぐための考慮がはられてきたにもかかわらず、その定量法によるモルヒネ回収率が低い傾向を示すために、局方改正 (JP VIII) にあたり、麻薬技術委員会の共同研究事項として定量法の改良が取り上げられた。われわれはこの原因が従来の定量法によるとき、一度溶出されたモルヒネが再び賦形剤のデンプンに吸着されるために生ずることを認めたので、抽出方法について検討し、アヘン散ではモルヒネの回収率を高めることができ解決にいたった。しかしアヘントコン散の定量法では、同時に抽出されるトコン末の成分の影響によって、さらに沈殿法でモルヒネを析出させる段階で、エマルジョンを生ずることが多く、期待する定量値が得られないので、モルヒネを析出させるまえに、エタノール・クロロホルム混液 (1:3) で抽出し、トコン末成分から分離することで好結果を得た。これらの研究成果はいずれも JP VIII の定量法として採用された。

実験方法および実験結果

I JP VII アヘン散の定量法によるモルヒネの回収率

試料の調製

あへん インド産、モルヒネ含量 10.32% (JP VII アヘン末の定量法による定量値)

アヘン散 あへん (同上) 100g にデンプン適量を加えて 1000g にする。

アヘントコン散 あへん (同上) 100g にトコン細末 (JP VII) 100g とデンプン適量を加えて 1000g にする。

アヘン、トコン末混合物 あへん (同上) とトコン細末 (同上) の同量を混合する。

前記の各試料を JP VII アヘン散の定量法で定量した結果を Table 1 に示す。

Table 1 の * 印はモルヒネ析出段階で、エマルジョンを生成したものである。

これら合成試料からのモルヒネ回収率は、同様に処理した原料あへんの場合に比べて、エマルジョン生成をみないとき約10%回収率が下まわっている。われわれはこのモルヒネ回収率の低下が賦形剤であるデンプンへの吸着であることを、溶媒による抽出回数1~5回の場合の抽出液それぞれについて定量する方法で確かめた。

抽出回数別によるモルヒネの回収率

別のアヘン散合成試料 50g を用い、(i)~(v) の

Table 1. Content and recovery of morphine of the opium preparations obtained by means of JP VII assay method

Sample	Morphine content	Recovery
Diluted opium powder	0.911%	88.28%
Opium ipecac powder	0.903	87.50
	1.004*	97.27
Mixture of opium and ipecac powder (1:1)	5.28*	102.33
Opium (used for these preparations)	10.21	98.93

* Emulsion

方法で得られたろ液について JP VII アヘン散定量法で定量した結果を Table 2 に示す。

Table 2. Effect of repeated extraction on the recovery of morphine

Method	i	ii	iii	iv	v
Recovery	87.5%	93.8%	96.9%	98.7%	99.8%

方 法

(i) 希エタノール 250 ml を加え (溶媒割合は JP VII どり) 40° の水浴中で 1 時間かきまぜ、ガラスろ過器 (G3) を用いてろ過したろ液

(ii) (i) と同様の操作で得られたろ液、およびろ過器上の残留物をとの容器に移し、希エタノール 50 ml を加え、40° の水浴中で 10 分間かき混ぜ、さきのガラスろ過器でろ過したろ液を合わせたもの

(iii) (i) と同様の操作で得られたろ液および(ii)の「希エタノール 50 ml を加え」以下の操作を 2 回くり返して得た全ろ液を合わせたもの

(iv) (i) と同様の操作で得られたろ液および(ii)の「希エタノール 50 ml を加え」以下の操作を 3 回くり返して得た全ろ液を合わせたもの

(v) (i) と同様の操作で得られたろ液および(ii)の「希エタノール 50 ml を加え」以下の操作を 4 回くり返して得た全ろ液を合わせたもの

モルヒネ抽出法の検討

(i) 抽出溶媒 (希エタノール) の量を増した場合 試料 70 g を精密に量り、正確に希エタノール 700 ml (10 倍量) を加え、以下 JP VII 法を準用し定量する。

(ii) 完全抽出法

JP VIII アヘン散の定量法により定量する。

前記 (i) および (ii) の方法に従って定量した結果を Table 3 に示す。

Table 3. Recovery of morphine by means of two different ways

Method	Diluted opium powder		Opium ipecac powder	
	Morphine content	Recovery	Morphine content	Recovery
i	0.935%	90.60%	1.015*%	98.35%
ii	0.988	95.74	1.046*	101.36

* Emulsion

(i) 法のように希エタノール量を増加しただけでは、モルヒネの回収率は期待したほど高くない。しかしこれに反して (ii) 法のように希エタノールを用い、くり返し 5 回抽出すれば、モルヒネの回収率は JP VII 法による場合よりアヘン散では約 7.5%、アヘントコン散でも約 4% 増加させることができた。

II アヘントコン散定量法の検討

アヘン散の場合はまえに述べたように、全抽出法に改め、モルヒネの回収率を高めることができたが、アヘントコン散ではこのまま適用すると、同時に抽出されるトコン末の成分によって、モルヒネを沈殿させる段階でエマルジョンを生じ、その定量値に及ぼす影響は大きい。このエマルジョンをなくすためには、モルヒネをトコン成分から分離できる抽出能のすぐれた溶媒で抽出しなければならない。まずモルヒネの抽出に通常用いられる 2 種の溶媒について、検討した結果、これらはいずれも目的に沿うものであることがわかった (Table 4)。モルヒネの抽出は希エタノール抽出物を石灰抽出法で処理し、硫酸マグネシウムで精製したのちのろ液について行なった。

試料の調製

アヘントコン散 あへん (インド産、モルヒネ含量 9.67% JP VII アヘン末の定量法による) 100 g にトコン細末 (JP VII) 100 g とデンプン 適量を加えて 1000 g にする。

抽出溶媒

(i) エタノール: クロロホルム混液 (1:3)

(ii) イソプロパノール: クロロホルム混液 (1:3)

Table 4 で明らかなように、いずれの混液を用いても定量値に差がなく、またいずれの場合もエマルジョンの生成がないので、JP VIII には、塩酸モルヒネの定量法で用いられている溶媒 (i) を用いることになった。

Table 4. Recovery of morphine from opium and ipecac powder with the mixture of ethanol-chloroform (i) and of iso-propanol-chloroform (ii)

Solvent	Morphine content	Recovery
i	0.985%	101.86%
ii	0.977	101.03

考 察

以上の実験で、アヘン散、アヘントコン散のモルヒネ回収率を高めるために、賦形剤のデンプンに吸着されるモルヒネを十分抽出しなければならないことを明らかにした。このことは、これらの製剤に限ったこと

でなく、一般製剤の分析においても、主薬が賦形剤に吸着される量がかなり大きな場合があり、常に考慮されなければならない重大因子の一つである。

賦形剤からの溶出には、ただ溶媒の液量を増すだけでなく抽出回数を重ねることが必要であり、現段階ではまえに述べた全抽出法で解決をみた。しかしアヘントコン散のように2成分以上を含む製剤では、回数を増す全抽出法で、目的以外の成分もまた多く抽出され、主薬の定量を妨害する可能性も大きくなるので、主薬を分離するなどの方法の併用も必要になってきて、操作が複雑で時間がかかる難点が生じてくる。しかしアヘントコン散ではモルヒネを混液抽出し、トコン成分から分離し好結果を得た。

非水滴定法の麻薬類への応用（第1報）

塩酸モルヒネの定量

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

The Application of Non-aqueous Titration Procedure to Medicinal Narcotic Drugs. I Determination of Morphine Hydrochloride

Masako ŌNO, Mochihiko SHIMAMINE
and Kazunori TAKAHASHI

Recently, the official assay of morphine hydrochloride given in the majority of pharmacopoeia is by non-aqueous titrimetry.

In JP VIII, the traditional method still be applied for no other reason than that the secondary alkaloid which was found to be codeine (see Table 3 and Fig. 1), is estimated as morphine according to the direct non-aqueous method even though no available commercial samples here had codeine which are influential in their assay results (Table 2).

The present report describes the adaptation of non-aqueous titrimetry for the assay method and the purity test of secondary alkaloid. It was found that the content of morphine in the sample can be estimated only by simple calculation and in unfavorable cases where the sample contains not a few amount of codeine, better results are obtained consistently.

(Received May 31, 1971)

JP VIII 収載の麻薬のうち、塩酸モルヒネを除く原末（アヘン末は原末としない）にはすべて非水滴定法が採用された。塩酸モルヒネが従来の抽出、中和滴定法によったのは、夾雑のおそれがある他のアルカロイドをコデインとして、その夾雑が塩酸モルヒネ 0.5g に対し 0.02N 硫酸 1.25 ml に対応する量以下だけ許容されているからである（純度試験（6）他のアルカロイド）。したがって、もし現在のままで塩酸モルヒネ

を直接水酢酸に溶かして非水滴定法を行なうと、他のアルカロイドも同時に滴定されてしまうため不合理が生ずるというのがその理由であった。最近では、ほとんどの外国薬局方で塩酸モルヒネに非水滴定法が採用されてきている。日局においても現在の複雑な方法にかわる非水滴定法が矛盾なく行なわれるよう種々検討した結果について報告する。

実験方法および実験結果

試料 市販塩酸モルヒネ (JP VII 適品) I ~ IV

方法 つぎの方法で試料を定量し, JP VIII による定量値と比較した (Table 1).

非水滴定法 塩酸モルヒネ約 0.5 g を精密に量り, 非水滴定用氷酢酸 50 ml に溶かし, 非水滴定用酢酸第二水銀試液 10 ml を加え, 0.1 N 過塩素酸で滴定する (指示薬: 塩化メチルロザニリン試液 2 滴). ただし, 滴定の終点は液の紫色が青色を経て帯緑青色に変わるときとする. 同様の方法で空試験を行ない補正する.

0.1 N 過塩素酸 1 ml = 32.181 mg $C_{17}H_{19}O_3N \cdot HCl$

Table 1. Content of morphine hydrochloride in the samples I ~ IV obtained by two different ways

Method Sample	Content of morphine-HCl	
	Non-aqueous titration	JP VIII
I	99.74%	98.61%
	99.75	98.41
II	99.65	98.27
	99.52	98.27
III	99.81	98.47
	99.91	98.61
IV	100.01	98.55
	100.07	98.97

塩酸モルヒネ含量は非水滴定法で, 平均して約 1.3 %程度 JP VIII 法より高い値を与えたが, これは夾雑する他のアルカロイドが同時に滴定されたというだけではなく, JP VIII で用いられている複雑な溶媒抽出操作に基づくモルヒネの損失がなくなっているのが原因であると思われる. ここで試料に JP VIII の純度試験「他のアルカロイド」で許容される限度のものが含まれるとしたとき 0.02 N 硫酸 1.25 ml に対応する量が非水滴定で塩酸モルヒネとして計算され 1.60 %定量値が高くなることになる. しかし Table 1 で明らかなように, JP VIII 法の定量値には抽出によるモルヒネの損失があるのにもかかわらず, 非水滴定値から 1.6% を差し引いた量より高いのは, 夾雑する他のアルカロイド量がいずれの試料の場合も低いことを示している.

試料 I ~ IV 中の他のアルカロイド含量を実際に定量し確認した結果も同様であった.

他のアルカロイドの分離, 定量

定量法 JP VIII の純度試験「他のアルカロイド」の方法に従って, 得られるろ液 (クロロホルム液) に非水滴定用氷酢酸 10 ml を加え, 0.02 N 過塩素酸で滴定する (指示薬: 塩化メチルロザニリン試液 2 滴). 同様の方法で空試験を行ない補正する.

0.02 N 過塩素酸 1 ml = 6.717 mg $C_{18}H_{21}O_3N \cdot HCl$

実際滴定されるのはつぎに示すように塩酸コデインであるが, 分離されずに非水滴定された場合モルヒネとして滴定されることになるため, 塩酸モルヒネ対応量もあわせ Table 2 に示す.

Table 2. Content of secondary alkaloid by means of non-aqueous titrimetry

	0.02 N perchloric acid, required	as codeine hydrochloride	as morphine hydrochloride
I	0.04 ml	0.05%	0.05%
II	0.42	0.56	0.54
III	0.08	0.11	0.10
IV	0.13	0.17	0.17

定量法で得られたクロロホルムろ液を水浴上で蒸発乾固し, 残留物を少量のエタノールに溶かし, 薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーで確認した結果を Table 3 および Fig. 1 に示す. Table 3, Fig. 1 はコデインだけの夾雑であることを明らかにし, 他のアルカロイド許容限度をコデインを基準として定められたのは妥当である. しかし試料 II に対する 0.02 N 過塩素酸消費量が他の試料に比べて多いが, それでも塩酸モルヒネの定量値に影響を与えるほどの他のアルカロイド量ではなかった.

Table 3. R_f value of chloroform extract from strong alkaline solution of Morphine Hydrochloride

	R_f value	
Sample	0.12 (trace)	0.40
Morphine (std)	0.12	
Codeine (std)		0.40

Plate; Silica Gel G, 0.3 mm
Developer; Chloroform : Ethanol = 4 : 1
Spray reagent; Potassium iodoplatinate

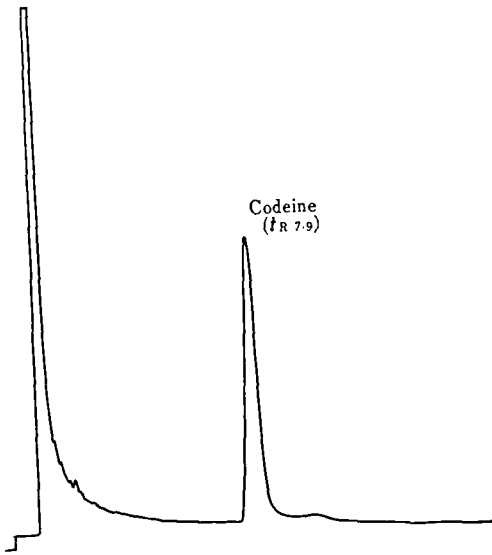


Fig. 1. Gas chromatogram of chloroform extract from strong alkaline solution of Morphine Hydrochloride

Column: OV-17, 3% Support: Shimalite W (80~100 mesh) I.D.: 3mm L.: 2m
Temp.: 250° Carrier Gas: N₂ Flow R.: 50 ml/min Press: 2 kg/cm²G H₂ Flow R.: 60 ml/min Air Flow R.: 1 l/min Range: 0.2 Sens.: 100 Appar.: Shimadzu GC 3AF

この純度試験は、まだ塩酸モルヒネに定量法がなかった JP VI に採用された規格そのまま、現在市販の塩酸モルヒネの品質についての実情からかけはなれた規格であるといえる。外国薬局方の例を Table 4 に示したが、規格中は別に問題にすることにし、それ以前に前記のように他のアルカロイドを非水滴定で定量し、塩酸モルヒネに換算し、塩酸モルヒネの非水滴定値から差し引く方法をとれば、塩酸モルヒネを他の原本同様迅速、簡単な非水滴定法に改めることができると思われる。

Table 4. The upper limit of secondary alkaloid in morphine hydrochloride

Pharmacopoeia	Secondary alkaloid permitted
JP	1.49%
BP	1.5
IP	1.49
USP	1.49
USSRP	0.6
DAB (O)	0.75

考 察

JP VII 適品の塩酸モルヒネは、夾雑する他のアルカロイドが純度試験「他のアルカロイド」で規定された量に比べて著しく少なかったため、直接非水滴定法によって定量してもその定量値に影響がなかった。もしこの純度試験の項を残すにしても、これを非水滴定法に改めれば、塩酸モルヒネの定量値から差し引き補正して含量計算することができる。すでに JP VIII に収載された塩酸ペチジン、リン酸コデインおよびリン酸ジヒドロコデインの製剤に非水滴定法が採用されているが、これはこれらの塩基がいずれもクロロホルムに溶けやすいため、賦形剤から容易にクロロホルムに抽出される利点があったためであるが、モルヒネはクロロホルムに溶けにくい（約 75%）、その製剤からのモルヒネ抽出には通常エタノール・クロロホルム混液（1:3）を用いなければならない、したがって非水滴定法によるためには溶媒を蒸発乾固する操作を行わなければならないので、現在の方法を改良したことにはならず、塩酸モルヒネ注、塩酸モルヒネ錠およびモルヒネアトロピン注など塩酸モルヒネ製剤への応用にはさらに検討が必要である。

非水滴定法の麻薬類への応用 (第 2 報)
塩酸アヘンアルカロイド中の他のアルカロイドの定量

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

*The Application of Non-aqueous Titration Procedure
to Medicinal Narcotic Drugs. II
Determination of Secondary Alkaloids
in Opium Alkaloids Hydrochlorides*

Masako ÔNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

Non-aqueous titrimetry was applied successively to estimate the secondary alkaloids in opium alkaloids hydrochlorides.

The content of the secondary alkaloids in the sample should be defined by the volume (ml) of 0.1 N perchloric acid required in this titration.

This report also describes on the effect of alkalinity at which the extraction of secondary alkaloids takes place.

By our proposed method, better results are obtained than by existing gravimetry of JP VIII.

The method is rapid and accurate.

(Received May 31, 1971)

塩酸アヘンアルカロイドは 47.0~52.0% のモルヒネおよびコデイン、ノスカピンなど他のアヘン主要アルカロイドの塩酸塩を含むものであるが、以前から他のアルカロイド含量を規制する必要性が認められながら、これまでモルヒネの定量法だけしか定められていなかった。

八局改正にあたり、他のアルカロイド定量法が検討され、重量法で含量を測定することになったが、われわれがさらに検討を加えた結果、ソ連局方第 10 版 Omnopon の他のアルカロイド定量法¹⁾の場合と同じように、非水滴定法によるほうが迅速、かつバラツキも少なく定量できることがわかった。

またアルカリ濃度の他のアルカロイド抽出に与える影響を検討し新たな知見を得た。

九局改正の参考資料として役立つと思われるので報告する。

実験方法および結果

1. 重量法と非水滴定法の比較

試料

塩酸アヘンアルカロイド (日局Ⅶ適品)

試験方法

A : 日局Ⅷ塩酸アヘンアルカロイド中の他のアヘンアルカロイド定量法 (重量法)

B : 非水滴定法 A 法と同様にして得たクロロホルム抽出液と洗液をとり、あらかじめクロロホルムで潤したろ紙でろ過したろ液約 170 ml を水浴上で加熱し、約 50 ml になるまで濃縮したのち、非水滴定用水酢酸 10 ml を加え、0.1 N 過塩素酸で滴定する (指示薬 : 塩化メチルロザニリン試液 2 滴)。同様の方法で空試験を行ない補正する。

他のアルカロイド含量は、他のアルカロイドが薄層クロマトグラフィーの結果明らかなように (Fig. 1) ノスカピン、パバベリン、コデイン、テバインなどから成り、またこれら相互の割合も、原料として用いられたアヘンによって異なるはずであるため、滴定に用いられた 0.1 N 過塩素酸の消費 ml 数であらわすべきである。したがって含量規定は 0.1 N 過塩素酸 ____ ml ~ ____ ml であるという表現になる。

A, B 両法による定量値を Table 1 に示すが、B 法の場合、他のアルカロイド中最も含量の高いノスカピン ($C_{22}H_{23}NO_7$) として計算し、参考値として付記した。

B 法では A 法のクロロホルム留去の時間が短縮され、105° で 4 時間乾燥する操作が省けるため、速かに定量され、Table 1 で明らかなように定量値のバラツキも少ない。

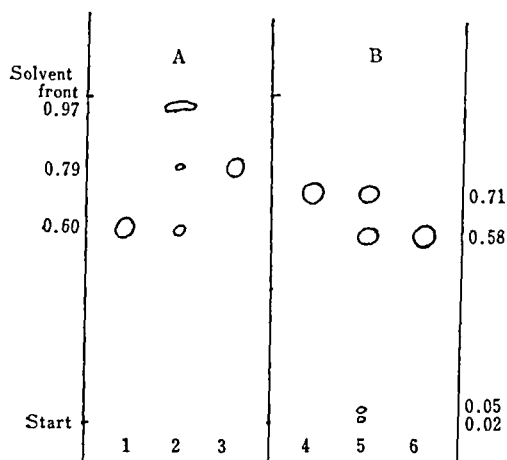


Fig. 1. Thin-layer chromatogram of chloroform extracts of opiates

Plate: Silica Gel G

Developer A: Chloroform : methanol = 4 : 1

B: Chloroform : acetone = 3 : 1

Location reagent: Potassium iodoplatinate spray

1: Codeine

2, 5: Chloroform extracts from strong alkaline solution of Opium Alkaloids Hydrochlorides

3: Thebaine

4: Noscapine

6: Papaverine

Table 1. Content of secondary alkaloids in Opium Alkaloids Hydrochlorides obtained by two different ways

Sample	Method	B	
		A	0.1 N HClO ₄ required
Opium Alkaloids Hydrochlorides (JP VII)		35.02%	8.68 ml
		36.23	8.70
		36.58	8.84
		$\bar{x}$ 35.98	$\bar{x}$ 8.74
			as noscapine
			35.87%
			35.96
			36.55
			$\bar{x}$ 36.13

A: JP VIII (gravimetry)

B: Non-aqueous titration

2. 定量法中アルカリ濃度の他のアルカロイド定量値に及ぼす影響

塩酸アヘンアルカロイドのモルヒネ以外のアルカロイド中、最も含量の高いのはアヘンの場合と同様ノスカピンである。したがって、定量法中とくに留意されなければならないのは、ノスカピン回収率である。

塩酸モルヒネの定量法で、モルヒネの損失なくモル

ヒネからコデインだけを除去する条件として、水酸化ナトリウム試液でアルカリ性にし、クロロホルム抽出を行なっているが、このとき加えられる水酸化ナトリウム試液の量はA, B法の場合の約1/5量である。水酸化ナトリウムのアルカリ性が弱いと、モルヒネが一部クロロホルムに抽出されるおそれがあるが、ここではクロロホルム抽出液を希水酸化ナトリウム試液で洗浄することで、クロロホルムへのモルヒネの移行を防いで好結果を得ている。

ノスカピンは強いアルカリ性でラクトン環が開裂するおそれがあり、A, B法によるアルカリ濃度で回収率が低かった。そこで塩酸モルヒネからコデインを抽出する最もよい条件でのノスカピンの回収率の検討を行なった。

試料

(I): 塩酸ノスカピン(日局VII適品, 純度99.98%)

(II): (I) 0.5 g + 塩酸モルヒネ(日局VII適品, 純度 98.66%) 0.5 g

試験方法

C: B法の水酸化ナトリウム試液 25 ml のかわりにその 5 ml を用い、クロロホルム 50 ml, 40 ml, 30 ml および 20 ml で抽出する。全抽出液を合わせ、希水酸化ナトリウム試液 10 ml, ついで水 10 ml で洗ったのち、あらかじめクロロホルムで潤したろ紙でろ過する。ろ液約 170 ml につきB法と同様に操作する。

D: B法の水酸化ナトリウム試液 25 ml のかわり

Table 2. Effect of alkalinity on the extraction of noscapine hydrochloride

Sample	Method	Recovery		
		B	C	D
Noscapine Hydrochloride 0.5g		97.12%	99.71%	100.01%
		96.45	99.54	100.16
		97.42	99.54	99.90
		$\bar{x}$ 97.00	$\bar{x}$ 99.60	$\bar{x}$ 100.02
Noscapine Hydrochloride 0.5g + Morphine Hydrochloride 0.5g			99.53%	
			99.72	
			99.78	
			$\bar{x}$ 99.68	

B: 25 ml of sodium hydroxide T.S. is added to make alkaline

C: 5 ml of sodium hydroxide T.S. is added to make alkaline

D: 10 ml of ammonia T.S. is added to make alkaline

にアンモニア試液 10 ml を用いる。

B～D法による試料からの塩酸ノスカピン回収率は Table 2 のとおりで、アルカリ濃度が高いとき、低い値を示す。

モルヒネはアンモニアのアルカリ性でクロロホルムに抽出されるので、D法は実際の目的にはそわないが、アルカリのノスカピン回収率への影響を比較する目的で付記した。

この結果は他のアルカロイド抽出に用いる水酸化ナトリウム試液の量が 5 ml であるべきことを示している。

以上の実験から非水滴定法による他のアルカロイドの定量法は、B法における抽出条件に改良を加え、つぎのようになさなければならない。

塩酸アヘンアルカロイド

他のアルカロイド定量法

〔改良法〕 本品約 1 g を精密に量り、水 20 ml を加えて溶かし、水酸化ナトリウム試液 5 ml を加え、クロロホルム 50 ml, 40 ml, 30 ml, および 20 ml で抽出する。全抽出液を合わせ、希水酸化ナトリウム試液 10 ml, ついで水 10 ml で洗ったのち、あらかじめクロロホルムで潤したろ紙でろ過する。洗液はさらにクロロホルム 5 ml ずつで 2 回抽出し、抽出液をさきのろ紙でろ過し、さきのろ液に合わせる。ろ紙をクロロホルム 5 ml ずつで 4 回洗い、洗液をろ液に合わせ、

水浴上で加熱し、約 50 ml になるまで濃縮したのち、非水滴定用氷酢酸 10 ml を加え、0.1 N 過塩素酸で滴定する（指示薬：塩化メチルロザニリン試液 2 滴）。同様の方法で空試験を行ない補正する。

考察および結論

日局Ⅷでは重量法で測定するため、抽出されたアルカロイドから溶媒を完全に留去後、さらにその残留物を 105° で 4 時間乾燥するが、その乾燥物の外観が淡黄色～黒っぽい色を呈し、定量値がばらつき、他のアルカロイドの一部分解も考えられるし、定量に要する時間も長くなる。改良法では迅速化されただけでなく、他のアルカロイドの回収率を高めることもできた。

非水滴定法によるとき、他のアルカロイドの含量規定の表現は、他のアルカロイドが数種のアルカロイドから成るため、滴定に要した 0.1 N 過塩素酸の消費 ml 数で示すほかない。ソ連局方でも他のアルカロイドの含量を 0.1 N 過塩素酸の消費量で表わし、8.3～9.2 ml と規定している。

他のアルカロイド中最も含量の高いノスカピンの回収率を、アルカリ濃度を低くすることで 3 % 高めることができた。

文 献

- 1) USSRP X, p. 493

非水滴定法の麻薬類への応用（第3報）
アヘンアルカロイドアトロピンパパベリン注射液中の
塩酸パパベリンの定量

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

*The Application of Non-aqueous Titration Procedure
to Medicinal Narcotic Drugs. III
Determination of Papaverine Hydrochloride in Opium Alkaloids
Hydrochlorides, Atropine and Papaverine Injection*

Masako ÔNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

A precise, accurate and comparatively rapid non-aqueous titration for the determination of papaverine hydrochloride in Opium Alkaloids Hydrochlorides, Atropine and Papaverine Injection of JP VIII is described and the results are presented in Table 1.

As the "Assay" for papaverine hydrochloride in its preparations, non-aqueous titration method described here is much more suitable than the existing gravimetric procedure.

(Received May 31, 1971)

日局Ⅷ「アヘンアルカロイドアトロピンパパベリン注射液」（オビパ注射液）中の塩酸パパベリンの定量法は、日局Ⅶの重量法がそのまま適用されている。著者らはさらに「塩酸アヘンアルカロイド」中の他の

アルカロイドを非水滴定で定量する方法について述べたが¹⁾、本品中の塩酸パパベリンの定量にも非水滴定法を用い、時間短縮とともに好結果を得たので、ここに報告する。

Table 1. Content of papaverine hydrochloride in the samples I~IV

Sample Method	I	II	III	IV
A	2.04 w/v%	2.03 w/v%	1.99 w/v%	0.02 w/v%
	2.03	2.01	2.00	0.02
	2.01	2.00	1.99	0.03
	$\bar{x}$ 2.03	$\bar{x}$ 2.01	$\bar{x}$ 1.99	$\bar{x}$ 0.02
B	2.02	2.00	1.99	0.02
	2.03	2.01	1.99	0.02
	2.02	2.01	2.00	0.02
	$\bar{x}$ 2.02	$\bar{x}$ 2.01	$\bar{x}$ 1.99	$\bar{x}$ 0.02

A: JP VIII

B: Non-aqueous titration

I: Opium Alkaloids, Atropine and Papaverine Injection

II: Opium Alkaloids Hydrochlorides 10g

Papaverine Hydrochloride 20g

Distilled Water a sufficient quantity

To make 1000 ml

III: 2% Papaverine Hydrochloride solution

IV: 1% Opium Alkaloids Hydrochlorides solution

実験方法および結果

試料

I : オピパ注射液 (日局Ⅶ適品)

II : オピアルパバリン溶液

調製法 塩酸アヘンアルカロイド 10 g

塩酸パババリン 20 g

蒸留水 適量

全量 1000 ml

III : 2%塩酸パババリン溶液

IV : 1%オピアル溶液

試験方法

A : 日局Ⅶオピパ注の塩酸パババリン定量法 (重量法)

B : A法に従って得られたろ過した全ベンゼン抽出液 (ろ液, 洗液) を無水硫酸ナトリウムで乾燥後, 非水滴定用氷酢酸 10 ml を加え, 0.1 N 過塩素酸で滴定する (指示薬: 塩化メチルロザニリン試液 2 滴). 同様の方法で空試験を行ない補正する.

0.1 N 過塩素酸 1 ml = 37.586 mg $C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$

前記試料中の塩酸パババリン含量を A, B 法で測定した結果を Table 1 に示す.

考察および結論

オピパ注射液中の塩酸パババリンの定量法として, 日局Ⅶの重量法と非水滴定法とを比較した. 定量値にはほとんど差がなく, またベンゼン抽出液中にこの非水滴定を妨げるものは含まれず (Table 1, Sample IV), かつベンゼン溶液を蒸発しないでそのまま滴定できることが明らかである.

本法によれば定量値のバラツキも少なく, 日局Ⅶ定量法中の蒸発操作および残留物の 3 時間乾燥の必要がないので簡単, 迅速化された改良法といえる.

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 89, 78 (1971)

ステロイドの試験法 (第 4 報)*

2, 3-Diphenyl-5-(p-Diphenyl)-Tetrazolium Chloride (DDT)

による副腎皮質ホルモンの比色定量

越 村 栄 之 助

Analysis of Steroids. IV

Quantitative Analysis of Corticoids

by 2, 3-Diphenyl-5-(p-Diphenyl)-Tetrazolium Chloride

Einosuke KOSHIMURA

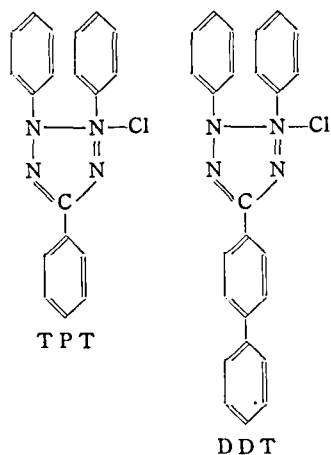
The quantitative analysis of hydrocortisone by DDT [2, 3-diphenyl-5-(p-diphenyl)-tetrazolium chloride] is shown as follows: Add each 2 ml of ethanolic DDT solution (30 mg of DDT is boiled with 20 ml of ethanol, cooled and filtrated) and ethanolic tetramethylammoniumhydroxide solution (0.5→100) to 20 ml of ethanolic hydrocortisone solution. Mix well and allow to stand for 90~150 minutes at 40° under dark. Measure the absorbance of the solution at 492 mμ. The sensitivity is almost the same or slightly higher than that of triphenyltetrazolium chloride.

(Received May 31, 1971)

トリフェニルテトラゾリウム (TPT) がアルカリ性で, α-ketol によって還元され, 赤色の formazan を生じる反応は, 日局¹⁾ その他の副腎皮質ホルモンの定

量に利用されている. 米局²⁾ では, TPT より 2~数倍感度が高いブルーテトラゾリウム (BT) が用いられている. アルカリは, テトラメチルアンモニウムヒドロキシド (TMAH) のエタノール溶液を一般に用いる. 著者は TPT に構造類似の 2, 3-diphenyl-5-(p-

* 第 3 報は越村栄之助: 衛生試報, 88, 64 (1970)



diphenyl)-tetrazolium chloride (DDT) を入手し、本品による副腎皮質ホルモンの比色定量を行なったので報告する。

1. 実験材料

TPT・エタノール溶液 (0.5→100)

BT・エタノール溶液 (0.5→100)

DDT・エタノール溶液：DDT 30 mg にエタノール 20 ml を加えて加熱し、冷後ろ過する。

TMAH・エタノール溶液 (0.5→100 および 1→100)

ヒドロコルチゾン溶液：エタノール 20 ml 中に 50, 100, 200, 300 および 400 μ g をそれぞれ含む。

2. 実験方法

ヒドロコルチゾン溶液 20 ml を正確にとり、DDT・エタノール溶液 2 ml を正確に加え、つぎに TMAH・エタノール溶液 (0.5→100) 2 ml を正確に加えて混和し、遮光して 40° に放置したのち、吸光度を測定する。対照はエタノール 20 ml をとり、同様に操作した液を用いる。TPT および BT を用いるときは、日局および米局の方法により操作する。

3. 実験結果

3.1 発色液の吸光曲線

Fig. 1 に示す。

波長 492 $m\mu$ に吸収の極大を示す。

3.2 加温時間と発色の強さ

Fig. 2 に示す。

90~150分の間の発色が最も強く、また安定である。

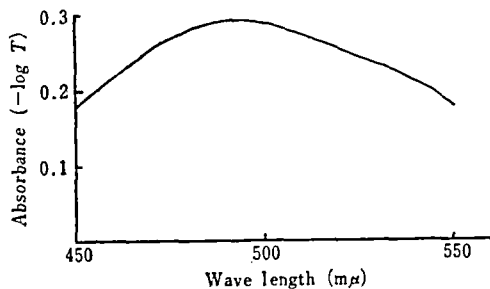


Fig. 1. Absorption spectrum of DDT

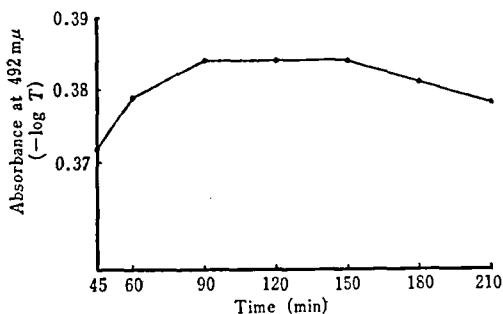


Fig. 2. Rate of color development

3.3 検量線

Fig. 3 に示す。

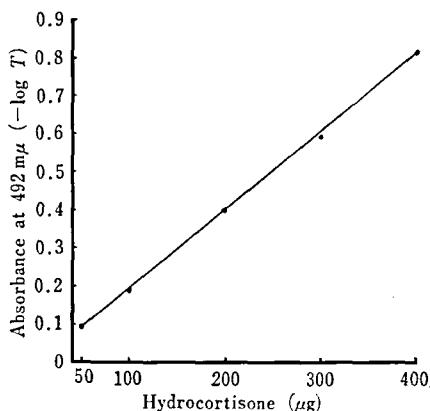


Fig. 3. Calibration curve of DDT

50~400 μ g の間で直線を示す。

Table 1. Uniformity of color development

Sample No.	1	2	3	4	5	Mean
Hydrocortisone (μ g)	200	200	200	200	200	
-logT	0.391	0.396	0.396	0.391	0.393	0.393
%	99.5	100.8	100.8	99.5	100.0	100.1

3.4 ばらつき

等しい量の試料を 5 個同時に発色させたときのばらつきを Table 1 に示す。

誤差は約 1% である。

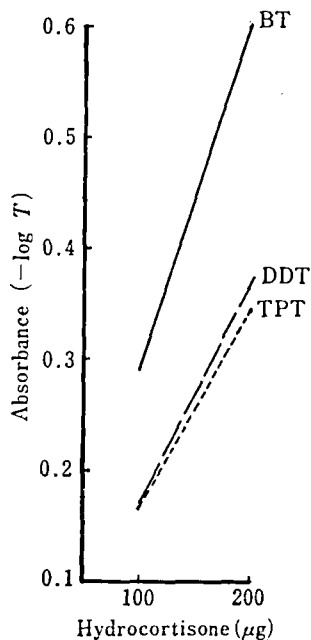


Fig. 4. Comparison of calibration curves of DDT, TPT and BT

3.5 他のテトラゾリウム化合物との比較

Fig. 4 に示す。

TPT とほぼ等しいか、あるいはわずかに感度が高いが、BT にくらべるとかなり低い。

4. 結 論

DDT を用いてヒドロコルチゾンの定量をつぎのように行なうことができる。

ヒドロコルチゾンのエタノール溶液 20 ml (ヒドロコルチゾン 200~300 μg を含む) をとり、DDT・エタノール溶液 (DDT 30 mg にエタノール 20 ml を加えて加熱し、冷後ろ過する) 2 ml および TMAH・エタノール溶液 (0.5→100) 2 ml を加えて混和し、遮光して 40° で 90~150 分間放置し、層長 10 mm で波長 492 mμ における吸収を測定する。対照は、エタノール 20 ml をとり、同様に操作した液を用いる。

DDT は東京化成から提供されたものである。また実験には、川村次良標準品製造室長の援助を頂いた。

文 献

- 1) 第 7 改正日本薬局方, p. 42 (昭和 36 年)
- 2) USP XVII, p. 887 (1965)

医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究（第5報）

医療用塩化ビニル樹脂中の重金属について（その2）*

堀部 隆・水町彰吾・大場琢磨

Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. V
Examination on Heavy Metals in Polyvinyl Chloride
Resin for Medical Use. (2)

Takashi HORIBE, Shōgo MIZUMACHI and Takuma ŌBA

1. It was found by use of polarography that, four polyvinyl chloride sheets for blood bag contained from 77 $\mu\text{g/g}$ to 484 $\mu\text{g/g}$ of zinc.

2. The zinc contents in ACD extracts of PVC sheets were determined under ammonia-alkaline condition by polarography without any interference of Pb and Cd.

3. It was concluded that the metal stabilizers in PVC sheets were more extractive into ACD solution than water.

Moreover, the difference among elution rate based on kinds of metals in PVC sheets were determined.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

塩化ビニル（塩ビ）樹脂製血液セットの原料シート中の重金属のうち、鉛およびカドミウムについては藤井ら²⁾、佐藤ら³⁾、著者ら³⁾の報告があり、また前報⁴⁾では、それらの鉛および亜鉛含量、ACD液中への重金属の溶出について報告したが、今回は前報に引続いて溶出率の比較検討を行なったので報告する。

実 験 の 部

1. 試料 (I) Table 1 に示す配合をした塩ビシート 3 種 (a, b, c).

(II) 血液セット製造用原料シート 4 種 (d, e, f, g).

Table 1. Composition of prepared PVC sheets

Sample	Stabilizer	Amount of stabilizer (g) added to PVC* (100 g) and DOP* (50 g)
a	Pb-Stearate	2.2059
b	Cd-Stearate	1.8738
c	Zn-Stearate	1.1407

* Polyvinyl chloride * Dioctyl phthalate

* 前報〔堀部隆，水町彰吾，大場琢磨：衛生試験，88，11（1970）〕を（その1）とする。

2. 実験装置 柳本製交直両用ポーログラフ PA-101 型

3. ACD 血液保存液の組成⁵⁾

クエン酸ナトリウム ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 22.0 g

クエン酸 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 8.0 g

ブドウ糖 ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) 22.0 g

水を加えて 1 l にする。

4. 金属標準液 金属を酸に溶解して調製する⁴⁾。

5. 実験方法 前報⁴⁾の実験方法 I ポーログラフ法

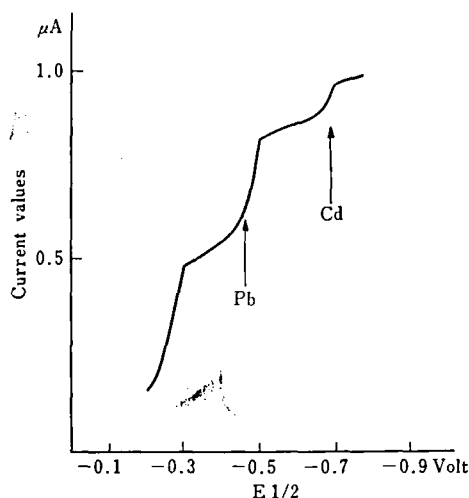


Fig. 1. Polarogram of Pb and Cd in PVC

(1) 鉛, (2) 亜鉛, (3) 血液保存液抽出液のポーラログラムと同じ。

6. 実験結果

(1) 鉛およびカドミウムの試験: Fig. 1 にポーラログラムの 1 例を示す。

(2) 試料 (II) の灰化物中の亜鉛の定量: 前報に示したとおり, 試料を灰化し, これに硝酸を加え, 水浴上で蒸発して, 残留物に 1 N KCl を加えて水浴上で加温し, 冷却後ろ過する。ろ液を常法によりポーラログラフィーで定量する。

この結果は Table 2 および Fig. 2 に示す。

Table 2. Polarographic determination of Zn in PVC sheets for blood bag

Sample	E 1/2 (volt)	Current values (μ A)	Amount of Zn
d	-1.05	0.7	77
e	-1.14	3.1	340
f	-1.12	3.2	352
g	-1.11	4.4	484
Zn standard solution	-1.12	9.1	1,000

(3) アンモニア・アルカリ性液による溶出液中の金属の挙動: 塩ビシートに安定剤としてステアリン酸亜鉛を配合した場合, ACD 液による酸性溶出液では還元波を示さないので, この液にアンモニア水を加えて,

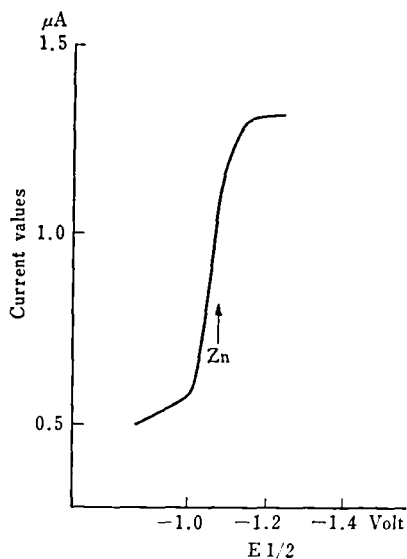


Fig. 2. Polarogram of Zn in PVC

アルカリ性にしたのち測定した。その結果は Table 3 に示すとおりで, 他の金属の波は亜鉛の波に妨害を与えないことがわかった。

(4) ACD 液による溶出液中の金属の定量: ACD 液および水を用い, 100°, 30分間抽出を行なったとき, 溶出液中に移行した金属の含量および溶出率は Table 4 に示す結果をえた。ただし, ステアリン酸亜鉛を安定剤としてシートに含む場合は前記 (3) の結果を利用し, アルカリ性で測定した。

Table 3. Polarographic data of eluted metals from PVC sheets in ACD solution after ammonia-alkalization

Sample	Stabilizer	D.C. E 1/2 (volt)	D.C. Current value (μ A)	A.C. E _{max} (volt)	A.C. Conductance (μ U)
a	Pb-Stearate	-0.43	0.53	-0.39	83
b	Cd-Stearate	-0.69	0.07	-0.63	1
c	Zn-Stearate	-1.20	0.52	-1.20	9

Table 4. Assay of eluted metals in ACD solutions and water by polarography

Sample	Stabilizer	Added into sheet (ppm)	Found in ACD solution		Found in water	
			amount (ppm)	eluted percent	amount (ppm)	eluted percent
a	Pb-Stearate	4,000	51	1.3	0.8	0.02
b	Cd-Stearate	2,000	424	21.2	1.4	0.07
c	Zn-Stearate	800	32	4.0	0	0

考 察

前報でも考察したが、ACD 血液保存液は水に比べて塩ビシート中の金属安定剤が移行しやすく、鉛の場合 60 倍、カドミウムの場合 300 倍、亜鉛の場合 32 倍以上であった。これは血液保存液中にクエン酸およびクエン酸ナトリウムが含まれていることに起因する。それゆえ、血液セット用塩ビシート中への金属安定剤の添加はこの点に留意して行なうことが望ましい。

結 論

1. 血液セット用塩ビシート中より $77 \mu\text{g/g} \sim 484 \mu\text{g/g}$ の亜鉛を検出することができた。
2. 塩ビシートの ACD 溶出液をアルカリ性にしたのち、ポーラログラフィーで溶出液の亜鉛を、鉛およびカドミウムの妨害を受けることなく定量することが可

能であった。

3. 塩ビシート中の金属安定剤は、水より ACD 血液保存液に移行しやすいことを確かめ、さらに各金属の種類による溶出率の差を測定した。

なお、この報告は日本薬学会第90年会において講演した。

文 献

- 1) 藤井正道, 佐藤寿, 島峯望彦: 衛生試験, 83, 63 (1965)
- 2) 佐藤寿, 島峯望彦: 衛生試験, 85, 125 (1967)
- 3) 堀部隆, 水町彰吾, 菊地寛: 衛生試験, 86, 122 (1968)
- 4) 堀部隆, 水町彰吾, 大場琢磨: 衛生試験, 88, 11 (1970)
- 5) 塩化ビニル樹脂製血液セット入り血液保存液基準: 昭和39年4月2日厚生省令第15号

ブドウ糖注射液の理化学試験について

岡田敏史・伊賀宗一郎・植岡澄子・伊阪 博

Studies on Physico-Chemical Examination of Glucose Injection

Satoshi OKADA, Sōichirō IGA, Sumiko UEOKA
and Hiroshi ISAKA

The authors have studied on the decomposition of glucose solution by sterilization and all of the glucose injections submitted to our laboratory during 1970 were tested more precisely, and the following results were obtained:

1. It was found that there might be a negative correlation between pH and the concentration of 5-hydroxymethyl furfural (HMF) in 5 and 20% glucose injection.
2. There was no significant correlation between pH and 3-deoxyglucosone (3-DG) in 5% glucose injection.
3. It was observed that pH of various concentration of glucose injections decreased with the increase of glucose concentration.

From these results, it was concluded that the quality of glucose injections (pH, decomposition products, etc.) might be mainly depended on the sterilizing conditions.

(Received May 31, 1971)

緒 言

ブドウ糖は水溶液中で加熱すれば容易に分解し、種々の反応生成物をつくるが、特に、5-hydroxymethyl furfural [I] や 3-deoxyglucosone [II] を生成し、[I] はさらに分解してギ酸 [III] やレブリン酸 [IV] を生成し、その結果ブドウ糖液の pH が低下することはす

でよく知られている。

すなわち、Wolfson ら¹⁾ はブドウ糖溶液の加熱により [I] および [II] が生成し、これらは $284 \text{ m}\mu$ および $228 \text{ m}\mu$ にそれぞれ特定吸収を示すことを明らかにし、その反応条件と機構について検討した。また、高木ら²⁾ はブドウ糖注射液について同様な実験を行ない、[III] および [IV] の生成と pH の関係について検討

を行なっている。

一方、ブドウ糖注射液は国家検定品目として発熱性物質試験および理化学試験が課せられているが、加熱滅菌を加えた注射液にはこれらの反応生成物が当然混在するものと考えられるが、JP VII³⁾ にはこれらの試験は記載されておらず、BP (1968)⁴⁾ にはのみ [I] の UV 吸収による限度試験が記載されている。

著者らはブドウ糖注射液の理化学試験に従事する過程で上述の事実に興味をもち、当所における被験品の調査と若干の基礎実験を行なったので以下にその結果を報告する。

実験材料と方法

- (i) 試料：1) ブドウ糖溶液の調製——半井化学製ブドウ糖 (JIS 特級) を注射用蒸留水に溶解し 5, 10, 20% 濃度溶液を作製する。濾過後 20 ml アンプルに充填融封し、各項記載の方法で滅菌を行ない試料とした。
2) 5-hydroxymethyl furfural (HMF)——東京化成製 HMF を減圧蒸留 (110°, 0.02 mmHg) により精製した。
3) 昭和 45, 46 年度国家検定用ブドウ糖注射液 (5, 10, 20, 40, 50%) を試料とした。
(ii) pH 試験：東亜電波 HM-8 型 pH メーターを用いて pH 測定を行なった。
(iii) UV 吸収の測定：日立自記分光々度計 EPS-3、島津分光々度計 QV-50 を用いた。

実験結果と考察

[I] 5-hydroxymethyl furfural (HMF) の UV 吸収スペクトル

精製 HMF の UV 吸収スペクトルと濃度——吸光度 ($\lambda_{\max}$ 284 m μ) の関係を求め、Fig. 1(A) および Fig. 1(B) にそれぞれ示した。

Major peak は 284 m μ に、minor peak は 228 m μ に認められ、分子吸光係数はそれぞれ 15800, 3560 で Wolf from ら¹⁾ の値とはほぼ一致している。また、Fig. 1(B) に示したように 1.0×10^{-5} Mol から 9.0×10^{-5} Mol までの区間で Beer の法則が成立する。

[III] 加熱によるブドウ糖溶液の UV 吸収スペクトルの変化

5, 10, 20% ブドウ糖溶液を調製し、115° (1.7 気圧), 60 分間加熱後それぞれの UV 吸収スペクトルを測定したところ、Fig. 2 に示すような成績が得られた。

すなわち、各濃度のブドウ糖液とも上述の滅菌条件で容易に 228 m μ および 284 m μ に極大吸収を示す

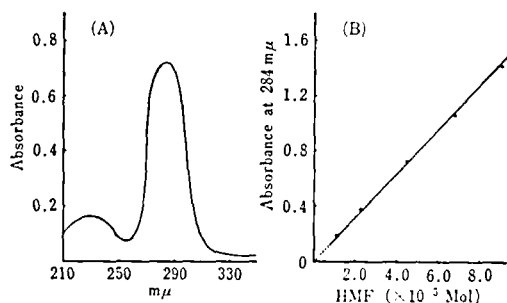


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum and calibration curve for 5-hydroxymethyl furfural (HMF)

(A): Ultraviolet absorption spectrum of 4.54×10^{-5} M HMF

(B): Relationship between concentration of HMF and absorbance at 284 m μ

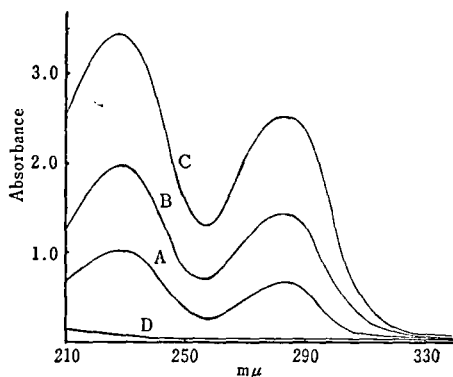


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of glucose solution after sterilization

Curve A: 5% glucose solution, Curve B: 10% glucose solution, Curve C: 20% glucose solution, Curve D: control (10% glucose solution)

Condition of sterilization: 115° (1.7 atm.) for 60 min

物質の生成が推定され、ブドウ糖濃度の増加につれてその生成割合は大きくなっている。

二つの極大吸収のうち 284 m μ の吸収は Fig. 1 に示した HMF の極大吸収に一致する。また、228 m μ の吸収は Wolf from ら¹⁾ によればブドウ糖→HMF への分解過程に現われる中間体、3-deoxyglucosone (3-DG) の特定吸収を示すものと考えられる。

20% ブドウ糖液中における HMF および 3-DG 濃度を Fig. 1(B) に示した検量線および Anet⁵⁾ の報告している分子吸光係数 $\epsilon = 7000$ を用いてそれぞれ計算すると、HMF = 0.002 g %, 3-DG = 0.0066 g % となる。

[III] 滅菌時間によるブドウ糖溶液の pH と UV 吸収の変化

前述の実験より通常の滅菌条件下でブドウ糖は容易に加熱分解をうけ微量の HMF および 3-DG の生成が UV 吸収により認められたが、同時に HMF がさらに分解して酸性物質(ギ酸およびレブリン酸)の生成が推定されるため⁶⁾, HMF および 3-DG の産生に対応するブドウ糖液の pH の変化を追跡した結果を Fig. 3 に示した.

滅菌時間が長くなるにつれて pH は低下する. また加熱温度, 圧力を高くするとき pH の低下傾向はますます著しい. 一方, 228 m μ および 284 m μ の極大吸収は, pH 変化とは逆に, 加熱時間を長くするにつれて大きくなる.

このことからブドウ糖の分解反応の進行とともに酸性物質の生成が推定される.

[IV] ブドウ糖注射液の pH 試験成績

昭和 45 年度に国家検定を実施した「ブドウ糖注射液」の pH 試験成績を濃度別, 製造所別にまとめて平均値と標準偏差, 変動係数を算出して Table 1 に示した.

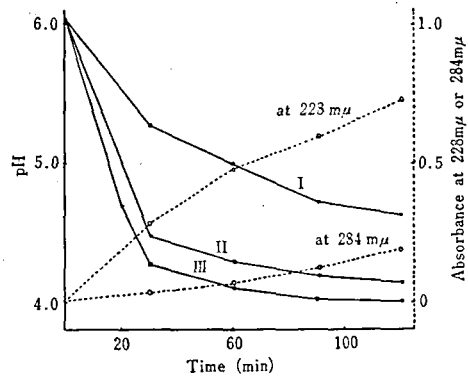


Fig. 3. Effect of sterilization time on pH and the absorbance at 228 and 284 m μ in 5% glucose solution

Sterilization procedure was done under the following conditions; Curve I: 100° (1.0 atm.), Curve II: 115° (1.7 atm.), Curve III: 121° (2.0 atm.)

Absorbance at 228 and 284 m μ were shown only in case of Curve I

—: pH,: absorbance at 228 and 284 m μ

Table 1. Results of pH test performed to glucose injections in various concentrations from different manufacturers, examined in 1970

Manufacturer	Concentration of glucose			
	5%	10%	20%	50%
A	4.46 $\pm$ 0.38* (n=140, 8.5%)	—	4.22 $\pm$ 0.14 (n=78, 3.4%)	—
B	4.54 $\pm$ 0.16 (n=169, 3.4%)	4.43 $\pm$ 0.16 (n=8, 3.7%)	4.45 $\pm$ 0.10 (n=162, 2.3%)	4.17 $\pm$ 0.07 (n=7, 1.7%)
C	4.79 $\pm$ 0.09 (n=79, 1.9%)	—	—	—
D	4.42 $\pm$ 0.07 (n=6, 1.6%)	—	4.11 $\pm$ 0.09 (n=89, 2.3%)	3.85 $\pm$ 0.08 (n=6, 2.0%)
E	—	—	4.88 $\pm$ 0.15 (n=44, 3.1%)	—
F	—	—	4.55 $\pm$ 0.14 (n=13, 3.1%)	—

* : mean value of pH and the standard deviation

() : number of samples, and coefficient of variation

この調査成績から明らかなように, ブドウ糖注射液の pH はブドウ糖濃度が増すにつれて減少し, 標準偏差も小さくなる. 変動係数は 3% 前後であるが, A 社 5% 製品の 8.5% と高い値を示し, 製造時の工程管理に不備のあることが指摘される.

[V] HMF 濃度および 3-DG 濃度と pH の相関性について

A 製造所 5, 20% ブドウ糖注射液の pH を横軸に, HMF 濃度 ($\lambda_{\max}$ 284 m μ) を縦軸にとって散布図をかき Fig. 4 に示した. ただし, 20% 濃度品の pH および UV 吸収測定はブドウ糖濃度の影響を除くため

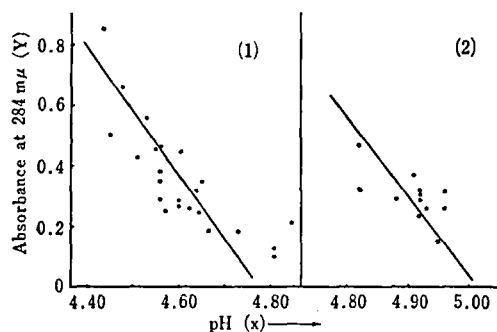


Fig. 4. Relationship between pH and the concentration of 5-hydroxymethyl furfural ($\lambda_{\max}$ 284 $m\mu$) in 5 and 20% glucose injections produced by manufacturer A

- (1): 5% glucose injection
 $x = 4.785 - 0.487y$
 $(n=23, r=0.561, s=0.131)$
 (2): 20% glucose injection
 $x = 5.020 - 0.387y$
 $(n=12, r=-0.622, s=0.057)$

5%濃度となるよう稀釈して行なった。

相関分析を行なって相関係数を求めると

(A) $r = -0.661, r^2 = 0.437$

(B) $r = -0.622, r^2 = 0.387$

r 表を用いて検定の結果 (A), (B) とも 5% 有意水準で有意であり, pH と HMF 濃度との間に負の相関関係があると推定される。HMF 濃度 (y) に対する pH (x) の回帰直線を求めると,

(A) $x = 4.785 - 0.487y$
 $(n=23, r=-0.661, s=0.131)$

(B) $x = 5.020 - 0.387y$
 $(n=12, r=-0.622, s=0.057)$

を得る。ただし, n は検体数を, r は試料相関係数を, s は標準偏差をそれぞれ示す。

ブドウ糖注射液の pH に対する HMF の寄与率は

約 40% であり, 明らかに一定の pH 規定性をもっている。

一方, 3-DG 濃度 ($\lambda_{\max}$ 228 $m\mu$) と pH の間で同様な相関分析を行なった結果, 5% 有意水準で有意な相関関係は認められなかった。

結 語

ブドウ糖溶液の加熱分解に関する若干の基礎的検討を行ない, さらにブドウ糖注射液の品質調査を行なって以下の成績を得た。

1. 5-hydroxymethyl furfural (HMF) と pH との間に 5, 20% ブドウ糖注射液で負の相関関係が認められた。
2. 3-deoxyglucosone (3-DG) と pH との間には有意な相関関係が認められなかった。
3. 各種濃度のブドウ糖注射液の pH は濃度が増すにつれて減少する。

以上の実験結果から, ブドウ糖注射液の品質 (pH, 分解産物等) は滅菌時におけるブドウ糖の加熱分解の度合いに強く依存しているものと推定された。

本実験を進めるにあたり, 滅菌実験について御指導いただいた薬理微生物部の川崎室長, 西尾技官, 瀬戸技官に深謝いたします。

文 献

- 1) M.L. Wolfrom, R.D. Schuetz, L.F. Cavalieri: *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 514 (1948)
- 2) 高木誠司, 前川義裕: 分析化学, 4, 34 (1955)
- 3) 第 7 改正日本薬局方 第 1 部, p. 526 (1961)
- 4) British Pharmacopoeia, 1968, p. 311, p. 905
- 5) E.F.L.J. Anet: *Aust. J. Chem.*, 14, 295 (1961)
- 6) C.J. Moye: *Rev. Pure and Appl. Chem.*, 14, 161 (1964)

2-Methyl-4-Amino-5-Hydroxymethyl-Pyrimidine (OMP)

の Ehrlich 腹水がんに対する作用について

吉 田 稔

*Effect of 2-Methyl-4-Amino-5-Hydroxymethyl-Pyrimidine
on Ehrlich Ascites Tumor Cells*

Minoru YOSHIDA

The author has studied on the effect of 2-methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine (OMP) on Ehrlich ascites tumor cell (ETC) as mammalian cell level to ascertain the relationship between bacteriological and pharmacological properties of OMP, and the following results were obtained;

- 1) OMP did not affect to the respiration and glycolysis of ETC and pH of reaction medium.
- 2) It was noticed that 2, 4-dinitrophenol (DNP) has both stimulatory and inhibitory effect on the cell at the final concentration of 2×10^{-4} M and 5×10^{-4} M respectively.
- 3) OMP enhanced the respiratory stimulation induced by DNP at the final concentration of 2×10^{-4} M.

(Received May 31, 1971)

2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethyl-pyrimidine (OMP) は vitamin B₆ 要求性乳酸菌に対して増殖拮抗を示し¹⁾, また, マウス, ラット等に対し特異的な疾走ケイレンを誘発するが^{2,3)}, これらは脳内の vitamin B₆ を補酵素とする glutamic acid decarboxylase の阻害作用によることが明らかにされた⁴⁾.

一方, さきに小川ら⁵⁾ は OMP とその類縁化合物について乳酸菌に対する増殖拮抗性とマウスに対するケイレン発現性とを比較検討したが, 上記二つの性質と構造上の相関性を見出し得なかった.

そこで, 微生物に対する作用との相関性と他の細胞レベルでの作用機序とを明らかにする方法として, 均一な細胞系である Ehrlich 腹水がんを用いて行なうことに着目し, その最初の段階として OMP が Ehrlich 腹水がん細胞の呼吸系にどのような影響をもたらすかを検討した.

実験材料と方法

阪大微研より分与された 4 N 系 Ehrlich 腹水がんを用い *d, d*-系マウス腹腔に移殖後 15~20 日のものを採取し, M/10 リン酸塩緩衝液 (pH 7.2) で洗条後, 一定 (1×10^6 cell/ml) の細胞数に調整し使用した.

OMP, DNP (2, 4-dinitrophenol) はその実験系の medium で溶解した.

呼吸測定は常法によりワールブルグ検圧計を用い, 37° で嫌氣的解糖系ならびに好氣的解糖系の両者について, OMP の効果を測定した.

実験結果と考察

Ehrlich 腹水がん細胞の呼吸に対する OMP の影響を明らかにするために, ワールブルグ検圧計によって, 通常の呼吸をリン酸塩緩衝液中で測定し, また,

Table 1. Effect of OMP on the respiration of Ehrlich ascites tumor cells

No.	Gas mixture phase	Control (μ l O ₂ /1 hr/10 ⁶ cell)	2×10^{-2} M OMP (μ l O ₂ /1 hr/10 ⁶ cell)
1.	air	142	139
2.	air	122	115
3.	N ₂ ; 95%, CO ₂ ; 5%	140	135

Medium;

No. 1; 0.1 M of Phosphate buffer (pH 7.2)

No. 2 and No. 3; Ca(--) Krebs-Ringer Bicarbonate (pH 7.4) with 6×10^{-6} M of glucose

嫌氣的ならびに好氣的解糖系に対する OMP の影響を同様に測定したところ、Table 1 に示すように、いずれの系においても OMP は $2 \times 10^{-2} M$ の濃度において、著しい影響を及ぼさなかった。

さらに、呼吸系への詳細な影響を検討する目的で酸化的リン酸化における Uncoupler である DNP によるがん細胞の呼吸促進作用を検討した。その結果、Fig. 1 に示すように $2 \times 10^{-4} M$ が最もその呼吸促進が認められ、 $5 \times 10^{-4} M$ ではかなりの呼吸抑制効果が認められた。

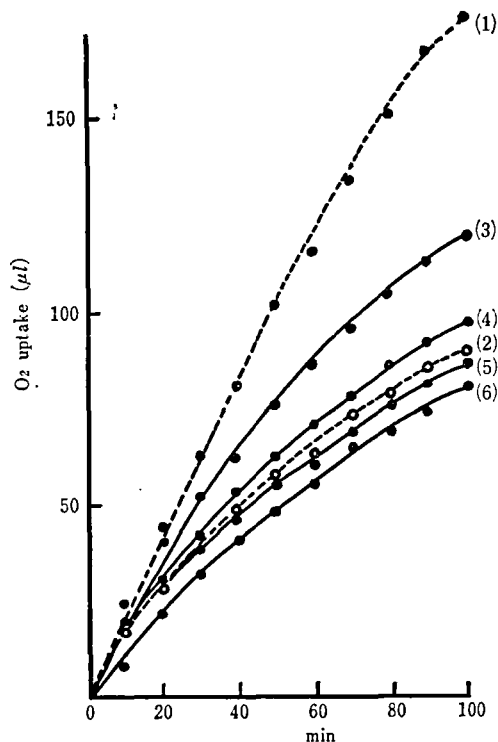


Fig. 1. Effect of 2,4-dinitrophenol (DNP) on the respiration of Ehrlich ascites tumor cells

(1) Control without glucose, (2) Control with glucose (3) DNP ($1 \times 10^{-4} M$, or $2 \times 10^{-4} M$) (4) DNP ($3 \times 10^{-3} M$) (5) DNP ($4 \times 10^{-4} M$) (6) DNP ($5 \times 10^{-4} M$)

Medium;

Each flask contained 0.1M phosphate buffer (pH 7.2) with $6 \times 10^{-2} M$ of glucose (final) and 10^6 of ascites cells

さらに、DNP による Ehrlich 腹水がん細胞の呼吸促進に対する OMP の影響を検討した。すなわち、DNP (最終濃度 $2 \times 10^{-4} M$) に OMP (最終濃度 $2 \times 10^{-2} M$) を加えた結果、DNP の呼吸促進効果をかな

り増大することが明らかとなった (Fig. 2)。また、このとき反応の前後における pH の変動はほとんど認められなかった。

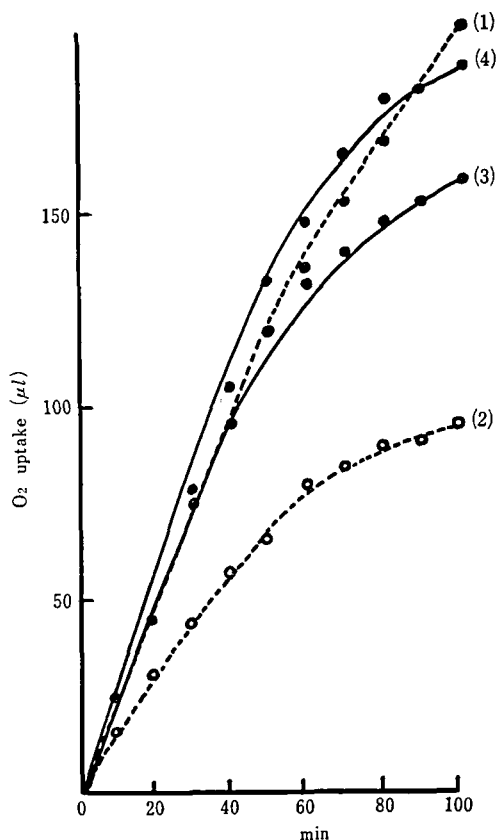


Fig. 2. Effect of DNP and OMP on the respiration of Ehrlich ascites tumor cells

(1) Control without glucose, (2) Control with glucose (3) DNP ($2 \times 10^{-4} M$) (4) DNP ($2 \times 10^{-4} M$) and OMP ($2 \times 10^{-2} M$)

Medium;

Each flask contained 0.1M phosphate buffer (pH 7.2) with $6 \times 10^{-2} M$ of glucose (final) and 10^6 of ascites cells

以上の結果 Ehrlich 腹水がんに対する *in vitro* における呼吸、嫌氣的、好氣的解糖作用の影響を検討したが、OMP の高濃度においても著明な影響を認めなかった。しかしながら、酸化的リン酸化の Uncoupler である DNP はがん細胞においても呼吸促進効果を示すが、これに対しては増強効果を示すことが明らかにになった。この効果は Roberto⁶⁾ が述べている DNP の呼吸促進効果が ADP によるものとすれば、OMP が微生物で認められるように OMP のリン酸エステル化⁷⁾ がこの反応系においても行なわれ、OMP-

2-phosphate が中間体として生成され、これが ADP のような高エネルギー中間体としての作用を示すのか、または、ATP から OMP にリン酸が転移し、ADP の生成が促進され、DNP の呼吸促進の増大効果を示したものと推定される。以上のように OMP の生物活性は Ehrlich 腹水がん細胞において上記の特異的な反応様式をとることに興味があり、今後さらに、その機作について検討したいと考えている。

文 献

- 1) 新谷茂：薬誌, 76, 23 (1956)
- 2) R. Abderhalden: *Arch. Ges. Physiol. (Pflügers)*, 242, 199 (1939)
- 3) 新谷茂：薬誌, 76, 13, 15, 18 (1956)
- 4) 西沢義人：ビタミン, 13, 471 (1957)
- 5) 小川俊太郎ら：ビタミン, 29, 234 (1964)
- 6) Roberto Cereijo-Santalo: *Arch. Biochem. Biophys.*, 98, 86 (1962)
- 7) Y. Nose: *J. Vitaminol.*, 7, 92, 98 (1961)

医薬品中のモルヒネの確認について

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Study on the Confirmation of Morphine in Medicinal Drugs

Masako ÔNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

The purpose of this investigation was to develop new identification test for morphine contained as an impurity of non-narcotic medicinal drugs (Noscapine Hydrochloride, Papaverine Hydrochloride, Noscapine and Hydrocotarnine Hydrochloride).

Several color tests with three different kind of reagents were carried out and detailed results were given in Table 1.

By these tests it was possible to detect microgram range of morphine, but the sensitivity of them was quite different. It was found that the test with α -nitroso- β -naphthol reagent could be applied directly, without clean up to all these drugs and successfully used as the "Purity" test for morphine under above-mentioned non-narcotic medicinal drugs found in J.P. VIII.

(Received May 31, 1971)

8局改正の時点で日局収載の医薬品中、非麻薬あへんアルカロイドである塩酸ノスカピン、塩酸パパベリン、ノスカピン、塩酸ヒドロコタルニンの純度試験「モルヒネ」の試験法が、従来の方法のままでは精度が悪く検討の必要が生じた。著者らは麻薬技術委員会との共同実験で諸外国薬局方の方法^{1,2)}、その改良法、 α -ニトロソ- β -ナフトール法など7通りの方法について追試あるいは改良研究を行ない従来の方法と比較した結果、 α -ニトロソ- β -ナフトール法が最適であることを認め、これは8局にも採用された。各試験法間のモルヒネ検出精度の比較について報告する。

実 験 方 法

試料

塩酸ノスカピン	(日局Ⅶ適品)
塩酸パパベリン	(")
ノスカピン	(")
塩酸ヒドロコタルニン	(")
塩酸モルヒネ	(")

試験方法

A：日局Ⅶ純度試験「モルヒネ」試験法

B：独局Ⅶ変法(1) 試料 0.1 g に水 5 ml を加えて溶かし、ヨウ素酸カリウム溶液 (1→50) 5 ml、四塩化炭素 2 ml およびうすめた硫酸 (15→100) 10滴を加えてただちに振り混ぜるとき、四塩化炭素層は紫色を呈しない。

C：独局Ⅶ変法(2) B法中、うすめた硫酸 (15→100) 10滴を省く。

D：独局Ⅶ変法(3) 試料 0.2 g を分液ロートにとり、水 5 ml を加えて溶かし、さらに水酸化ナトリウム試液 5 ml を加えて、クロロホルム 20 ml ずつで2回抽出する。水層 5 ml をとり、うすめた硫酸 (9→100) 2 ml およびヨウ素酸カリウム溶液 (1→50) 5 ml を加えて1分間放置したのち、四塩化炭素 2 ml を加えて振り混ぜるとき、四塩化炭素層は紫色を呈しない。

ノスカピンの場合は水 5 ml のかわりに、うすめた塩酸 (1→10) 0.6 ml および水 4.4 ml を加えて溶かす。

E：独局Ⅶ変法(4) D法中、1分間放置を省く。

F：国際薬局方Ⅱ 試料 10 mg に 0.1 N 塩酸 5 ml を加えて溶かし、亜硝酸ナトリウム溶液 (1→10) 2 ml およびアンモニア試液 3 ml を加えるとき、液の色は微黄色より濃くない。

G：日局Ⅷリン酸コデイン純度試験モルヒネ試験法

実 験 結 果

各試料に塩酸モルヒネの水溶液を添加し、A～G法によるモルヒネの検出限度を比較した結果を Table 1 に示す。モルヒネの検出限度は採取試料に対する相対パーセントで示した。

Table 1. モルヒネの検出限度(相対%)

試料	試験方法	A	B	C	D	E	F	G
塩酸ノスカピン		7	0.6	0.3	0.4	0.2	0.1~0.2	0.05~0.1
塩酸パパベリン		8	0.3	0.3	0.3	0.2	0.1~0.2	0.05~0.1
ノスカピン		7	0.6	0.3	0.4	0.2	0.1~0.2	0.05~0.1
塩酸ヒドロコタルニン		8	4.0	1.0	0.5	0.2	0.1~0.2	0.05~0.1
空試験値		6	0.2	0.1~0.2	0.2	0.1	0.1~0.2	0.05~0.1

空試験値：塩酸モルヒネだけを水に溶かしたものに対する検出限度

考 察

試験方法A~Dによると、とくに塩酸ヒドロコタルニンでモルヒネの検出限度が極端に劣り、品目間のモルヒネ検出限度の差異が著しく、これらの方法は純度試験の目的に適しない。

試験方法E~Gでは、品目間にモルヒネ検出限度の差がほとんど認められず、精度もかなりよくなっている。しかしこのうちE法はわずかに精度が劣り、0.2%であるため、国際薬局方で規定している限度0.1%を満足できない。またF法の場合、精度はよいが、塩酸ノスカピン、塩酸パパベリン、ノスカピンでは白濁し、遠心分離操作後確認しなければならないなどの

難点があった。

G法は日局収載麻薬の純度試験モルヒネの項に8局で新たに採用されているもので、モルヒネに特異な反応であり、他のあへんアルカロイドの存在により反応が妨げられないので、抽出操作も不要で、かつこれらのうちで最も精度がよく、試料の採取量も10mgで十分である。以上の結果から、これら非麻薬中の純度試験モルヒネの試験法としてもG法が最適である。

文 献

- 1) DAB VII, 251/64
- 2) IP II, p. 422

キモトリプシンおよびトリプシンの力価検定法（第1報）

NF XIII に準拠した方法による市販消炎酵素製剤中のキモトリプシン
およびトリプシンの力価検定成績

西崎 笹夫・横田 椅江

*Assay for Chymotrypsin and Trypsin. I**Results of the Official Inspection of the Commercial Anti-Inflammatory
Enzyme Preparations Containing Chymotrypsin and Trypsin
by Means of Modified NF XIII Methods*

Sasao NISHIZAKI and Isue YOKOTA

Results of the assay for the potencies of chymotrypsin and trypsin in the commercial anti-inflammatory enzyme preparations tested as the official inspection in 1970, were described.

At first, it was needed to establish the standardized methods for determination of enzymes in preparations, temporarily.

As the results of submitting to the proposed methods modified NF XIII, it was found that only one sample (No. 21) out of nine was proved to be much less than the labeled potency.

The summarized data were shown in Table 2 and Fig. 3.

(Received May 31, 1971)

消炎酵素製剤に包括される酵素として、プロメライン、リゾチーム、キモトリプシンおよびトリプシンなどがあげられる。それらのうち、プロメラインについてはすでに規格¹⁾が、リゾチームについても規格および標準品が制定されている²⁾。

昭和45年度医薬品等一斉取締試験の対象として、試験規格がまだ制定されていないキモトリプシンおよびトリプシンの定量を実施することとなり、Table 1 に示す22試料が収去されてきたが、その中から対象外試料を除けば13試料となる。

Table 1. 収 去 試 料 の 分 類

表示された酵素成分	剤 形	試料数	試 料 番 号
キモトリプシン	注	3	4, 7, 22
	錠	4	3, 11, 21, 8*
	パッカル	1	15
キモトリプシンとトリプシンとの共存**	錠	1	2
	カプセル	1	1
トリプシンとプロメラインとの混合	錠	3	9, 10, 20
対象外試料***	錠	9	5, 6, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19
合 計		22	

* 試料8の成分の表示は哺乳動物の膵臓から製したたん白質分解酵素で、独自の表示単位を用いているが、消炎酵素製剤と明示されているため対象試料として試験を行なう。

** 膵臓性たん白質分解酵素で、キモトリプシン錠剤と同類であるが、成分としてキモトリプシンとトリプシンの含量を別個に併記して表示してあるため共存としておく。

*** リゾチームまたはプロメラインのみを含む製剤、あるいは対象酵素成分を含んでいても消炎酵素製剤であることを明示していない試料は対象としない。

対象試料の成分および力価の表示は、キモトリプシンのみについても合成基質を用いる NF 単位、従来の天然基質を用いる Armour 単位などのほかに、製造会社の専断的な単位もみられるため、薬効の公正な評価を粉らわしくするのみか、臨床上にも多くの不便を生ずるものと思われる。そこで、これらの製剤の力価検定法ならびに単位の表現を統一するためには、まず基質、緩衝液の種類、反応系の pH、反応温度、反応時間など、力価検定の諸条件を規定する必要がある。

元来、天然基質は製造会社、基原、調製法、ロット番号などによって均質性を欠き、そのため力価測定値の再現性が得られにくいこと、ならびに同類系酵素の混合製剤では、個々の酵素の定量値が求められないなどの欠点がある。これに対して、合成基質は比較的容易に均質な結晶として得られ、それぞれの酵素の特異性に適合した基質が選べるなど、天然基質の欠点を補うにたる長所を有するため、最近ではもっぱら合成基質の使用が推奨される傾向にある。

現に NF XIII に収載されているキモトリプシン³⁻⁵⁾を例にあげれば、その基質は N-acetyl-L-tyrosine ethyl ester (ATEE)*、乾燥物の力価は 1 mg あたり 1,000 NF キモトリプシン単位以上、表示単位が記載されている場合はその 90~110%、また混在するトリプシンの許容限度は *p*-toluene sulfonyl-L-arginine methyl ester hydrochloride (TAME) 基質を用いての試験によって 1 w/w% 以下と定められている。減菌キモトリプシン (収去試料中のキモトリプシン注射剤に該当) では表示単位の 80~120%、キモトリプシン注射液 (収去試料中にこれに該当するものはない) では表示単位の 90~115% とされている。他方、トリプシンの場合は結晶トリプシンのみが収載され、その基質は N-benzoyl-L-arginine ethyl ester hydrochloride (BAEE)**、乾燥物の力価は 1 mg あたり 2,500 NF トリプシン単位以上、表示単位が記載されている場合はその 90~110%、混在するキモトリプシンの許容限度はキモトリプシンの定量法をそのまま適用するとき 5 w/w% 以下と定められている。

NF XIII には前述のほかに厳密な反応条件と明確な単位の定義が規定されているので、国際的にも評価されている力価検定法とみなし、それに準拠した規格試験法を仮りに作成した (試験方法の項参照)。ただし、今回の対象試料の中には錠剤のように NF XIII に記載されていないもの、キモトリプシンのみの表示であっても実際には精製が不十分な酵素が用いられているものが多いため、各対象試料にキモトリプシン、トリプシンの両定量試験をそれぞれ行なうことにした。

なお、賦形薬などが定量値に及ぼす影響を考慮して、数種の抽出法を設定し、そのうちのある抽出法によって得られた測定値が表示量に対して著しく小さい場合は、さらに別の抽出法を試みた。また、剤形、成分、組成などがよく似た製剤については、原則として同時に同じ操作によって比較試験を行なうようにした。そのほか、NF 単位以外の表示については申請書の記載事項に基づいて、なるべく NF 単位に換算し、単位の表現の統一をはかった。

ただし、NF 単位に換算し得ない試料 8、ならびにトリプシンとプロメラインとの混合製剤 (試料 9, 10, 20) については、続報にゆずる。

試験方法

1 試薬

リン酸二水素カリウム (KH_2PO_4): 試薬特級

リン酸一水素ナトリウム ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): 試薬特級

ATEE: 東京化成製

BAEE: 東京化成製

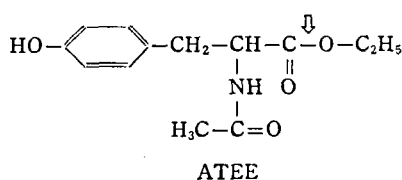
2 装置

日立 EPU-2 形分光光度計を用いる。ただし、分光光度計のセルそう入室の両側に隣接する壁板内には、大洋科学工業製サーモユニット C-550 形から連結した 25° の水を循環させ、反応セル中の温度差を測定前後において 0.5° 以内に保つ。

3 緩衝液の調製

A 液: リン酸二水素カリウム 9.08 g に水を加えて

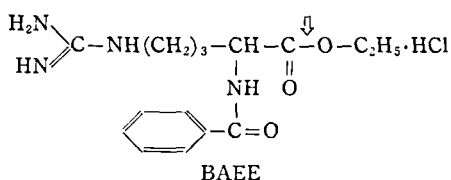
*



↓印は酵素が作用する個所をあらわす。

酵素反応前後における紫外部吸光曲線の変化は Fig. 2 に示されている。

**



1 l とする。

B液：リン酸一水素ナトリウム 11.9 g に水を加えて 1 l とする。

M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.0)：A液 38.9 ml と B液 61.1 ml とをよく混和し、必要ならばさらにいずれかの液を加えて、ガラス電極を用いて pH 7.0 に調節する。

M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.6)：A液 13 ml と B液 87 ml とをよく混和し、必要ならばさらにいずれかの液を加えて、ガラス電極を用いて pH 7.6 に調節する。

4 基質液の調製

ATEE 基質液：ATEE 23.7 mg をとり、M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) 約 70 ml を加えて加温して溶かし、冷後、さらに M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) を加えて正確に 100 ml とする。保存する場合は直ちに凍結させ、用時溶かして用いる。

BAEE 基質液：BAEE 85.7 mg をとり、水を加えて正確に 100 ml とした液を BAEE 基質原液とする。その 10 ml をとり、M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.6) を加えて 100 ml とした液について、水を対照として 253 mμ における吸光度を測定するとき、その吸光度が 0.580 ± 0.005 になるように、必要ならば M/15-リン酸塩緩衝液 (pH 7.6) または BAEE 基質原液を加えて調節する。調製後 2 時間以内に使用する。

5 試料液の調製

キモトリブシンの力価検定には 12~16 NF キモトリブシン単位/ml を、トリブシンのそれには 60~120 NF トリブシン単位/ml を含む試料液を、それぞれ 0.001 N 塩酸を用いて 2~3 段階希釈によって調製する。

5.1 注射用製剤の場合：

0.001 N 塩酸適量を正確に直接バイアルびんに加えて溶かし試料原液とする。その適量を正確にとり、さらに 0.001 N 塩酸を加えて試料液とする。

5.2 錠剤、カプセル剤およびパッカル錠の場合：

約 20 錠をとり、必要ならば水を加えてゆるやかにかきまぜて糖衣をはがしたのち、硫酸デシケーターで一夜乾燥する。それを精密に量り、乳鉢に移してよくすりつぶして粉末とし、硫酸またはシリカゲルのデシケーター中に保存する。

その数錠分に相当する量を精密に量り、0.001 N 塩酸適量を加える。その場合、通常、試料液にはごるか、あるものは不溶性の沈でん物が存在する。そこでつぎの操作を行なう。

① 東洋ろ紙 No. 4 を用いて自然ろ過、または No. 3 ガラスろ過器でろ過し、一定量のろ液をとり 0.001 N

塩酸を加えてうすめる。

② 遠心分離管に注ぎ込み、遠心分離して上清をとり、沈でん物をガラス棒でよくかきまぜ、ふたたび 0.001 N 塩酸を加えて遠心分離する。この操作を数回繰り返して得られた抽出液を合し、さらに 0.001 N 塩酸を加えて一定量とする。

③ 自動ミキサー TB-1 形（大洋物産 K.K. 製）を用いてよくふりまぜながら沈でん物なるべく均質に懸濁させ、直ちにホールピペットを用いて一定量を分取し、0.001 N 塩酸を加えてうすめる。

以上に示した①②または③の選択は試料液の性状に応じて判断した。

6 操作法

6.1 キモトリブシン

以下に規定した条件で、毎分 0.0075 の吸光度の変化を示す活性をもって 1 NF キモトリブシン単位と定める。

0.001 N 塩酸 0.2 ml と ATEE 基質液 3.0 ml とを入れた層長 10 mm の石英セルについて、水を対照として 237 mμ における吸光度が 0.200 になるように分光光度計のスリットを開いて調節する。つぎに試料液 0.2 ml を別の層長 10 mm の石英セルにとり、あらかじめ 25° に保たれた ATEE 基質液 3.0 ml を壁面に沿って吹き込むと同時に秒時計を始動させる。0.001 N 塩酸と ATEE 基質を入れた前記セルを対照として、少くとも 5 分間の吸光度を 30 秒ごとに測定する。さらに 2~3 回、等濃度の試料液について繰り返して得られる吸光度の変化の直線部分はいずれも十分な平行を示し、しかも 30 秒ごとの吸光度の変化は 0.010 ± 0.002 の範囲にある。もし、3 分間以上にわたる吸光度の変化に直線性が得られないか、または吸光度の変化が定められた範囲にないときは、試料液の濃度を適当に調製しなおして試験を行なう。得られた吸光度と時間との関係をグラフにあらわし、吸光度が 3 分間以上直線となる範囲について、次式から試料 1 個（1 バイアルまたは 1 錠）中の NF キモトリブシン単位を算出する。

試料 1 個中の NF キモトリブシン単位

$$= V \times \frac{(A_2 - A_1)}{0.2 \times 0.0075 \times T}$$

V：試料 1 個あたりの最終試料液の量 (ml)

A₁：直線区間の最終の吸光度

A₂：直線区間の最初の吸光度

T：A₂ から A₁ までの経過時間 (分)、ただし T の値は 3.0 を越えない。

6.2 トリブシン：

以下に規定した条件で、毎分 0.003 の吸光度の変化

を示す活性をもって 1 NF トリプシン単位と定める。

0.001 N 塩酸 0.2 ml と BAEE 基質液 3.0 ml とを入れた層長 10 mm の石英セルについて、水を対照として 253 m μ における吸光度が 0.050 になるように分光光度計のスリットを開いて調節する。つぎに試料液 0.2 ml を別の層長 10 mm の石英セルにとり、あらかじめ 25° に保たれた BAEE 基質液 3.0 ml を壁面に沿って吹き込むと同時に秒時計を始動させる。0.001 N 塩酸と BAEE 基質液を入れた前記セルを対照として、約 5 分間の吸光度を 30 秒ごとに測定する。さらに 2 ~ 3 回、等濃度の試料液について繰り返して得られる吸光度の変化の直線部分はいずれも十分な平行を示し、約 4 ~ 7 分間後には水平部分に達する。もし、以上の条件を満足させないときは、試料液の濃度を適当に調製しなおして試験を行なう。得られた吸光度と時間との関係をグラフにあらわし、上昇直線部分のみについて次式から試料 1 個 (1 バイアルまたは 1 錠) 中の NF トリプシン単位を算出する。

試料 1 個中の NF トリプシン単位

$$-V \times \frac{(A_1 - A_2)}{0.2 \times 0.003 \times T}$$

V: 試料 1 個あたりの最終試料液の量 (ml)

A₁: 直線区間の最終の吸光度

A₂: 直線区間の最初の吸光度

T: A₂ から A₁ までの経過時間 (分)

7 試験法についての若干の注釈

1) NF XIII では装置ならびに基質の適合性を検べるため、あらかじめ NF キモトリプシン標準品、NF トリプシン標準品のそれぞれを用いて試験を行なうことを規定している。しかし、それらの NF 標準品を早急に入手し得なかったこと、およびこれらの標準品の力価測定値が試料の力価算出のための直接的比較標準品とされていないなどのため、当部に保管されていた Armour 社製キモトリプシンおよび結晶トリプシンを仮りにそれぞれ 1,000 NF キモトリプシン単位/mg, 2,500 NF トリプシン単位/mg と想定し、NF XIII の規定にしたがって力価検定を試みた結果、キモトリプシン 1 mg は 15 u/ml 試料濃度液について 1,160 NF キモトリプシン単位を、トリプシン 1 mg は 60, 90 および 120 u/ml の 3 試料濃度液についてそれぞれ 2,520, 2,500 および 2,580 NF トリプシン単位、平均 2,533 NF トリプシン単位を得た。その試験での経過時間と吸光度の変化との関係を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 から、トリプシン試験の場合、NF XIII の方法をやや簡略化して、反応開始後約 4 ~ 7 分間で水平部分に到達する試料濃度液ならば、3 試料濃度液を

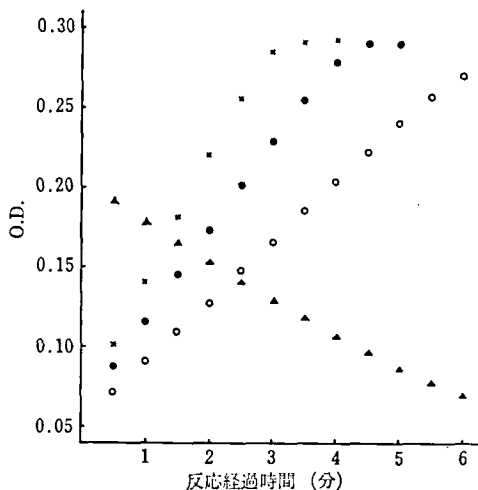


Fig. 1. NF XIII によるキモトリプシン, トリプシンの力価検定: キモトリプシン(▲), トリプシン(○; 60 NF 単位/ml, ●; 90 NF 単位/ml, ×; 120 NF 単位/ml と想定)。

用いた場合の平均値との差は測定誤差範囲内で、十分に実用的に信頼できることを認めた。著者らはこれとは別に、比較的新しく入手した Wilson 社製結晶トリプシンについて試験を行なった結果、2,695, 2,740 および 2,730 NF トリプシン単位/mg, その平均値 2,722 NF トリプシン単位/mg を得ている。したがって、前述の試験法を暫定的規格試験法とみなすことにする。

2) 合成基質の品質ならびに NF XIII に述べられた反応系の様相をより詳細に知るため、各基質についての反応前後の紫外外部吸収曲線を Fig. 2 に示す。

3) 以上の力価検定試験において、30 秒ごとの吸光度の変化は拡大鏡によって読みとられた値であるが、恒温装置を備えたダブルビーム分光光度計を用いて自動記録してもよい。

試験成績ならびに考察

暫定的規格試験法によって得られた定量成績を Table 2 に示す。

Table 2 に基づいて、表示単位数と実測 NF 単位とを対比させて、Fig. 3 にヒストグラムで示す。

Table 2, Fig. 3 の定量成績に対し、若干の補足を加えつぎのように考察する。

1) 注射剤 (試料 4, 7 および 22) 中のキモトリプシンの定量には、各バイアルに 0.001 N 塩酸 2.0 ml ずつを加えて溶かして試料原液とし、その 0.12 ml ずつをとり、さらに 0.001 N 塩酸を加えて正確に 25 ml

として試料液とした。

また、混在するトリプシンの定量には、試料原液をそのまま試料液とした。その上昇曲線は予期した角度

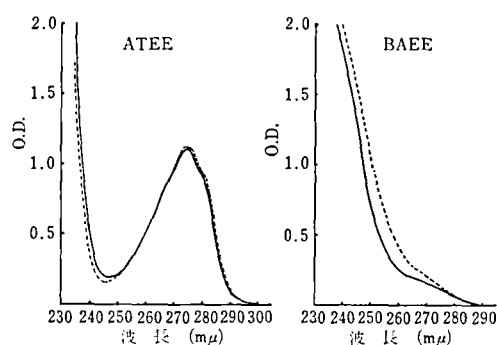


Fig. 2. 反応前後における紫外外部吸収曲線の比較

ATEE 基質は 237 mμ において吸光度が減少し、逆に BAEE 基質では 253 mμ においてその吸光度は上昇する。

——：反応前；0.001 N 塩酸 0.2 ml に所定の基質液を 3.0 ml 加えた液。

-----：反応後；15 NF キモトリプシン単位/ml, 120 NF トリプシン単位/ml のそれぞれ 0.2 ml に、所定の基質液 3.0 ml ずつを加えて、25° に10分間保温した液。

対照液として 0.001 N 塩酸 0.2 ml にそれぞれ所定の緩衝液 3.0 ml ずつを加えた液を用いた。

よりもはるかに小さく、正確とはいえないが、参考のために記載しておいた。

これら注射剤中のキモトリプシン含量は、いずれも NF XIII に記された滅菌キモトリプシンの含量規定 (80~120%) に適合する。またそれらの製剤中に混在するトリプシン含量試験でも、NF XIII に定められた限度 (1 w/w%) よりもはるかに小さい値を得た。

2) バッカル錠 (試料15) も注射剤に準ずる品質の

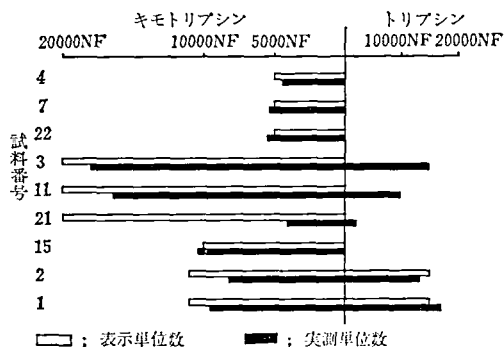


Fig. 3. 表示単位数と実測単位数との比較

NF XIII の規定に従い、仮りにキモトリプシン 1,000 NF 単位を単位 mg, トリプシン 2,500 NF 単位を単位 mg としてあらわしているのので、キモトリプシンとトリプシンとのベルトの長さは近似的に共通の重量単位で示されたことになる。

Table 2. キモトリプシン、トリプシンの試験成績

試 番	料 号	剤 形	成分および表示単位数		試 料 液 調 製 法	NF 単位であらわした酵素含量 () は表示量に対する百分率	
			キモトリプシン	トリ プ シ ン		キモトリプシン	トリ プ シ ン
4		注	5,000 NF	—	*	4,410 (88)	41 —
7		注	5,000 NF	—	*	5,410 (108)	39 —
22		注	25 Chu ^{*1)}	—	*	5,510 (110)	27 —
3		錠	100 Chu	—	③ ^{*3)}	17,900 (90)	14,700 —
11		錠	100 Chu	—	③	16,400 (82)	9,720 —
21		錠	20,000 NF	—	③	4,223 (21)	1,420 —
15		バッカル	10,000 Aru ^{*2)}	—	①	10,500 (105)	35 —
2		錠	11,000 NF	15,000 NF	②	8,230 (75)	13,300 (89)
1		カプセル	11,000 NF	15,000 NF	②	9,460 (86)	16,900 (112)

* 本文中、注射液の試料の調製法の項参照。

^{*1)} 申請書によれば、キモトリプシンの純品 1 mg は 5 Chu (アルファ・キモトリプシン単位) にあたるとされ、試料 3, 11 の包装には 20,000 NF キモトリプシン単位と併記されている。

^{*2)} 申請書によれば、キモトリプシンの純品 1 mg は 1,000 Armour 単位にあたるとされ、NF XIII に記されたキモトリプシン 1 mg は 1,000 NF キモトリプシン単位以上を、仮りに 1 Armour 単位を 1 NF キモトリプシン単位に等しいものとした。

^{*3)} ①②および③の説明は本文中、錠剤などの試料の調製法の項を参照のこと。

キモトリプシンが認められた。

3) キモトリプシン錠剤(試料 3, 11, 21)には申請書中にも記載してあるようにその成分は膵臓性たん白消化酵素で、純度試験でも明らかにトリプシンの夾雑が認められる。試料 3, 11については③による試料液が最高値を示し、②による試料液ではいずれも 60~70%の値しか得られなかったことは、酵素の一部が沈でん物に吸着されている可能性を示唆する。また、試料 3, 11は試料 22と同じく Chu と NF キモトリプシン単位とが併記されているが、試料 3, 11のように、かなりの量のトリプシンを共有する場合、天然基質による Chu を合成基質による NF キモトリプシン単位の上に単純に活性単位を換算することにできないであろう。

試料 21のキモトリプシン含量は NF 単位で表示され、表示単位に対しても、また同類系統の製剤(試料 3, 11)との相対的力価においても、その含量は著しく小さい。Table 2 に示した値はこの試料について再検討し、外皮をはがした場合(実験 No. 1)と錠剤をそのまますりつぶして試験に供した場合(実験 No. 2)とを、V 値を 200, 250, 300 の 3 種に変えて測定値を求めるとき、実験 No. 1 では平均値 3,983 NF キモトリプシン単位、実験 No. 2 のそれは 4,463 NF キモトリプシン単位を得、さらにそれらの平均値 4,223 NF キモトリプシン単位(表示量に対して 21.1%)を得たので、実験 No. 1, 2 の値は実験誤差範囲内でよい一致がみられた。

4) キモトリプシンとトリプシンとの混合製剤(試料 1, 2)は両成分をいずれも NF 単位で別個に表示されている。成分としては膵臓性たん白分解酵素であり、試料 3 または 11 の錠剤と典型的にはよく似るが、より具体的な表示といえよう。

む す び

昭和 45 年度医薬品等一斉取締試験の対象として、消炎酵素製剤中のキモトリプシン、トリプシンを定量するため、NF XIII の方法を参考とした暫定的規格試験法を作成した。

この試験法を収去した試料のうちの 9 試料に適用した結果、

1) 注射用製剤およびパッカル錠には高純度のキモトリプシンが使用され、注射剤の定量値は NF XIII に記された滅菌キモトリプシンの規格に適合した。またパッカル錠も注射剤に準ずる品質を有し、その定量規格にも適合する。

2) 内服用錠剤に用いられる原末は未精製のものが多く、キモトリプシンのみの表示であっても実際にはかなりの量のトリプシンを含むことが明らかにされた。また、これらの錠剤は水または 0.001 N 塩酸に対して不溶性物質が認められ、試料液の調製法によって力価測定値は一定の値が得られないことが多い。

3) 本報で試験の対象とした 9 試料のうち、明らかに含量不足と断定されるのは試料 21 の 1 試料である。

終わりにのぞみ、以上の試験は主として前生物化学部長長沢佳熊博士の在職中に行なったもので、同氏の御指導に対しここに深謝の意を表する。

文 献

- 1) 長沢佳熊, 山羽 力, 高橋昭江: 衛生試験, 85, 121 (1967)
- 2) 長沢佳熊, 西崎征夫, 横田椅江: 衛生試験, 88, 84 (1970)
- 3) NF XIII: p. 168 (1970)
- 4) NF XIII: p. 169 (1970)
- 5) NF XIII: p. 170 (1970)
- 6) NF XIII: p. 746 (1970)

ビスコースレーヨン綿の品質について

伊 東 宏・荒 木 光 夫*

Studies on Quality of Viscose Rayon

Hiroshi Itō and Mitsuo ARAKI

Viscose Rayons as medical supplies were examined by using the following test items: Purity in Absorbent Cotton (JP VII), Short Fibers (JP VII), Announcement No. 285 of the Ministry of Health and Welfare, Regenerated Cellulose (rayon) (BPC), Fatty Matter (JIS L 1015), and Weathering Test.

The results were shown in Table 1~7.

(Received May 31, 1971)

ビスコースレーヨン綿については、吉村ら¹⁾によって研究され、局方規格には適合するが吸水量などが脱脂綿より劣っているといわれている。最近はその技術進歩に伴い良質なレーヨン綿が製造されるようになったためか、わが国でも厚生省告示第285号²⁾の素材として使用され、また英準薬局方(BPC)³⁾、ドイツ薬局方(DAB)⁴⁾などにも収載されている。第8改正薬局方の審議にあたってはビスコースレーヨン綿の収載が話題になった。このため今回ビスコースレーヨン綿の品質を局方脱脂綿と比較するため、局方脱脂綿、厚生省告示第285号基準、BPC(Regenerated cellulose)、JIS L 1015(レーヨンステープル試験方法)の油脂分、紫外線の影響などの項目について試験した結果について報告する。

試 料

ビスコースレーヨン綿(Bright)(A)、酸化チタン処理したビスコースレーヨン綿(Dull)(B)、局方脱脂綿(C)

実験方法および結果

I 局方脱脂綿の項目試験

1. 性状 試料を鏡検すると(A)はレーヨン綿特有のスキン層が縦縞状に走り、ねじれずに均一の太さであり、(B)は酸化チタンの存在を示す黒い斑点がみられる。(C)は偏平でねじれた中空リボン状で縁はわずかに厚くなっている。三者は鏡検によって区別ができる。

2. 純度試験 酸およびアルカリ、色素、けい光増白剤、他の繊維、ネップ、混在物、異物の項目につい

て試験した結果は Table 1 に示す。

Table 1. Purity (JP VII)

Samples Items of Test	A B C		
	A	B	C
Acid or alkali	Passed	Passed	Passed
Dyes	//	//	//
Fluorescent brightening agents	//	//	//
Other filament	//	//	//
Neps	//	//	//
Adhering impurities	//	//	//
Foreign matter	//	//	//

水溶性物質の試験結果を Table 2 に示す。

Table 2. Water-soluble substances (mg)

	Sample A	Sample B	Sample C
Average (n=5)	$\bar{x}=9.8$ ($\sigma=0.10$)	$\bar{x}=6.6$ ($\sigma=0.17$)	$\bar{x}=5.3$ ($\sigma=0.35$)

脱脂綿、試料B、試料Aの順に残存量が多かった。

沈降速度および吸水量の試験結果を Table 3 に示す。

Table 3. Sedimentation rate (sec) and absorbency (g)

	Sample A	Sample B	Sample C
Sedimentation rate (n=10)	$\bar{x}=2.3$ ($\sigma=0.08$)	$\bar{x}=4.4$ ($\sigma=0.12$)	$\bar{x}=3.1$ ($\sigma=0.10$)
Absorbency (n=10)	$\bar{x}=112.2$ ($\sigma=5.88$)	$\bar{x}=135.5$ ($\sigma=4.85$)	$\bar{x}=113.3$ ($\sigma=6.28$)

沈降速度では三者はほとんど差はなく、吸水量では試料Bが他より多かった。

* アンネ株式会社伊勢原工場

3. 短繊維 局方精製脱脂綿の短繊維試験法を準用して試験した結果を Table 4 に示す。

Table 4. Short fibers (%)

	Sample A	Sample B	Sample C
1	5.59	2.14	11.62
2	5.14	2.30	14.92
3	5.23	2.46	13.51
Average	5.32	2.30	13.35

平均繊維長では A は 18 mm, B は 24 mm あり, 脱脂綿は 12.8 mm であった。また繊維長の順に繊維を並べたとき, 脱脂綿は普通でい形を示すが, ビスコースレーヨンのように製造の際任意に切断されるものは矩形になると予想したが, 試料 B はてい形になり, 試料 A では矩形を示した。

4. 灰分 試験した結果を Table 5 に示す。

Table 5. Ash (%)

	Sample A	Sample B	Sample C
Average (n=3)	$\bar{x}=0.13$	$\bar{x}=0.25$	$\bar{x}=0.14$

酸化チタン処理した試料 B が多く, 他はほとんど同じであった。

II 厚生省告示第 285 号基準 (レーヨンステプル綿) および BPC (再生セルローズ) の項目試験

告示第 285 号基準の性状, 確認試験, 純度試験, および BPC の溶解度, 確認試験, けい光試験を行なったが, いずれも適合した。しかし BPC では酸化チタン処理したものは認めていない。

III 油脂分

JIS L1015 (レーヨンステプル試験方法) による油脂分を測定した結果を Table 6 に示す。

Table 6. Fatty matter (%)

	Sample A	Sample B	Sample C
Average (n=3)	0.14	0.12	0.20

脱脂綿ではレーヨンより多かった。

IV 耐候試験

1. 紫外線による影響 繊維の耐候試験で適当な方法がないので以下の方法により予備試験を行なった。

試料 0.5 g を径 18 mm, 高さ 3 mm の円盤状に圧縮しゴム老化試験器 (JIS K 6301) を用いて 105° で紫外線を 6 時間照射したのち, JIS 標準色票 (JIS Z 8721) により色相を調査した。試料各 10 個について調査した結果を Table 7 に示す。

Table 7. Discoloration

	Sample A	Sample B	Sample C
Before irradiation	n 9.3	n 9.5~9.6	n 9.5~9.6
After irradiation	10 YR. 9/2	10 YR. 9.1/0.5	n 9.2~9.3

試料 A に変色がみられた。

2. 温度による影響 試料を 105° で 6 時間熱したがいずれも変化がなかった。

考 察

ビスコースレーヨン綿について, 局方厚生省告示第 258 号, BPC など で試験した結果, いずれも規格には適合した。

短繊維量や繊維長, 油脂分ではレーヨン綿の方が脱脂綿よりすぐれているが, 水溶性物質では脱脂綿の方が良かった。また耐候試験では紫外線による影響の方が熱に対するより大きいことが明らかになった。レーヨンも脱脂綿と同様医療用品として充分使用し得るものと思われる。

文 献

- 1) 吉村淳, 遠藤勝, 五十川泰郎: 衛生試験, 76, 265 (1958)
- 2) 不破竜登代編: 生理処理用品基準注解, p. 26, 昭和 41 年 9 月, 日本衛生材料工業会
- 3) British Pharmaceutical codex (1968)
- 4) Deutsches Arzneibuch (1964)

トイレット洗浄剤用容器試験について

大場琢磨・堀部 隆・藤原令子

On the Test of Plastic Bottles for Toilet Cleaners

Takuma ÔBA, Takashi HORIBE and Reiko FUJIWARA

Twenty-one samples of plastic bottles for toilet cleaners containing mineral acids were tested on water-tightness, durability against acids, breakage on dropping, stability on the inclined plane and on deformation under reduced pressure.

The results were shown in Table 1 and 2.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

トイレットおよびタイルの洗浄用として従来工業用塩酸が使用されていたが、最近では約10%の塩酸などが専用の洗浄剤として市販され、家庭で使用されだしたので、厚生省としてこれらを劇物と指定し¹⁾、一般家庭での取扱い上の安全性を確保するため、早急にその内容液および容器の基準をきめる必要が生じた。そこで著者らはトイレット洗浄剤の容器の試験項目を選定し、市販品の試験を行なったので、その結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料 厚生省薬事課より送附された市販トイレット洗浄剤入り容器21種を試料とした。

2. 実験方法

(1) 漏れ試験 JIS 規格²⁾に準じ、容器に呼び内容量の水を入れ、せんを行なったのち、倒立して24時間放置して漏れの有無を調べる。

(2) 転倒試験 容器のすべり防止のため研磨紙(目の荒さ #1000)をはったガラス板(10×10 cm)上に容器をのせ、板を約 1°/sec の割合で傾斜させ、容器が転倒するまでの最小傾斜角を測定する。

(3) 落下試験 容器に 20°の呼び内容量の水を入れ、せんを行ない、50 cm と 120 cm の高さより、おのおのコンクリート床面上に、上面、底面および側面があたるように1回ずつ落下させ、破損、漏れの有無を調べる。

(4) 耐薬品性試験 容器にトイレット洗浄剤を満たし、室温で30日間放置したのち³⁾洗浄剤を取り除き、呼び内容量の水を入れ(3)の落下試験を行なう。

(5) 減圧変形試験 容器に 20°の水を満たし、

Fig. 1 の装置の体積計とゴムせんで連結し、体積計の水位の目盛 V_0 を読む。次にAより空気を吸引しつつ体積計の水位の目盛 V と水銀圧力計の目盛 P を記録し、 $(V-V_0)-P$ 曲線を描き、直線が急激に曲線に変る部分を減圧変形点とし、mmHg として表わす。

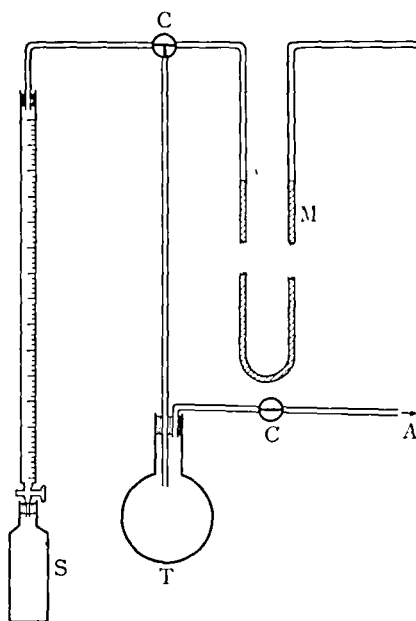


Fig. 1. 減圧変形試験装置

C: コック, M: 水銀または水柱マノメーター,
A: 水流ポンプ, T: トラップ, S: 試料

実験結果および考察

トイレット洗浄剤用容器の試験成績を Table 1, Table 2 に示す。

容器の減圧度——変形量曲線を Fig. 2 に示す。

Table 1. トイレット洗浄剤用容器の試験成績

試料番号	漏レ試験	転 倒 試 験						落 下 試 験		耐薬品試験	
		正 面		斜 面		側 面		50 cm	120 cm	50 cm	120 cm
		最 大	最 小	最 大	最 小	最 大	最 小				
A	漏レ無シ	16° 15'	14° 15'			15° 30'	14° 15'	破損無シ	破損無シ	破損無シ	破損無シ
B	"	17	16 30	17° 40'	16° 00'	17 15	15 30	"	"	"	"
C	"	16 15	15			17	15 45	"	"	"	破損 1/4
D	"	15	14 45			17	15 30	"	"	"	" 無シ
E	"	15 45	14			15	12 30	"	"	"	破損 1/4
F	"	20	18 45			20	16 30	"	"	"	" 無シ
G	"	12 30	12 15			13	12	"	"	"	破損 1/4
H	"	16 15	15			15 30	13 45	"	"	"	" 無シ
I	"	14 15	12			21	18 45	"	"	"	"

Table 2. トイレット洗浄剤用容器の減圧変形試験成績

試 料 番 号	減 圧 変 形 点 (mmHg)
J	37
K	97
L	68
M	71
N	68
O	61
P	46
Q	59
R	47
S	53
T	40
U	81

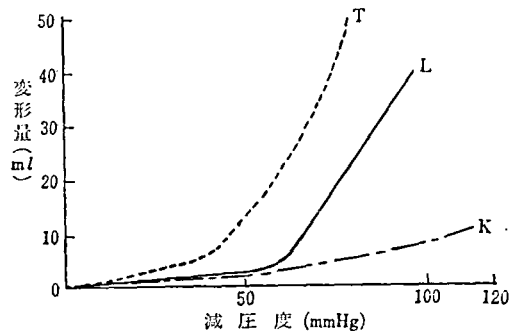


Fig. 2. 容器の減圧度—変形量曲線

トイレット用洗浄剤は、便器、タイルに附着するカルシウム等の無機塩および有機物を除去するため、無機塩の溶解には塩酸、硫酸等の鉱酸や、スルホン酸

等の有機酸を、滲透洗浄効果をますために非イオン性界面活性剤が添加されている。したがって耐酸性と適当使用量を容易にとり出せる柔軟性と内容物のわかる程度の透明度をもつ容器としてポリエチレンは適当であるが、反面、洗浄剤中の界面活性剤により長期間保存中に stress cracking を生ずる恐れがある。本容器の目的からして、stress cracking の生じにくいポリエチレンを吹込成形するのがよく、再使用は望ましくない。

本実験の結果、容器のせんは適切で漏レは認められないが、洗浄剤 1 カ月 保存後の 落下試験で 50 cm では破損しないが、120 cm では一部容器の破損が認められた。また、形態により円筒形や下部に豊隆部のある容器は最小傾斜角が大きく安定であるが、肩に豊隆部のある容器や断面がダ円の容器は最小傾斜角は小で不安定であり、容器の安全性の見地より望ましくない。減圧変形試験では、小児などの弱い力で内容物の飛び出す危険性を防止するため、変形しやすい容器は不適当で、減圧変形度は 40~120 mmHg の範囲が適当と思われた。

結 論

市販トイレット洗浄剤入り容器21種を試験した結果 (1)漏レ試験ですべて漏洩は認められなかった。(2)耐薬品試験で 1 カ月間洗浄剤を満したのち、落下試験で高さ 50 cm では破損しないが、1.2 m では一部破損が認められた。(3)転倒試験で転倒するまでの最小傾斜角は 11°55'~22°55' である。(4)減圧変形試験で減圧変形点は 37~97 mmHg である。以上の実験結果に基づいてトイレット洗浄剤用容器の基準の原案を作成した。終りに一部試験法の作成にあたり、御協力を頂いた

吉野工業(株)研究課長、串田秀男氏に感謝する。

文 献

- 1) 劇物及び毒物取締法第22条の2（昭和46年3月改正）
- 2) 日本工業規格 JIS Z 1703（1969）ポリエチレン
- 3) 日本工業規格 JIS Z 1706（1969）ポリエチレン

カン、解説

- 4) 村橋俊介ら：プラスチックハンドブック，p. 320 p. 801（1969）朝倉書店
- 5) 水谷久一他：プラスチック加工技術便覧，p. 787（1966）日刊工業新聞社
- 6) プラスチック標準試験方法研究会：プラスチック試験ハンドブック，p. 476（1969）日刊工業新聞社

最近6カ年間（1964～1969）における東京都内3地点の一酸化炭素測定結果の概要

山 手 昇・松 村 年 郎

Summary of Carbon Monoxide Levels during the Past Six Years (1964～1969) at Three Air Monitoring Stations in Tokyo

Noboru YAMATE and Toshiro MATSUMURA

This report presents a summarized results of carbon monoxide levels obtained by the Continuous Air Monitoring Station at the three locations (Kasumigaseki, Itabashi and Ohara) in Tokyo from 1964 to 1969.

The results were shown in Table 1～4 and Fig. 1～5 respectively.

(Received May 31, 1971)

近年、自動車交通量の増大に伴ない、その排出ガスによる大気汚染が大きな政治的、社会的な問題となっている。政府は昭和45年2月20日の閣議において、公害対策基本法第9条に基づき、人の健康を守るための環境汚染の許容濃度を示す行政上の目標として一酸化炭素に係る環境基準を制定した。当所においては都市大気汚染状況を把握するために、東京都内3地点に大気汚染測定所を設置し、一酸化炭素、その他の汚染物質などの常時測定を1964年1月以来実施している。この成果は環境基準設定の基礎資料として活用され、また政府の公害状況に関する年次報告書¹⁾（公害白書）にも収載されており、汚染の状況把握ならびに汚染防止対策上の貴重な資料²⁾となっている。本報は6カ年間（1964年1月から1969年12月）の一酸化炭素測定結果の概要である。

測 定 方 法

この調査は都市大気汚染、とくに自動車排気ガスによる汚染の実態把握を目的としているため、測定は交通量の多い地点を主眼において、ビル街として霞ヶ

関、繁華街として新宿、工場地帯として板橋を選定して測定を実施したが、新宿測定室は道路拡張工事のため、1965年5月31日で廃止し、代わって同年9月から世田谷区の大原交差点において測定を開始した。大気取入口は車道端で地上2.5mの高さである。なお、大原測定室の大気取入口は立体交差工事のため1967年12月下旬に車道端より4m後方の建物の位置に移動した。

1. 測定地点

(1) 霞ヶ関測定室 東京都千代田区霞ヶ関2-1厚生省敷地内、祝田橋通りに面しており、西南に日比谷公園、ビル街の中心で交通量は1日約40,000台である。

(2) 板橋測定室 東京都板橋清浄事務所敷地内、板橋工場地帯に位置しており、周辺に化学工場やばい煙発生施設が多く、かつ中仙道（国道17号）に面している。交通量は1日約50,000台である。

(3) 大原町測定室 東京都世田谷区大原町1甲州街道と環状7号線の交差点で1日の交通量約140,000台である。測定は1965年9月から開始した。1967年4月からすすめられていた立体化工事は1968年10月に完成

した。なお、新宿測定室（東京都新宿区歌舞伎町36）は1年5ヵ月で廃止したのでデータは省略した。

2. 測定装置

一酸化炭素の連続測定装置は赤外線吸収方式のもので、最初は測定範囲 0~200 ppm の装置を使用した。その後、更新を行ない現在は 0~50 ppm である。測定値は時間単位に整理し、統計処理はコンピューターで行なっている。各測定室には一酸化炭素の他に窒素酸化物、浮遊粉じん、いおう酸化物の各測定装置、さらに霞ヶ関測定室では交通量と著者らの開発したホルムアルデヒドの測定装置が収納されている。

測定結果および考察

1. 測定成績の総括

測定成績は Table 1 に一酸化炭素の年度別および 6 カ年の測定数（1 時間単位）と 1 時間値、時刻別平

均值、日別平均値および月別平均値のそれぞれの最低および最高ならびに年平均値を示した。3 地点の 6 年間の一酸化炭素濃度は 1 時間値が最低 0.5 ppm 以下、最高 50 ppm、時刻別平均値が最低 0.5 ppm 以下、最高 17.3 ppm、日平均値が最低 0.5 ppm 以下、最高 19.3 ppm、月平均値が最低 0.8 ppm、最高 11.0 ppm、年平均値は大原町が最も高く 7.2 ppm、つぎが霞ヶ関の 4.1 ppm、最低は板橋の 3.5 ppm である。この傾向はおおむね交通量と対応しているようである。

2. 濃度別分布

Fig. 1 は一酸化炭素の測定値を 1 ppm 以下、2~4 ppm、5~9 ppm、10~14 ppm および 15 ppm 以上の 5 グループに分類し分布の傾向を示したものである。霞ヶ関と板橋の分布の傾向はおおむね似ており、最も多い測定値は 2~4 ppm となっている。一方、大原町は 5~9 ppm の測定値が最も多い。10 ppm 以上の類

Table 1. Summary of carbon monoxide levels in Tokyo (1964~1969)

Unit : ppm

Year	Station	Number of hours	Hour value		Hourly-average		Day-average		Month-average		Year-average
			min	max	min	max	min	max	min	max	
1964	Kasumigaseki	7,673	<0.5	32	<0.5	9.6	0.8	10.6	3.0	5.5	4.4
	Itabashi	5,231	<0.5	17	<0.5	5.5	<0.5	6.4	0.8	2.9	1.9
	Ohara										
1965	Kasumigaseki	8,302	<0.5	26	<0.5	7.6	0.8	7.4	2.8	3.9	3.3
	Itabashi	6,835	<0.5	22	<0.5	6.9	0.8	6.1	1.9	3.4	2.5
	Ohara	1,796 ^{a)}	<0.5	45	<0.5	15.3	0.9	13.9	4.6	7.9	6.6
1966	Kasumigaseki	7,363	<0.5	30	<0.5	6.8	0.5	7.6	1.9	3.7	3.2
	Itabashi	7,760	<0.5	24	<0.5	7.8	0.7	8.9	2.4	3.7	3.0
	Ohara	8,151	<0.5	40	<0.5	17.3	0.8	16.1	5.7	9.7	7.0
1967	Kasumigaseki	6,584	<0.5	50	<0.5	9.3	<0.5	11.8	3.1	5.1	4.1
	Itabashi	7,937	<0.5	26	<0.5	9.1	<0.5	8.9	2.4	4.5	3.0
	Ohara	7,102	<0.5	34	<0.5	17.0	1.3	16.7	5.5	11.0	7.5
1968	Kasumigaseki	8,204	<0.5	39	0.3	11.1	0.5	14.7	2.9	7.0	4.4
	Itabashi	7,067	<0.5	31	0.5	11.6	0.8	13.4	2.8	7.0	4.4
	Ohara	6,085	<0.5	37	0.7	16.3	0.5	19.3	3.4	9.8	6.4
1969	Kasumigaseki	7,666	<0.5	35	0.9	10.1	1.4	12.5	3.9	7.8	5.1
	Itabashi	8,188	<0.5	33	1.4	11.3	2.0	17.4	4.4	7.6	5.9
	Ohara	7,538	<0.5	36	1.9	16.4	1.8	19.0	5.6	10.4	8.3
1964 ~ 1969	Kasumigaseki	45,792	<0.5	50	<0.5	11.1	<0.5	14.7	1.9	7.8	4.1
	Itabashi	43,018	<0.5	33	<0.5	11.6	<0.5	17.4	0.8	7.6	3.5
	Ohara	30,672	<0.5	45	<0.5	17.3	0.5	19.3	3.4	11.0	7.2
1964 ~ 1969	Three stations	119,482	<0.5	50	<0.5	17.3	<0.5	19.3	0.8	11.0	4.9

a) during Sept.~Dec., 1965

度（%）をみると、大原町が最も高く30.1%，以下霞ヶ関7.7%，板橋5.0%となっている。3地点（測定総数119,482）の平均は1 ppm 以下は21.7%，2～4 ppm は36.2%，5～9 ppm 27.9%，10～14 ppm 10.0%，15 ppm 以上は4.3%である。

3. 日変化

日変化は Fig. 2 に示すように午前5時頃が最低

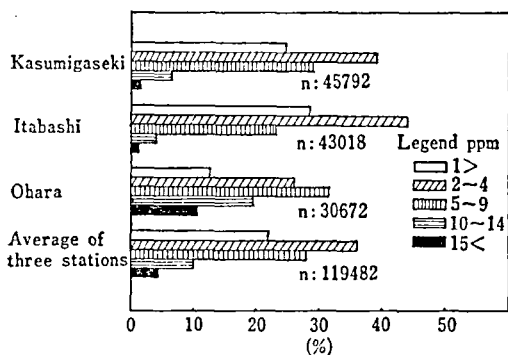


Fig. 1. Frequency distribution of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1969)

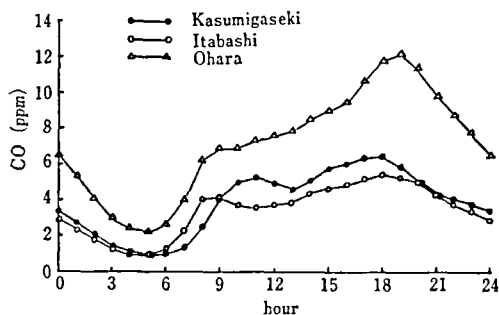


Fig. 2. Hourly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1969)

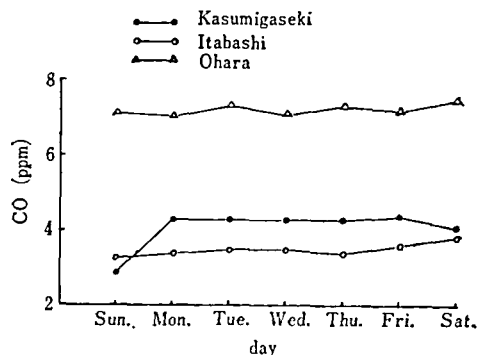


Fig. 3. Weekly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1969)

で、その後、午前は小さい、午後は大きい2山パターンである。これらの変化は交通量の日変化におおむね対応している。

4. 週変化

週変化は Fig. 3 に示すように霞ヶ関は日曜と平日とは明らかに差がみられるが板橋と大原町ではほとんど差がない。これは霞ヶ関は官庁街のため、日曜の交通量が平日より減少するためと考えられる。日曜および平日の平均値は霞ヶ関 2.9 ppm および 4.3 ppm, 板橋 3.3 ppm および 3.5 ppm, 大原町 7.1 ppm および 7.2 ppm である。

5. 月変化

季節別の一酸化炭素濃度は Fig. 4 にみられるように3地点とも冬季と夏季にはあまり顕著な差はみられない。このことは3地点とも車道に近いため気象条件

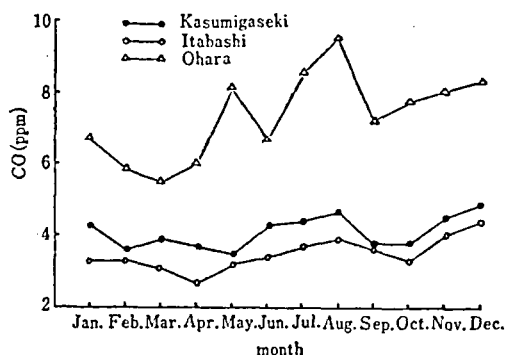


Fig. 4. Monthly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1969)

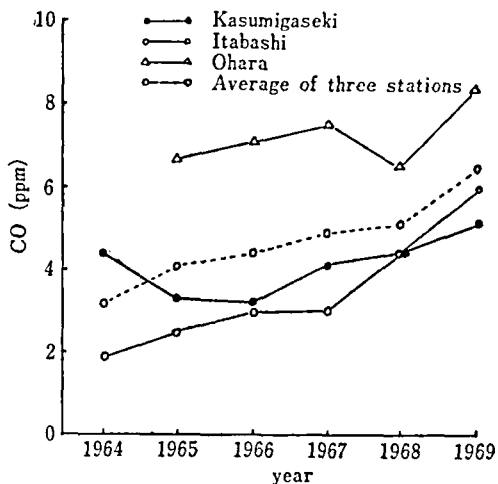


Fig. 5. Yearly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1969)

(特に大気安定度)よりはむしろ自動車からの直接の影響を受けるものと推定される。

6. 経年変化

Fig. 5 は一酸化炭素濃度の経年変化を示したものである。役ヶ関の経年変化をみると1964年には4.4 ppmであったが、1965年には3.3 ppmに減少、1966年には横ばい状態で3.2 ppm、その後、1967年4.1 ppm、1968年4.4 ppm、1969年5.1 ppmと上昇を示している。板橋については1964年1.9 ppm、1965年2.5 ppm、1966年3.0 ppmと年々わずかずつ上昇したが1967年3.0 ppmと横ばいとなり、以後再び上昇し、1968年、4.4 ppm、1969年5.9 ppmとなっている。大原町は1965年6.6 ppm、1966年7.0 ppm、1967年7.5 ppmと年々上昇を示したが、1968年には6.4 ppmに減少、1969年には再び上昇して8.3 ppmと8 ppmを上廻った。大原町の1968年の濃度が減少したのは1968年に、

Table 2. Correlation between carbon monoxide and traffic density at Kasumigaseki in Tokyo (1961~1969)

Year	Regression equation	N	r
1964	CO ppm=0.0018 T+0.8	24	0.49
1965	CO ppm=0.0020 T+0.4	512	0.72
1966	CO ppm=0.0017 T+0.7	617	0.61
1967	CO ppm=0.0020 T+1.5	506	0.54
1968	CO ppm=0.0019 T+2.2	7,696	0.46
1969	CO ppm=0.0016 T+3.4	6,490	0.43

T : traffic density (cars/hr)
N : number of samples
r : coefficient of correlation ($\alpha=0.01$)

Table 3. Frequency and Number of days of carbon monoxide concentration more than 10 ppm for 1 day

Year	Kasumigaseki			Itabashi			Ohara		
	Number of days	More than 10 ppm for 1 day	Frequency (%)	Number of days	More than 10 ppm for 1 day	Frequency (%)	Number of days	More than 10 ppm for 1 day	Frequency (%)
1964	328	1	0.3	223	0	0			
1965	349	0	0	291	0	0	75 ^{a)}	11	14.7
1966	314	0	0	332	0	0	344	56	16.3
1967	287	1	0.4	339	0	0	302	61	20.2
1968	347	7	2.0	297	4	1.3	256	43	16.8
1969	323	7	2.2	343	17	5.0	319	87	27.3
1964~1969	1,948	16	0.8	1,825	21	1.1	1,296	258	19.9

a) during Sept.~Dec., 1965

立体交差工事のため一部交通制限が行なわれたこと、および大気の入入口が車道端から4m後方の建物寄りに移動したことが原因と考えられる。3地点の濃度は年々増加する傾向にある。

7. 一酸化炭素と交通量の相関について

役ヶ関測定室において交通量の連続測定を行なっているので、年次別の一酸化炭素濃度と交通量について単相関を求めたところ、いずれも高い正の相関がみられた。相関式、試料数および相関係数はTable 2に示すようである。

年次別の相関式をみると交通量がなくても一酸化炭素は検出されることになり、この一酸化炭素をバックグラウンドと仮定すると、都市大気中の一酸化炭素のバックグラウンドは1964年0.8 ppm、1965年0.4 ppm、1966年0.7 ppm、1967年1.5 ppm、1968年2.2 ppm、1969年3.4 ppmとなり年々増加の傾向である。

8. 一酸化炭素と環境基準

昭和45年2月20日一酸化炭素の環境基準が閣議決定された。その内容をつぎに示す。

環境基準の内容

人の健康に関する一酸化炭素の環境基準は、一酸化炭素による影響の特性にかんがみ年間を通じて常に次の(1)および(2)の条件が維持されるものとする。

1. 連続する8時間における1時間値の平均が20 ppm以下であること。
2. 連続する24時間における1時間値の平均が10 ppm以下であること。

(1) 24時間平均値 10 ppm 以上

環境基準では24時間移動平均値10 ppm以下と規定しているが、ここでは環境基準を上廻る回数をみるた

Table 4. Number of carbon monoxide concentration more than 20 ppm for 8 hour

Year	Kasumigaseki		Itabashi		Ohara	
	Number of hours	More than 20 ppm for 8 hour	Number of hours	More than 20 ppm for 8 hour	Number of hours	More than 20 ppm for 8 hour
1964	7,673	0	5,231	0		
1965	8,302	0	6,835	0	1,796 ^{a)}	5
1966	7,363	0	7,760	0	8,156	29
1967	6,584	2	7,937	0	7,102	15
1968	8,204	2	7,067	2	6,085	13
1969	7,666	2	8,188	6	7,538	20
1964～1969	45,792	6	43,018	8	30,672	82

a) during Sept.～Dec., 1965

めに便宜上日平均 10 ppm 以上の出現回数を対比してみた (Table 3)。大原町の出現率が圧倒的に高く、1965年14.7%、1966年16.3%、1967年20.2%、1968年16.8%、1969年には実に27.3%に達し測定日数の約3分の1が1日平均 10 ppm 以上となっている。霞ヶ関は出現率は1964年0.3%、1965年と1966年はなし、1967年0.4%、1968年2.0%、1969年2.2%で年々増加している。板橋は1964年から1967年の間は1回も出現しなかったが、1968年1.3%、1969年は5.0%と増加した。出現率は季節的には板橋と霞ヶ関は11月から2月に高く、一方、大原町は夏季が高い。

(2) 8時間平均値 20 ppm 以上

Table 4 に示すように出現回数は大原町が圧倒的に多く、1965年5回、1966年29回、1967年15回、1968年13回、1969年20回である。霞ヶ関は1964年から1966年の間は1回もなく、1967年から1969年までは毎年2回ずつ出現している。板橋は1964年から1967年までは1回の出現もなく、1968年2回、1969年6回出現している。6年間3地点の全発生回数は96回 (総時間数 768 時間) で季節的に冬季に多く発生している。発生の最も多い時間帯は17時から24時の24回、16時から23時、23回、15時から22時、15回、14時から21時、10回となっている。このように夕方から夜中にかけて高濃度汚

染が発生するのは気象条件が大きく影響しているものと考えられる。3地点とも基準値を上廻る日数あるいは回数は増加の傾向にある。

ま と め

東京都内3地点 (いずれも車道付近) における最近6年間 (1964～1969) の一酸化炭素濃度測定結果をまとめるとつぎのようである。

- (1) 年平均値は 2～8 ppm の範囲である。
- (2) 1時間値は 0.5 ppm 以下から 50 ppm の範囲である。
- (3) 交通量と高い相関がある。
- (4) 季節による変化はあまりないようである。
- (5) 3地点の濃度は環境基準値を上回っている。
- (6) 一酸化炭素の濃度は年々増加の傾向にある。

文 献

- 1) 日本政府：公害の状況に関する年次報告書、昭和44年度、昭和45年度
- 2) 国立衛生試験所、厚生省環境衛生局公害部：東京都内3地点の大気汚染測定網測定結果の概要、1965年、1966年、1967年、1968年、1969年

法定色素中の有機性不純物について

外村正治・小幡利勝・狩野静雄・村松ひろみ*
 南城 実**・荒木常子**・志賀拓夫***・石田達也***

On the Organic Impure Compounds in Coal-Tar Colors for Cosmetics

Masaharu TONOMURA, Toshikatsu OBATA, Shizuo KANO, Hiromi MURAMATSU,
 Minoru NANJO, Tsuneko ARAKI, Takuo SHIGA and Tatsuya ISHIDA

α -Naphthol and β -naphthol were studied, to be the organic impure compounds in coal-tar colors for cosmetics. They were analysed by thin layer chromatography and gas chromatography.

The result was that, even on the same kind of color, the amounts of β -naphthol in each sample were considerably different.

Also, β -naphthol was found especially a large amount in some samples of Lake Red CBA (Aka-204), Lithol Red BA (Aka-207) and Lithol Red SR (Aka-208).

(Received May 31, 1971)

最近、食品、化粧品などに配合されるタール色素の安全性についての再検討がしばしば話題となっている。これを進めるに当って、特に化粧品に使用されるものでは、その製品としての特性上、品目数も多く説明を要する数々の問題点が考えられる。この一つとして色素中に混在する有機性不純物がある¹⁾。

現在、化粧品に使用が認められているタール色素は省令^{2,3)}によって定められ、計88品目である。これらについては乾燥減量、塩化物、硫酸塩、純色素、鉛、ヒ素などの項目があるが、有機性不純物に関するものは、エーテルエキス、石油エーテルエキス、融点などといったものにすぎない。しかし、タール色素は、性質上製造行程中にややもすれば原料、反応中間物、副反応物などの有機性不純物の残存が考えられ、その存否について十分考慮すべきである。そこでわれわれはまずタール色素原料として広く用いられ、その上、毒性などの点でもあまり好ましくないと考えられている α -ナフトール、 β -ナフトールについて検討を行なった。現在、化粧品に配合が認められているタール色素中で、化学構造上これらの混在が考えられる16品目を選び、まず薄層クロマトグラフィー (TLC) により予備調査を行なった。つぎにその結果からこれらが比較的多量に存在すると推定された試料について定量的に比較検討を行なうため、ガスクロマトグラフィー (GC) による簡易定量を試みたのでそれらの結果を報告する。

実験方法

1. 薄層クロマトグラフィーによる予試験

試料 0.5 g をメタノール 10 ml で2回抽出し、遠心分離し、濃縮して全量 5 ml とした。この液 5 μ l をシリカゲル薄層板を用いて展開剤クロロホルム、エチルエーテル、石油エーテル (40:10:5) でTLCを行ないヨウ素蒸気中に放置した。その呈色度を、同時に操作した 5 μ g 相当量の α -ナフトール、 β -ナフトールの標準スポット (色素中 0.1% 相当) と比較した。

2. ガスクロマトグラフィーによる試験

2.1 装置および条件

装置：島津 GC-3AF 型 (水素炎イオン化検出器付) を用いた。

カラム：5% neopentyl glycol succinate poly ester の1%リン酸処理充てん剤 (担体、日本クロマト工業 Celite 545 AW 60~80 mesh) を内径 3 mm 長さ 1 m のコイル形ステンレスカラムに充てんしたものをを用いた。

カラム温度は 185°, キャリヤーガス (N_2) 流速は約 90 ml/min で行なった。

2.2 試験溶液の調整および試験操作

各種性状の異なる色素を、試料とすることを考慮して GC 用検液の調製にはつぎの3法を試みた。各法とも色素試料は 1 g を用いた。①法はメタノール 20 ml で3回抽出し、遠心分離し、メタノール層をとり、これを濃縮し、GC 用試料とした。②法はエーテル 20 ml で3回抽出し、5%塩酸および水で洗浄する。これを5%水酸化ナトリウム 20 ml で3回再抽出を行な

* 日本化粧品工業連合会

** 資生堂化学研究所

*** ポーラ化粧品研究所

い、さらに塩酸性にしてベンゼン 20 ml で 3 回抽出した。ベンゼン層を水洗して濃縮し GC 用試料とした。③法はクロロホルム 20 ml で 3 回抽出し、遠心分離、濃縮して GC 用試料とした。

上記のように調製した試料に内部標準としてパラオキシ安息香酸 *n*-プロピルエステルの 0.1% アセトン溶液 2 ml を加え GC を行なった。なお試料導入口には、リン酸処理したガラス綿をやや過量につめて試料中夾雑物の除去をはかった。

実験結果および考察

1. TLC による試験について

実験方法 1 にしたがって TLC を行なうとき、 α -ナフトールは R_f 0.82 確認限界 0.2 μ g、 β -ナフトールは R_f 0.72 確認限界 0.1 μ g で、やや近接しているが色調を異にした良好なスポットを示し、抽出液中のその他の夾雑物ともほぼ完全に分離確認できた。

色素試料について行なった結果を Table 1 に示す。これより α -ナフトールを検出した検体はほとんどないが、 β -ナフトールは赤色 204、赤色 207、赤色 208、赤色 221、赤色 228 およびだいたい色 203 について標準スポットの 2 倍以上呈色していると見られる検体が出された。

2. α -ナフトール、 β -ナフトールの GC について

実験方法 2 にしたがって GC を行なうとき、Fig. 1 に示すように、 α -ナフトールと β -ナフトールのピークはやや近接しているが分離定量は十分可能と思われる。内部標準としてフェナンスレン、アセトアニリドなどについても検討してみたが、検液中の夾雑物による影響などを考え、パラオキシ安息香酸 *n*-プロピルエステルを選んだ。よってこの 0.1% アセトン溶液一定量を添加して検量線を作成するとき、Fig. 2 に示すような直線性が認められ、ほぼ良好な結果を得ることができた。

Table 1. Results of analysis of α -naphthol and β -naphthol by TLC

Sample	No.	α -naphthol	β -naphthol	Sample	No.	α -naphthol	β -naphthol
Aka-203	1	—	++	Aka-221	8	—	++
Aka-204	1	—	±	"	9	—	+++
"	2	—	±	"	10	—	+++
"	3	—	++++	Aka-225	1	—	+
"	4	—	++++++	Aka-228	1	—	++++++
"	5	—	+++	"	2	—	++
"	6	—	+++	"	3	—	+++
"	7	—	+++	"	4	—	++
"	8	+	+	"	5	—	++++++
Aka-205	1	—	+	Aka-501	1	—	+
Aka-206	1	—	±	Aka-505	1	—	—
Aka-207	1	—	+	Aka-506	1	—	—
"	2	—	++++++	"	2	—	—
"	3	—	±	Daidai-203	1	—	±
Aka-208	1	—	++++	"	2	—	+++
"	2	—	—	"	3	—	++
"	3	—	+++	"	4	—	++++++
"	4	—	++++++	"	5	—	+++
"	5	—	+	"	6	—	++++++
Aka-221	1	—	++	"	7	—	++++++
"	2	—	+	Daidai-205	1	—	++
"	3	—	++++	"	2	—	—
"	4	—	+++	"	3	—	—
"	5	—	+++	Daidai-402	1	—	—
"	6	—	++++++	Daidai-403	1	—	—
"	7	—	+++				

(++ : 0.1% α -naphthol or 0.1% β -naphthol)

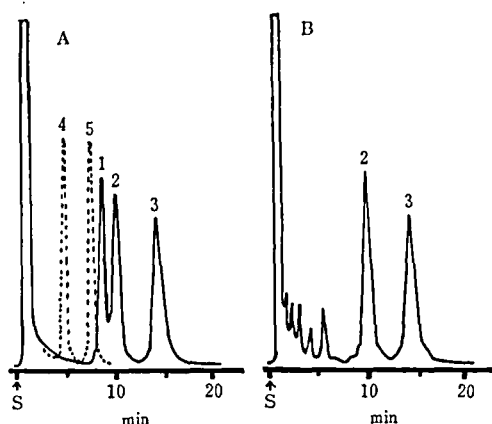
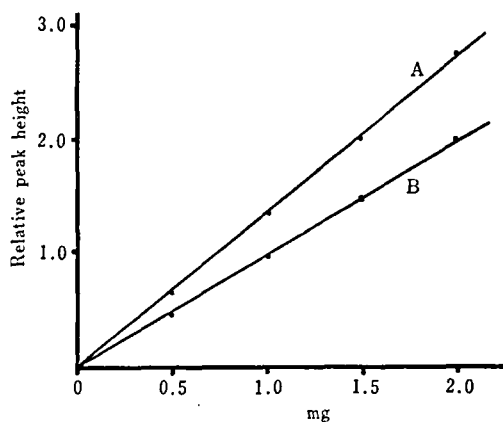


Fig. 1. Gas chromatograms

A : Standard chart

B : Chart of β -naphthol added to coal-tar color (Aka-221)1 : α -naphthol, 2 : β -naphthol, 3 : *n*-propyl *p*-hydroxybenzoate, 4 : acetanilide, 5 : phenanthreneFig. 2. Calibration curves of α -naphthol (A) and β -naphthol (B)

3. GC 用試料の抽出濃縮方法と添加試験結果について

色素試料の抽出操作方は、今回対照としたものでは、そのほとんどが①法のメタノール抽出で良好な結果が得られた。しかし、メタノール可溶で、夾雑物の多い色素については②法がよく、また水可溶性の色素は③法が簡易で有利と考えられる。

Table 2 に示すように α -ナフトール、 β -ナフトールの抽出溶媒の濃縮時における消失をみると、メタノール、ベンゼン各溶液では消失は少なく良好であ

Table 2. Loss of α -naphthol and β -naphthol on evaporating the solvent

Solvent	α -naphthol		β -naphthol	
	added	recovery	added	recovery
	mg	%	mg	%
Methyl alcohol (60 ml)	1.000	99.2	1.000	99.7
Acetone (//)	//	95.8	//	98.3
Benzene (//)	//	99.1	//	99.9
Chloroform (//)	//	96.9	//	98.6
Ethyl ether (//)	//	12.2	//	79.4

Table 3. Recovery test of α -naphthol and β -naphthol in coal-tar colors for cosmetics

Sample	Method	α -naphthol		β -naphthol	
		added	recovery	added	recovery
		mg	%	mg	%
Aka-203 (1g)	①	1.000	95.5	1.000	101.0
Aka-204 (//)	//	//	97.7	//	97.1
Daidai-203 (//)	//	//	94.9	//	101.9
Aka-204 (//)	②	//	86.7	//	91.8
Daidai-203 (//)	//	//	86.9	//	98.0
Daidai-402 (//)	③	//	94.0	//	97.2

る。しかし、エーテル溶液は α -ナフトールの消失が著しく、従って②ではエーテル抽出を行なっているが最終的にはベンゼンに転溶して濃縮することとした。

クロロホルム溶液はやや消失がみられるが、有機溶剤不溶の水溶性色素については直接抽出濃縮できる簡易性のため③法を適用した。また、これらの抽出濃縮方法は、TLC の試料調製にも利用できた。

つぎに実際の色素について α -ナフトール、 β -ナフトールを添加して先に述べた 3 法で回収実験を行なった。その結果 Table 3 に示すように、①法では色素品目によりややプラス誤差を生ずる傾向があり、②法では再抽出操作が入るため特に α -ナフトールがやや消失低下する傾向があるが、簡易法としては実用可能と考えられた。また③法についても、水溶性色素に適用可能な結果が得られた。

4. 色素試料からの定量結果について

TLC によって β -ナフトールが多く検出された試料を主体に定量試験を行なった結果を Table 4 に示す。これから同一品目でも試料による差がかなり見られ

Table 4. Determination of α -naphthol and β -naphthol in coal-tar colors for cosmetics

Sample	No.	α -naphthol	β -naphthol	Sample	No.	α -naphthol	β -naphthol
		%	%			%	%
Aka-204	1	—	0.011	Aka-221	6	—	0.356
"	2	—	0.008	"	7	—	0.145
"	3	—	0.186	"	8	—	0.095
"	4	—	1.062	"	9	—	0.165
"	5	—	0.135	"	10	—	0.140
"	6	—	0.143	Aka-228	1	—	0.379
"	7	—	0.137	"	2	—	0.113
"	8	0.034	0.036	"	3	—	0.164
Aka-207	1	—	0.126	"	4	—	0.122
"	2	—	1.058	"	5	—	0.320
"	3	—	0.042	Daidai-203	1	—	0.012
Aka-208	1	—	2.068	"	2	—	0.181
"	2	—	0.010	"	3	—	0.137
Aka-221	1	—	0.120	"	4	—	0.396
"	2	—	0.039	"	5	—	0.148
"	3	—	0.232	"	6	—	0.317
"	4	—	0.142	"	7	—	0.282
"	5	—	0.129				

た。β-ナフトールは赤色204-4、赤色207-2および赤色208-1は異常に高い値を示した。また他の品目についても赤色221-3、-6、赤色228-1、-5、だいだい色203-4、-6、-7などのようにやや高い定量値を示すものが見られた。

今回用いた試料は手持ちの品または安易に入手可能であったものに限られるため、現在市場に流通しているもののみではない。したがってこれらの結果から即断することはできないが、時折こうしたβ-ナフトール含量の高い試料が存在する可能性のあることは十分考慮すべきである。

今後、タール色素の安全性等の検討を進める上で、

このような色素中に混在する有機性不純物についても、その実状を明らかにしておくことが必要なものと考えられる。

文 献

- 1) 志賀拓夫，遠藤往男：日本化粧品技術者連合会誌，6，7（1970）
- 2) 厚生省令第30号（昭和41年8月31日），官報，号外109号（1966）
- 3) 厚生省令第3号（昭和42年1月23日），官報，第12030号（1967）

ろ紙クロマトグラフィーによるアミノ酸の検出限界について

石 綿 肇・加 藤 三 郎

The Detection Limits of Amino Acids on Paper Chromatography

Hajimu ISHIWATA and Saburō KATō

A study on the detection limits of 10 kinds of amino acids on paper chromatography was carried out. In this method, in generally, the basic amino acids were detected at $0.5 \sim 2 \mu\text{g}$, while, the other amino acids were $0.05 \sim 0.1 \mu\text{g}$, and it was shown that detection limits differed by judges. Conditions and results were shown in Table 2.

Ninhydrin used for color development (for amino acid autoanalyser) was shown to have the highest sensitivity (see Table 1).

(Received May 31, 1971)

現在の食品添加物公定書¹⁾において、アミノ酸類の成分規格としてろ紙クロマトグラフィー (PPC) が採用されているのは純度試験としては DL-スレオニン、L-スレオニンの 2 品目についてのみであり、それらの不純物としてのアロスレオニン等の限度試験を行なっているにすぎない、しかしながら、アミノ酸類の成分規格としては全品目について PPC を採用し、各品目の確認の意味も含め、それらの含有する副成物～不純物としての他のアミノ酸の限度試験を行なうのが適当と考えられる。

そこでその基礎資料として、現在の食品添加物公定書に採用されている純度試験「他のアミノ酸」の規定を基本にして日本薬局方²⁾、日本工業規格³⁾などを参照し、各品目のアミノ酸に含まれる不純物としての他のアミノ酸の検出限度について実測したのでその結果を報告する。なお本実験のため、各種ニンヒドリン製品の発色強度を比較した結果もあわせて報告する。

実 験 方 法

1. 装 置

1) 展開容器 東洋濾紙 K.K. 製 $40 \times 40 \text{ cm}$ 用キャビネットを使用した。

2) ろ紙 公定書ろ紙クロマトグラフィー用ろ紙 No. 2 号と同等な紙質として東洋濾紙 No. 50 を用いた。ただし、大きさは多種の試料について同一条件で併行して行なうため $40 \times 40 \text{ cm}$ のものを用いた。

3) 乾燥器 大きさは内側が $50 \times 50 \times 50 \text{ cm}$ でろ紙を垂直に懸垂できる通常の定温乾燥器を用い、温度を $100^\circ \pm 1^\circ$ に調整した。

2. 試 料

各アミノ酸は日本工業規格特級相当品 (味の素製品、田辺製薬製品) を用いた。

3. 試 薬

1) 展開溶媒用試薬 *n*-ブタノール (Bu-OH)、酢酸 (Ac-OH)、メチルエチルケトン (MEK)、濃アンモニア水、ジシクロヘキシルアミン (DCHA) およびアセトンは試薬特級をそのまま用いた。

2) 発色剤 A (和光純薬オートアナライザー用)、B (同社試薬特級)、C (東京化成試薬特級)、D (キシダ化学試薬特級)

4. 操作法

A. 溶液における発色

1) 液検 L-アスパラギン酸 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、グリシン $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、L-リジン塩酸塩 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように作製した。

2) 発色剤 ニンヒドリン 0.1 g に水を加えて 100 ml にする。

3) 緩衝液 0.2 M クエン酸緩衝液 ($\text{pH } 5.1 \pm 0.1$)

4) 発色条件 液検 1 ml 、緩衝液 0.5 ml 、発色剤 1 ml を加え 100° で 15 分間加熱した。発色終了後適宜希釈し、日立分光光度計 M-101 を用い $570 \text{ m}\mu$ で吸光度を測定した。

B. ろ紙クロマトグラフィー

1) 試料溶液 各アミノ酸を 0.01 , 0.02 , 0.05 , $0.1 \mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ または 0.2 , 0.5 , 1.0 , $2.0 \mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ となるように試料溶液を作製した。

2) 展開溶媒 I) Bu-OH : Ac-OH : 水 ($5 : 1 : 2$)、II) Bu-OH : MEK : 濃アンモニア水 : 水 ($5 : 2 : 1 : 1$)、III) Bu-OH : アセトン : DCHA : 水 ($10 : 10 : 2 : 5$)

3) 発色剤 a) 0.2% ニンヒドリン/水飽和 Bu-

OH, b) 0.2% ニンヒドリン/Bu-OH : Ac-OH : 水 (5 : 1 : 2)

4) ろ紙クロマトグラフィー ろ紙の下端より 4 cm 上方に 3 cm おきに試料溶液 5 μ l を 1 回にスポットした。風乾後、上記展開剤を用いて室温にて約 30 cm 展開し、100° で 20 分間乾燥したのち、Table 2 の組合せにより約 2 ml の発色剤をろ紙全面に約 15 cm の距離より噴霧し 100° で 5 分間発色した。発色終了後 1 時間以内に自然光下で上方より観察してはん点の有無をみた。観察は無作為に選んだ化学分析担当者 8 名 (A~H) により行ない、個々の観察結果は +, $\pm$, - により報告を求め記録した。

結 果

1. 各種ニンヒドリンの比較を行なったところ、Table 1 に示されたように、吸光度はアミノ酸オートアナライザー用 (A) を用いた場合に最も高い値が得られた。

2. ろ紙クロマトグラフィーによる検出限界を

Table 2 に示した。総合判定は個々の判定結果の + を 1, $\pm$ を 0.5, - を 0 とし 8 名分を合計したのち 8 に対する % で示し、検出率 0~15% を -, 16~84% を $\pm$, 85~100% を + とした。

Table 1. Comparison of commercial ninhydrin reagents

	L-Aspartic acid	Glycine	L-Lysine·HCl
A	0.432	0.386	0.655
B	0.380	0.349	0.599
C	0.374	0.346	0.598
D	0.380	0.356	0.585

A : for amino acid autoanalyser use

B : commercial reagent

C : commercial reagent

D : commercial reagent

* Determination was carried out with Hitachi spectrophotometer at 570 m μ .

* Results were shown by optical density.

Table 2. The detection limits of amino acids on paper chromatography

Kinds of amino acids and spotted amount (μ g)	Solvent and ninhydrin	Detection								Detected ratio (%)	Judgements
		A	B	C	D	E	F	G	H		
L-Aspartic acid	I										
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.05		+	+	+	+	+	+	+	$\pm$	94	+
0.10		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
L-Cystine	I										
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.05		+	-	-	-	-	+	-	$\pm$	31	$\pm$
0.10		+	-	-	-	+	+	-	+	50	$\pm$
L-Glutamic acid	I										
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.05		+	+	-	+	+	+	+	$\pm$	81	$\pm$
0.10		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
L-Leucine	I										
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		+	-	-	-	-	+	-	-	25	$\pm$
0.05		+	+	-	+	-	+	$\pm$	$\pm$	63	$\pm$
0.10		+	+	-	+	-	+	$\pm$	$\pm$	63	$\pm$
L-Lysine·HCl	I										
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		+	-	-	-	-	+	-	-	25	$\pm$

(Continued)

Kinds of amino acids and spotted amount (μ g)	Solvent and ninhydrin	Detection								Detected ratio (%)	Judgements
		A	B	C	D	E	F	G	H		
0.05	L-Valine	+	+	-	+	+	+	+	±	81	±
0.10		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		+	-	-	-	-	-	-	-	13	-
0.05		+	-	±	+	±	+	-	+	63	±
0.10	L-Leucine	+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
0.01		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.02		-	-	-	±	-	-	-	-	6	-
0.05		+	±	±	+	±	+	-	+	69	±
0.10		+	+	+	+	+	+	±	+	94	+
L-Arginine·HCl	III										
0.2		+	+	±	+	+	+	+	±	88	+
0.5		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
1.0		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
2.0		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
L-Histidine	III										
0.2		-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
0.5		-	-	±	-	-	-	-	-	6	-
1.0		-	-	±	-	±	-	-	-	13	-
2.0		-	-	±	-	±	+	-	-	25	±
L-Lysine·HCl	III										
0.2		-	-	-	±	-	-	-	-	6	-
0.5		+	+	±	+	±	+	+	+	88	+
1.0		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+
2.0		+	+	+	+	+	+	+	+	100	+

* Solvents and ninhydrin solution :

I Bu-OH : Ac-OH : water (5 : 1 : 2)

a) 0.2% ninhydrin/water-saturated Bu-OH

II Bu-OH : methylethylketone : conc. ammonia : water (5 : 2 : 1 : 1)

a) 0.2% ninhydrin/water-saturated Bu-OH

III Bu-OH : acetone : dicyclohexylamine : water (10 : 10 : 2 : 5)

b) 0.2% ninhydrin/Bu-OH : Ac-OH : water (5 : 1 : 2)

* Ninhydrin used was a reagent for amino acids autoanalyser.

* Judgements were as followed

-.....detected ratio 0~15%

±.....detected ratio 16~84%

+.....detected ratio 85~100%

* A~H present eight judges

考察およびまとめ

ろ紙クロマトグラム上のアミノ酸類のニンヒドリン試液による呈色はその発色操作の諸条件により変動しやすく、とくにニンヒドリンの品質に大きく影響され

ると考え、数種の市販試薬の呈色度を比較した結果、アミノ酸オートアナライザー用(A)を選定して用いた。またその試液は保存によって呈色度が低下するので、用時調製した。ただし、密せんして冷蔵するとき、約1週間は大きな変動を示さなかった。ろ紙上のはん

点の検出限界判定には観察者の個人差がみられ、アミノ酸量にして2～4倍の差のあることがわかった。本実験の結果による検出量の限界を要約するとつぎのようになる。

a) 展開剤Ⅰ、Ⅱおよび発色剤aを組合せた酸性および中性アミノ酸においては、おおむね0.05～0.1 μg以上を検出する。

b) 展開剤Ⅲおよび発色剤bを組合せた塩基性アミノ酸類においては、おおむね0.2～0.5 μg以上を検出する。ヒスチジン塩酸塩においてはテーリングが大きく、明確な結果が得られなかった。

本実験の再現性については、数種のアミノ酸について行なった著者らの予備実験においてはかなり良好であったが、装置、温度、試薬などが類似ではあつて

も、まったく別のものによる他の実験室の結果とは必ずしも一致しない。その主因はニンヒドリンの品質によるものと考えられるが、これらの条件の統一を含め他の実験室との共同実験による判定の変動を求めておくことが純度試験には必要と考えられる。

なお本実験は食品添加物部一同ならびに味の素 K. K. 試験課、田辺製薬試験課の御協力によって行なったものであり深く感謝する。

文 献

- 1) 厚生省：第二版食品添加物公定書 (1966)
- 2) 厚生省：第8改正日本薬局方二部 (1971)
- 3) 日本工業規格 JIS K 9045～9055 (1961)

原料乳の乳脂肪および無脂固形物の偽和の検出例について

慶田雅洋・海老根涼子・谷村顕雄

An Illustration of the Adulteration of Milk Fat and Solids-Not-Fat of Raw Milk

Masahiro IWAIDA, Ryoko EBINE and Akio TANIMURA

An adulteration of raw milk was pointed out in November, 1970. Both white powder and white viscous milky liquid were seized as the evidence. The white powder was dissolved in water, then was combined with the white viscous milky liquid, preliminarily diluted with water. It was presumed that the two materials were aimed for the substitution of solids-not-fat and milk fat of raw milk, respectively.

A study was made to make clear some physical and chemical characteristics of these two substances. The white powder was found to contain 94.96% of lactose monohydrate, its solution being transparent and yellowish. The white powder was judged to be crude lactose used as a medium for the industrial cultivation of moulds. On the other hand, from the melting point, saponification value, iodine value and butyric acid value of the fat fraction, the white viscous milky liquid was found to be oil-in-water type emulsified fat, commercially used as the additive into bread doughs.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

“乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(乳等省令)”¹⁾では、その第2条に“「生乳」とは、さく取したままの牛の乳をいう。「牛乳」とは、直接飲用に供する目的で販売(不特定又は多数の者に対する販売以外の授与を含む)する牛の乳をいう。「加工乳」とは、生乳、牛乳若しくは特別牛乳又はこれらを原料として製造した食品を加工し、又は主要原料としたものであって、牛乳に類似する外観を有し、直接飲用に供する目的で販売するもの(脱脂乳、はっ酵乳及び乳酸菌飲

料を除く)をいう。”と定められている。また、乳等省令別表二の四の(1)により、加工乳以外の乳にあっては他物の混入は禁じられており、加工乳にあっては水及び微量栄養素以外の他物並びに生乳、牛乳又は特別牛乳を原料として製造した食品であつて他物を含むもの(微量栄養素のみを含む調製粉乳を除く。)を使用してはならないことが定められている。すなわち生乳および牛乳は正常な牛の乳房の分泌物以外のものを含んではならないことが示されている。したがって許可されていない他物の添加による原料乳および飲用牛乳の偽和の検出法の確立は重要な問題であると考えられ

る。

ここに、昭和45年に岩手県下で発生した原料乳の脂肪および無脂固形物の代替を目的とした偽和例の発生について検討した結果を報告し、偽和物検出法の確立のための一資料とする。

試料に関する概要

昭和45年11月26日岩手県岩手郡西根町岩手県経済連西根クーラーステーションに持込まれた原料乳 40 kg 余りについて受乳担当員が官能検査を行なったところ、風味に塩味を感じたので、不思議に思い生産者宅を調べたところ、原料乳の“もと”として使用したと思われる脂肪様白色乳液および脱脂粉乳様白色粉剤が発見された。また、生産者よりこの脂肪様白色乳液 15 kg, 脱脂粉乳様粉剤 10 kg および水 180 l を混和して脂肪分約 3.3% の乳白色の液を調製し、このもの2に対し生乳1の割合で混合して偽和生乳を製造したとの供述を得たので、これらの偽和原材料について検査した結果についてここに報告する。

実験方法

水分 98~100°における常圧乾燥法によって測定した。

粗たん白質 ケルダール法²⁾によって測定した窒素含量に6.38を乗じて粗たん白質含量とした。

カゼイン Rowland 法³⁾によって測定したカゼイン窒素量に6.38を乗じてカゼイン含量を求めた。

還元糖 脱脂粉乳様白色粉剤 1.2 g を水に溶かして 200 ml とし、その 100 ml をとりさらに 250 ml にうすめ、レイン・エイノン法³⁾によって測定し、乳糖一水和物 ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$) として求めた。

単糖類と二糖類の区別: Barfoed 反応⁴⁾により行なった。

遊離酸: 脱脂粉乳様白色粉剤 5 g をとり、水に溶かして 100 ml とし、その 10 ml をとり 0.01 N 水酸化ナトリウムを用いて中和滴定を行ない、乳酸%として表示した。

油脂の抽出: 脂肪様白色乳液 15 ml に温水を加えて 150 ml とし、500 ml の分液漏斗に移し、水 50 ml およびアンモニア水 25 ml を加え、十分混和した後に95%エタノール 100 ml を加え1分間振り混ぜ、さらにエーテル 100 ml, 石油エーテル 100 ml を加え、それぞれ1分間振り混ぜ、2層に分離した後に下層を抜取って捨てた。上層に 12.5 g の無水硫酸ナトリウムを加えかき混ぜた後にろ過し、溶剤を揮発して試料を得た。

油脂の融点、けん化価およびヨウ素価: 日本油化学協会の試験法⁵⁾により測定した。

脂肪の酪酸価: 衛生試験法⁶⁾に示された方法により測定した。

実験結果ならびに考察

1. 脱脂粉乳様白色粉剤

a 性状: 本品は特有の酸臭を有する淡黄色の粉末である。本品を口に含むと砂状のざらつきを感じる。これは結晶水の存在によるものと考えられる。本品は水溶性である。本品の (1:9) 水溶液の pH は 5.5 であり、溶状は黄色で微濁状である。

b 化学組成: 試験結果は Table 1 に示す通りである。本品の粗たん白質含量は 0.29% にすぎず、脱脂粉乳は約 35% のたん白質を含むことから考えてみると、本品のたん白質含量はその 1/100 以下であり、しかも Rowland 法によるカゼインたん白質の含量は 0 であることをとも考え合わせると、本品は脱脂粉乳ではないものと断定することができる。

Table 1. Chemical composition of the white powder used for the substitution of solids-not-fat of raw milk

Component	Content (%)
Protein	0.29
Casein	0.00
Non-casein protein	0.29
Lactose monohydrate	94.96
Free acid (as lactic acid)	0.05
Moisture (excluding crystal water)	4.90

炭水化物組成については、本品は Barfoed 反応により単糖類の反応を示さないことが認められた。したがって、含まれている還元糖は二糖類であると考えてレイン・エイノン法により乳糖含量を測定したところ、乳糖一水和物として 94.96% 含まれ、結局本品は大部分が結晶乳糖よりなることが認められた(水分、たん白質、遊離酸および乳糖の合計が 100% を超えるのは、乳糖の結晶水の一部が飛散しているものもあるのに、すべて一水和物として計算したための誤差によるものと考えられる)。

結論として、本品は粗製乳糖であると推定され、水溶液の黄色はホエーに由来するリボフラビンであると考えられる。

乳糖は菓品の賦形剤および育児食品の栄養成分としての用途のほかに、ペニシリン工業における培養基と

して大量に使用され、現在後者については、そのほとんどは輸入粗製乳糖が使用されているものと思われる。粗製乳糖はチーズホエーまたは酸ホエーを原料とし、塩化カルシウムの少量と炭酸ナトリウムを加えて90°に加熱し、沈殿して来るホエーたん白をろ過した後、減圧濃縮して晶出した結晶を遠心分離して調製する⁷⁾。このような輸入粗製乳糖が原料乳の無脂固形物の代替ならびに比重調整のために流用されたものであると考えられる。

2. 脂肪様白色乳液

a 性状：本品は白色の粘ちょうなクリーム状の液体であって、敗油臭でない僅かなにおいを有する。本品は任意の割合に水と混和させることができる。本品より抽出した脂肪は白色であってカロチノイド色素を含まない。

b 化学組成：試験結果は Table 2 に示す通りである。

Table 2. Some physical and chemical characteristics of the white viscous milky liquid used for the substitution of raw milk

Item	Content or specific number
Moisture (%)	38.60
Mp of the fat extracted (°C)	36.1
Saponification value of the fat extracted	184.3
Iodine value of the fat extracted	71.5
Butyric acid value	0

脂肪区分の融点は乳脂肪 (28~38°) と同じ範囲であるが、けん化価は乳脂肪 (210~245) よりもかなり低く、グリセリドの脂肪酸組成は、乳脂肪よりも高級脂肪酸をより多く含むことが認められ、しかも乳脂肪に

特有な酪酸含量は0であることが知られる。これに対して、よう素価は乳脂肪 (25~47) よりもはるかに高く、本品は不飽和脂肪酸を比較的多く含むことが知られる。なお、A社より製パン用液状乳化油脂として発売されている水中油乳化型製品について調べたところ、水分 39.0%，融点 33.4°，けん化価 183.6，よう素価 74.1 であることが認められ、外觀・性状ともにきわめてよく類似していることから、本品はA社製水中油乳化型液状油脂であり、パン練込み用として発売されているものを原料乳の乳脂肪の偽和に流用したものと推定される。

要 約

昭和45年11月岩手県下で発生した原料乳の偽和例について、偽和に使用された脱脂粉乳様白色粉剤および脂肪様白色乳液について試験した結果、それぞれ粗製乳糖およびパン練込み用水中油乳化型液状油脂であることを認めた。

文 献

- 1) 昭和26年12月27日厚生省令第52号 (最終改正昭和44年9月29日厚生省令第31号)
- 2) 東京大学農学部農芸化学教室編：実験農芸化学下巻，p. 646，朝倉書店 (1960)
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法注解，p. 436，金原出版 (1965)
- 4) 東京大学農学部農芸化学教室編：実験農芸化学下巻，p. 409，朝倉書店 (1960)
- 5) 日本油化学協会編：油脂化学便覧，p. 317, 338, 341，丸善 (1969)
- 6) 日本薬学会編：衛生試験法注解，p. 444，金原出版 (1965)
- 7) 今村正男，祐川金次郎：乳製品製造Ⅱ (乳業技術講座 3) p. 357，朝倉書店 (1963)

プラスチックに関する衛生化学的研究 (第 2 報)
市販ポリスチレン製食品容器中の揮発成分の定量について

辰 濃 隆・黒 木 年 光*

Hygienic Chemical Aspects of Plastics. II
Quantitative Determination of Volatile Matters in the Commercial Polystyrene Ware

Takashi TATSUNO and Toshihiro KUROKI

Volatile matters in the commercial polystyrene ware were analyzed by gas chromatography. Maximum values obtained in the test: 13,000 ppm of styrene monomer and 1,000 ppm of toluene were detected.

These results were shown in Table 2.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

ポリスチレンは食品容器包装材として冷蔵、乳酸菌飲料、菓子などの容器や刺身などの簡易受皿などに用いられている。この樹脂に対してのわが国での衛生規制は他のプラスチックと同じように食品衛生法第10条によって行なわれているが、この規制法ではポリスチレンからの揮発成分、すなわち臭の原因物質については触れていない。米国、西独などの諸外国では対象食品およびスチレンモノマーやその他の揮発成分について規格が定まっている。一般的な数字としては材質中にスチレンモノマーが0.5%以下が大半を占めている。わが国ではポリスチレン容器を大量使用しているY乳酸菌飲料会社ではスチレンモノマーについては 500 ppm、総揮発成分としては 1,000 ppm 以下を社内規格として衛生的安全性を推進している。

揮発成分はスチレンモノマーに含まれるトルエン、エチルベンゼン、プロピルベンゼンなどの非重合性有機成分と未反応のスチレンモノマーであり、ポリスチレンの製造工程で大部分を除けるといわれる。

ポリスチレンにはゴム質を強化したものとそのままのもの、さらに発泡剤を加え発泡後成形するものなどがあり、初めのものをハイインパクトポリスチレン(HI)または添加量によったメジウムインパクトポリスチレンと呼び、そのままのものは一般名(GP)で、発泡させたものは発泡ポリスチレンと呼ばれる。

さて揮発成分の定量法であるが、スチレンモノマーについては岡田¹⁾らの吸光光度法、Laitinen and²⁾ら

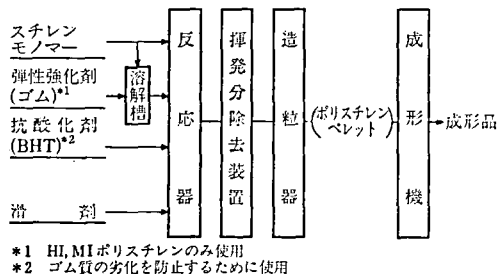


Fig. 1. ポリスチレンの製造工程

のポーラログラフ法や揮発成分を同時に分析するFDA³⁾のガスクロマトグラフ法などがある。今回の分析にはガスクロマトグラフ法を採用し、FDAでは試料液の調製に溶解剤としてメチレンクロライドを用いているが、トルエン、エチルベンゼンらの定量に妨害があるので、ジメチルホルムアミド(DMF)を使用した。

実 験 方 法

使用機器

ガスクロマトグラフ：柳本 GC-550F 型

検出器：水素炎検知器(FID)

カラム：20% カーボワック 20M/クロモソルブ W, 80~60 メッシュ/ステンレス鋼製カラム 3 mmφ×2.25 m

温 度：カラム 100°, 注入口 220°

気体流量：窒素 13 ml/min, 水素 45 ml/min, 空気 80 l/min

試薬

DMF：特級(国産化学)

* 海上自衛隊大湊地方総監部

シクロペンタノール：特級（内部標準物質）

その他揮発成分標準物質（トルエン，エチルベンゼン，イソプロピルベンゼン，*n*-プロピルベンゼン，スチレンモノマー）は三井東圧KKで精製したものをを用いた。

実験操作

試験溶液の調製

市販の試験品を細砕したのち，その1gを精秤し，20mlのメスフラスコに移し，DMFで溶かし定容とする。この液に内部標準溶液として0.1%シクロペンタノール・DMF溶液を1mlを加えて，検液とした。

検量線の作製

各揮発成分をDMF 20ml中に200，400，800，1,000 μ gを含むように調製したのち，0.1%シクロペ

ンタノール1mlを加えてよくふりまぜる。この液2mlを前述のように調整したガスクロマトグラフに適用する。Fig. 2はDMF溶液（a）およびシクロロメタン溶液（b）のガスクロマトグラムで，後者は溶解剤のテーリングのためにトルエン，エチルベンゼンの定量に対して妨害するので，DMFを溶解剤に用いた方が良い。

つぎに検量線は各揮発成分に該当するピーク面積を半値幅法によって測定し，内部標準物質のピーク面積との比を求めてFig. 3の検量線を作製した。各揮発成分のDMF溶液を用いトルエンを1.00とした相対保持時間はTable 1のとおりである。

試験結果および考察

市販の試験試料12種について材質中に含まれる揮発成分量について上記の方法で測定した結果をTable 2に示す。

以上の結果からみるとNo. 6，No. 7を除く試料には1,000 ppm以上のスチレンモノマーが測定され，No. 8では13,000 ppmという量が認められた。このNo. 8の容器は開蓋すると石油臭が強く，使用に耐え

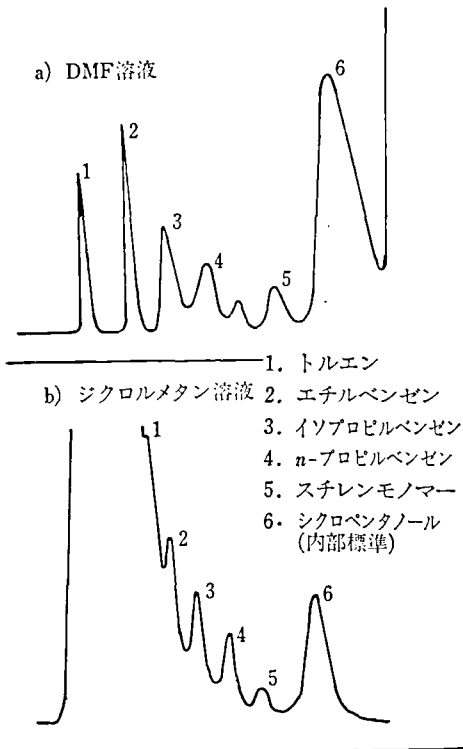


Fig. 2. ポリスチレン中の揮発成分のガスクロマトグラム

検知器：HFID，水素流量：45 ml/min，感度： 10^{10}
カラム：20%カーボワックス 20 M/クロモソルプ W，60～80 メッシュ/ステンレスカラム 3 mm ϕ ×2.25 m
温度：カラム 100°，注入口 220°
気体流量：窒素 13 ml/min，空気：80 l/min
チャートスピード：1 cm/min

Table 1. 各揮発成分の相対保持時間

揮 発 成 分 名	相 対 保 持 時 間
トルエン	1.00
エチルベンゼン	1.56
イソプロピルベンゼン	1.99
<i>n</i> -プロピルベンゼン	2.41
スチレンモノマー	3.08

Table 2. 市販品中の揮発成分量 (ppm)

No.	種 類	ト ル エ ン	エチル ベン ゼ ン	イソ プロ ピ ル ベン ゼ ン	<i>n</i> - プロ ピ ル ベン ゼ ン	スチレン モノ マー
1	HI	—	270	±	—	1,930
2	HI	—	552	—	—	2,280
3	HI	—	431	636	116	2,870
4	HI	—	500	223	75	2,300
5	HI	—	450	±	—	2,360
6	HI	—	160	110	220	230
7	HI	—	100	—	—	300
8	GP	—	343	458	108	12,925
9	GP	356	700	269	75	1,970
10	GP	—	425	354	99	9,990
11	GP	—	363	66	±	1,680
12	発泡	1,301	445	249	205	1,780

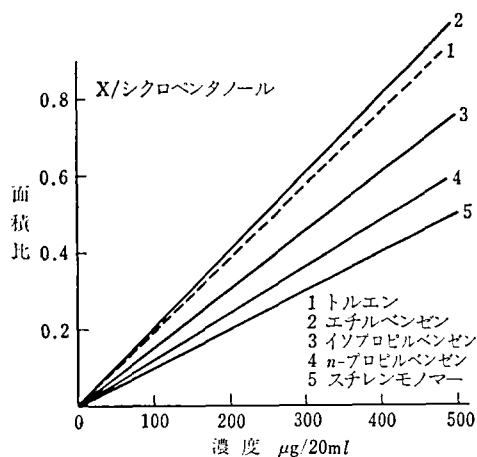


Fig. 3. 揮発成分の検量線

Table 3. 揮発成分の急性および慢性毒性⁴⁾

物質名	急性毒性 (LD ₅₀ g/kg ラット)	慢性毒性* (mg/kg ラット)
スチレン	5.0	133
エチルベンゼン	3.5	136
イソプロピル ベンゼン	1.4	154

* 6 カ月投与にて影響ない量

るものではない。諸外国でスチレンモノマーに対して

5,000 ppm 以下という規格値を出しており、これ以下では石油臭がほとんど認められないといわれるが、発泡スチロール製品の場合は発泡剤に低沸点有機溶媒、主にトルオールを使用するといわれており、この発泡剤が残存すれば、スチレンモノマーと同様の臭を発することが認められた。

スチレンモノマーおよびその他の揮発成分は材質中から常温でも揮散しており、せんべいやビスケットのような多孔性乾燥食品の場合に吸着されることが推定される。

つぎにスチレンモノマーとその他の揮発成分の急性毒性と慢性毒性⁴⁾を参考までに Table 3 に示す。

なおこの研究にあたり、終始御鞭達されました食品添加物部谷村顕雄部長ならびに慶田雅洋第 3 室長に感謝致します。

文 献

- 1) 川城巖, 岡田太郎, 辰濃隆: 衛生試報, **77**, 179, (1963)
- 2) H.A. Laitinen and et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 1765, 2365 (1942)
- 3) FDA Subpart F. 121.2510
- 4) R. Lefaux: *Practical Toxicology of Plastics*, p. 325 (1966), London Iliffe Books Ltd., London

昭和41年から昭和45年度における輸入食肉中の サルモネラの検査結果について

鈴木 昭・河西 勉・小沼博隆

A Survey on the Salmonella Contamination of Imported Meats during 1966~1970

Akira SUZUKI, Tsutomu KAWANISHI and Hirotaka KONUMA

Total 17789 samples of imported meats from various countries were examined for the detection of *Salmonella* during the past five years (1966~1970).

The results were as follows.

Of these samples examined, 2722 were found to be *Salmonella* positive (15.3%) by our routine procedure.

The *Salmonella* contamination rate showed 17.9% in 1966, 15.7% in 1967, 11.1% in 1968, 12.8% in 1969, and 15.7% in 1970, yearly.

10478 strains isolated from 2722 positive samples were identified to 70 different *Salmonella* serotypes.

The predominant serotypes of *Salmonella* were *S. anatum*, *S. minnesota*, *S. good*, *S. oranienburg*, *S. meleagridis*, *S. san-diego*, *S. newport*, *S. muenchen*, *S. saint-paul* and *S. typhimurium* et al.

These serotypes occupied about 90% of isolated strains.

356 stains of 17 different serotypes were sensitive to antibiotics concentration of less than 12.5~25.0 mμg/ml.

The distribution of phage types of *S. typhimurium* isolated from imported meats was very similar to that of strains isolated from an incident of food poisoning in Japan.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

わが国においては、1965年から輸入される食肉の細菌検査（特にサルモネラ検査）が実施され今日にいたっているが、すでに検査初年度（1965年、1966年の前半）の検査成績については前報¹⁾に報告した。今回は、その後の1966年~1970年の5カ年間の成績（ただし、1966年前半は重複する）について報告する。

検 査 方 法

前報¹⁾と基本的には同様であるが、一部増菌培地として Hajna の Tetrathionate 培地、分離用培地として MLCB 寒天培地を使用した。

検査成績および考察

1) 1966年~1970年の5カ年間の検体のサルモネラ汚染状況について

5カ年間に当所に送付された17789検体についてのサルモネラ検査成績を Table 1 に示す。

Table 1 に示すように、5カ年間のサルモネラ陽性率を年次的にみると、1970年になってわずかに上昇のきざしをみせたが、全体的に、次第に低下の傾向を示

し、平均陽性率は15.3% (2722/17789) であった。これを輸出国別では、アルゼンチン馬肉は平均15.4%、ブラジル馬肉は平均13.7%で、陽性率の年次的低下はあまり認められない。パラグアイ馬肉は平均9.2%で、年々陽性率は低下して品質の改善のあとがみられる。これらに反し、オーストラリアのカンガルー肉は平均20.9%で品質の向上が認められず、次第に輸入量も少なくなり、1970年から食肉として輸入されなくなってきた。

1965年の検査初年度の30%~40%の陽性率にくらべ、国によって多少の差が認められるが、全体的に陽性率は低くなり、国内産食肉のそれと同様になり、輸入検査の行政的効果のあらわれと考えられる。参考までに善養寺²⁾ および坂井ら³⁾ による国内産食肉のサルモネラ汚染調査成績を Table 2 に示す。

2) 輸入食肉から検出されたサルモネラ菌型の分布と頻度について

サルモネラ陽性2722検体から10478株を分離し、血清型を決定した結果、70菌型に型別できた。その0-群別および血清型型別の分布を Table 3 に、また血清型の検出頻度順を Table 4 に示す。

0-群別の検出傾向は前報¹⁾と変らなかった。また血

Table 1. *Salmonella* contamination rate of imported meats during 1966~1970

Kind of meats	Countries	Years										Total	
		1966		1967		1968		1969		1970		No. of samples	Positive
		No. of samples	Positive	No. of samples	Positive	No. of samples	Positive	No. of samples	Positive	No. of samples	Positive		
Horse	Argentina	4937	761 (15.4)	1648	307 (18.6)	1960	269 (13.7)	1421	195 (13.7)	671	103 (15.4)	10637	1635 (15.4)
	Brazil	621	107 (17.2)	354	46 (13.0)	956	88 (9.2)	399	66 (16.5)	545	87 (16.0)	2875	394 (13.7)
	Paraguay	60	10 (16.7)	35	4 (11.4)	487	50 (10.3)	142	4 (2.8)	22	1 (4.5)	746	69 (9.2)
	Uruguay	287	86 (30.0)	20	0	22	4 (18.2)	8	0	—	—	337	90 (26.7)
	Mexico	8	0	132	7 (5.3)	368	4 (1.1)	134	0	89	17 (19.1)	731	28 (3.8)
	U.S.S.R.	5	0	5	0	5	0	19	0	1	0	35	0
	Canada	—	—	—	—	2	0	2	6	2	1 (50.0)	6	1 (16.7)
	Poland	—	—	—	—	—	—	12	6 (50.0)	1	0	13	6 (46.2)
	U.S.A.	—	—	—	—	15	0	—	—	—	—	15	0
	South Africa	—	—	4	0	2	0	—	—	—	—	6	0
Kangaroo	Australia	2019	454 (22.5)	298	27 (9.1)	36	11 (30.6)	22	5 (22.7)	—	—	2375	497 (20.9)
Mutton	Australia	—	—	—	—	—	—	—	—	12	2 (16.7)	12	2 (16.7)
Goats	Australia	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	6	0
Total	Total	7937	1418 (17.9)	2496	391 (15.7)	3853	426 (11.1)	2159	276 (12.8)	1344	211 (15.7)	17789	2722 (15.3)

() ; %

Table 2. *Salmonella* contamination rate of domestic meats*

Kind of meats	Prior to 1966		1966~1968	
	No. of sample	Positive (%)	No. of sample	Positive (%)
Beef	38	6 (15.8)	259	16 (6.2)
Pork	43	10 (23.3)	454	41 (9.0)
Chicken	40	11 (27.8)	200	39 (19.5)
Total	121	27 (22.1)	913	96 (10.5)

* Reported by ZENYŌJI²⁾ and SAKAI³⁾

Table 3. Distribution of *Salmonella* 0-group and serotypes

0-Group	No. of serotypes	No. of strains
B	13 (18.6%)	1551 (15.0%)
C ₁	14 (20.0%)	1134 (10.9%)
C ₂	8 (11.4%)	970 (9.4%)
D	5 (7.1%)	97 (0.9%)
E	10 (14.3%)	3834 (37.0%)
Other	20 (28.6%)	2772 (26.8%)
Total	70	10358

清型では *S. anatum* (or *muenster*) は全分離株の約30%, *S. minnesota* は約11%, *S. good* は約9%, *S. oranienburg* は約8%を占め、高頻度に検出される上位10菌型は、全分離菌株の約90%を占めている。このことから輸入食肉から分離される菌型は、ある程度限定される傾向を示した。

3) 輸入食肉由来サルモネラ菌型の年次別推移について

菌型は1965年-5843株-64型, 1966年-7071株-61型, 1967年-1047株-36型, 1968年-1142株-36型, 1969年-625株-25型, 1970年-593株-32型, と減少してきたが、年々、数菌型が出現し、1965年後新しく14菌型が分離され、菌型の流動化が伺われる。これを Table 5 に示す。主要菌型の年次別推移は Table 6 に示す。6カ年間をとし *S. anatum* (or *muenster*) は優勢で、次いで *S. minnesota*, *S. good*, *S. oranienburg*, *S. san-diego* (or *chester*), *S. meleagridis* らは入れ代わりながら上位を占め、1965年~1970年における主要検出、菌型の変動はとくに認められなかった。さらに輸出国別の主要菌型の年次別推移は Fig. 1 に示す。ア

ルゼンチン (馬肉) では *S. anatum* (or *muenster*) は、24%~40%で6カ年間首位を占め、*S. good*, *S. minnesota*, *S. meleagridis*, *S. oranienburg* が続き、最近では *S. derby* の検出はわずかではあるが目立ってきた。また、ブラジル (馬肉) でも *S. anatum* (or *muenster*) は同様首位を占め、*S. minnesota*, *S. oranienburg* と続き、年々の変動にいくぶん巾があった。前者と同様 *S. derby* さらに *S. newport* (or *kottbus*) の検出が目立った。一方、オーストラリア (カンガルー肉) では、*S. san-diego* (or *chester*) は各年の変動は大きい、平均高率に検出され、次いで、*S. oranienburg*, *S. muenchen* (or *manhattan*), *S. anatum* (or *muenster*) が上位を占め、年次別推移は前二者にくらべ変動が大きかった。

4) 輸出国別の相違による菌型の異同および共通性について

1965年以来5カ年間に輸入された食肉から16321株を分離し、78菌型に型別した菌型のうち、1菌型について50株以上分離されたものの地域別分布を Table 7 に示す。アルゼンチン、ブラジル、パラグアイおよびウルグアイにおける菌型の分布は良く似ている。これら南米の国々における傾向とオーストラリアからの場合は多少異なっている。

たとえば、*S. adelaide* はオーストラリア産カンガルー肉のみに検出されている。しかし、全分離菌型からみると地域の特異性は認められず、この成績から、すでにサルモネラの菌型は国際化されていることを示唆している。

5) 輸入食肉由来株の抗生物質に対する感受性について

輸入食肉由来株のうち、検出頻度の高い17菌型356株について5種の抗生物質 [Streptomycin (SM), Tetracycline (TC), Chloramphenicol (CP), Penicillin-G (PC-G), Aminobenzyl-Penicillin (AM-PC)] に対する感受性試験の結果を Table 8, 9 に示す。試験方法は腸内細菌研究班法に準じた。

従来までの報告では、下痢症由来株などに耐性を示す菌株が報告され、特に *S. typhimurium* についてその傾向のあることが報告されている^{4,5)}。今回、供試した356株の大半は12.5 µg/ml 以下で感受性を示し、耐性 (100 µg/ml) と判断されるものはなかった (Table 8)。これを個々の菌型についてみると、*S. typhimurium* の8株 (4.8%) が SM の12.5 µg/ml に、また *S. meleagridis* の1株 (6.7%) が TC の12.5 µg/ml に耐性を示しただけで、菌型のちがいによる差は認められなかった。このように、輸入食

Table 4. *Salmonella* serotypes isolated during 1966~1970

Serotypes	O-Group	No. of strains	%	Serotypes	O-Group	No. of strains	%
<i>S. anatum</i> or <i>muenster</i>	E ₁	2951	28.2	<i>S. schwarzengrund</i> or <i>stanley</i>	B	25	0.2
<i>S. minnesota</i>	L	1128	10.8	<i>S. infantis</i>	C ₁	21	0.2
<i>S. good</i>	L	963	9.2	<i>S. eastbourne</i>	D	21	0.2
<i>S. oranienburg</i>	C ₁	794	7.6	<i>S. shubra</i> or <i>kiambu</i>	B	20	0.2
<i>S. melcagridis</i>	E ₁	677	6.6	<i>S. concord</i> or <i>irumu</i>	C ₁	20	0.2
<i>S. san-diego</i> or <i>chester</i>	B	512	4.9	<i>S. miami</i>	D	18	0.2
<i>S. newport</i> or <i>kottbus</i>	C ₂	510	4.9	<i>S. nottingham</i>	I	18	0.2
<i>S. muenchen</i> or <i>manhattan</i>	C ₂	377	3.6	<i>S. lexington</i>	E ₁	15	0.1
<i>S. typhimurium</i>	B	376	3.6	<i>S. fremantle</i>	T	15	0.1
<i>S. saint-paul</i>	B	228	2.2	<i>S. shikmonah</i>	R	12	0.1
<i>S. montevideo</i>	C ₁	209	2.0	<i>S. amersfoort</i>	C ₁	7	0.1
<i>S. derby</i>	B	194	1.9	<i>S. bareilly</i>	C ₁	7	0.1
<i>S. adelaide</i>	O	174	1.7	<i>S. bukavu</i>	R	7	0.1
<i>S. bredeney</i> or <i>azteca</i>	B	134	1.3	<i>S. belem</i>	C ₂	6	0.1
<i>S. vaerlan</i>	G	108	1.0	<i>S. livingstone</i>	C ₁	5	<0.1
<i>S. bovis-morbificans</i>	C ₂	73	0.7	<i>S. maricopa</i>	T	5	<0.1
<i>S. give</i>	E ₁	66	0.6	<i>S. israel</i>	D	4	<0.1
<i>S. java</i>	B	61	0.6	<i>S. senftenberg</i>	E ₄	4	<0.1
<i>S. taksony</i>	E ₄	60	0.6	<i>S. mikawasima</i>	C ₁	3	<0.1
<i>S. orion</i>	E ₁	58	0.6	<i>S. glostrup</i>	C ₂	3	<0.1
<i>S. welikade</i>	I	49	0.5	<i>S. singapore</i>	C ₁	2	<0.1
<i>S. raus</i>	G	46	0.4	<i>S. onireke</i>	E ₁	2	<0.1
<i>S. rubislaw</i>	F	40	0.4	<i>S. orientalis</i>	B	2	<0.1
<i>S. wandsbek</i>	L	40	0.4	<i>S. heidelberg</i>	B	1	<0.1
<i>S. poona</i>	G	39	0.4	<i>S. edinburg</i>	C ₁	1	<0.1
<i>S. potsdam</i>	C ₁	35	0.3	<i>S. tennesse</i>	C ₁	1	<0.1
<i>S. saphra</i>	I	34	0.3	<i>S. hadar</i>	C ₂	1	<0.1
<i>S. gaminara</i>	I	32	0.3	<i>S. newington</i>	E ₂	1	<0.1
<i>S. cubana</i>	G	31	0.3	<i>S. langenhorn</i>	K	1	<0.1
<i>S. lomita</i>	C ₁	29	0.3	<i>Arizona</i>		18	0.2
<i>S. zehlendorf</i>	N	28	0.3	non-identified		102	1.0
<i>S. panama</i>	D	27	0.3	Total		10478	
<i>S. enteritidis</i>	D	27	0.3				

Table 5. *Salmonella* serotypes newly isolated after 1965

1966	1967	1968	1969	1970
<i>S. gaminara</i>	<i>S. heidelberg</i>	<i>S. miami</i>	<i>S. newington</i>	<i>S. israel</i>
<i>S. barielly</i>	<i>S. edinburg</i>	<i>S. belem</i>		<i>S. glostrup</i>
<i>S. mikawasima</i>				
<i>S. onireke</i>				
<i>S. singapore</i>				
<i>S. orientalis</i>				
<i>S. tennessee</i>				

Table 6. The annual change of occurrence of *Salmonella* serotypes isolated during 1965~1970

Order	Serotypes	O-Group	1965		1966		1967		1968		1969		1970	
			No. of strains	%	No. of strains	%	No. of strains	%	No. of strains	%	No. of strains	%	No. of strains	%
1	<i>S. anatum</i> or <i>muenster</i>	E ₁	1525	26.1	1765	25.0	371	35.4	425	37.2	233	37.3	157	26.5
2	<i>S. minnesota</i>	L	430	7.4	895	12.7	75	7.2	88	7.7	26	4.2	44	7.4
3	<i>S. good</i>	L	470	8.0	490	6.9	139	13.3	168	14.7	99	15.9	67	11.3
4	<i>S. oranienburg</i>	C ₁	500	8.6	465	6.6	86	8.2	135	11.8	60	9.6	48	8.1
5	<i>S. san-diego</i> or <i>chester</i>	B	665	11.4	385	5.4	40	3.8	30	2.6	29	4.6	28	4.7
6	<i>S. meleagridis</i>	E ₁	260	4.5	465	6.6	105	10.0	46	4.0	6	1.0	55	9.3
7	<i>S. newport</i> or <i>kottbus</i>	C ₂	320	5.5	425	6.0	31	3.0	15	1.3	15	2.4	24	4.0
8	<i>S. typhimurium</i>	B	245	4.2	335	4.7	16	1.0	13	1.1	4	0.6	8	1.3
9	<i>S. muenchen</i> or <i>manhattan</i>	C ₂	170	2.9	355	5.0	5	0.5	11	1.0	3	0.5	3	0.5
10	<i>S. adelaide</i>	O	171	2.9	165	2.3	9	0.9	0	—	0	—	0	—
11	<i>S. derby</i>	B	135	2.3	85	1.2	13	1.2	18	1.6	22	3.5	56	9.4
12	<i>S. montevideo</i>	C ₁	120	2.1	204	2.9	3	0.3	0	—	2	0.3	0	—
13	<i>S. saint-paul</i>	B	65	1.1	141	2.0	45	4.3	32	2.8	4	0.6	0	1.0
14	<i>S. bredeney</i> or <i>azteca</i>	B	90	1.5	75	1.1	2	0.2	16	1.4	39	6.2	6	0.3
15	<i>S. vaertan</i>	G	24	0.4	52	0.7	31	3.0	17	1.5	2	0.3	6	1.0
16	<i>S. laksony</i>	E ₄	55	0.0	54	0.8	0	—	6	0.5	0	—	0	—
17	<i>S. raus</i>	G	62	1.0	45	0.6	0	—	0	—	0	—	1	0.2
18	<i>S. bovis-moribifcans</i>	C ₂	20	0.3	60	0.8	4	0.4	2	0.2	7	1.1	0	—
19	<i>S. java</i>	B	30	0.5	40	0.6	13	1.2	0	—	2	0.3	6	1.0
20	<i>S. wandsbek</i>	L	45	0.8	35	0.5	1	0.2	4	0.4	0	—	0	—
Total of strains			5843		7071		1047		1142		625		593	
Total of serotypes			64		61		36		36		25		32	

Table 7. Distribution of *Salmonella* serotypes by regional difference (1965~1970)

O-Group	Serotype	Argentina	Brazil	Australia	Paraguay	Uruguay	Mexico	Canada
E	<i>S. anatum</i> or <i>muenster</i>	▲	●	●	○	•	•	•
L	<i>S. good</i>	▲	○	●	•	•		
L	<i>S. minnesota</i>	▲	●	○	○	•	•	
C ₁	<i>S. oranienburg</i>	●	●	●	•	•	•	•
E	<i>S. meleagridis</i>	●	•	•	•	•	•	
C ₂	<i>S. newport</i> or <i>kottbus</i>	●	○	●	•		•	
B	<i>S. typhimurium</i>	●	•	●		•		
B	<i>S. san-diego</i> or <i>chester</i>	●	•	●	•	•	•	•
C ₁	<i>S. montevidео</i>	●	●	•	•	•		
B	<i>S. derby</i>	●	○	•	•	•	•	
B	<i>S. bredeney</i> or <i>azteca</i>	●	•	•	•			
B	<i>S. saint-paul</i>	●	•	●	•		•	
G	<i>S. vaertan</i>	●	•	•				
G	<i>S. raus</i>	●		•				
B	<i>S. java</i>	•	•	•			•	
E	<i>S. give</i>	•	•					
C ₂	<i>S. muenchen</i> or <i>manhattan</i>	•	•	●	•			
C ₂	<i>S. bovis-morbificans</i>	•	•	•		•		
G	<i>S. poona</i>	•		•				
D	<i>S. panama</i>	•	•	•	•			
B	<i>S. shubra</i> or <i>kiamubu</i>	•						
I	<i>S. nottingham</i>		•					
G	<i>S. cubana</i>	•		•				
O	<i>S. adelaide</i>	•		●				
C ₁	<i>S. livingstone</i>	•						
I	<i>S. saphra</i>	•	•	•	•		•	
C ₁	<i>S. potsdam</i>	•		○				
N	<i>S. zehlendorf</i>	•		•				
E	<i>S. lexington</i>	•		•				
C ₁	<i>S. thompson</i>	•						
E	<i>S. taksony</i>	•	•		•	•	•	
L	<i>S. wandspek</i>	•	•	○				
I	<i>S. welikade</i>	•		○				
I	<i>S. gaminara</i>	•	•	•	•		•	
C ₁	<i>S. lomita</i>	•		•				
C ₁	<i>S. infantis</i>	•	•	•				
E	<i>S. senftenberg</i>	•						
B	<i>S. schwarzengrund</i> or <i>stanley</i>	•	•	•			•	
C ₁	<i>S. concord</i> or <i>irumu</i>	•		•				
D	<i>S. enteritidis</i>	•		•				
B	<i>S. arechavaleta</i>	•						
X	<i>S. luke</i>	•		•				
T	<i>S. uphill</i>	•		•				
D	<i>S. israel</i>	•						

(continued)

O-Group	Serotype	Argentina	Brazil	Australia	Paraguay	Uruguay	Mexico	Canada
C ₁	<i>S. bareilly</i>	•	•					
C ₁	<i>S. mikawasima</i>	•						
C ₂	<i>S. glostrup</i>	•						
R	<i>S. shikmonah</i>	•		•				
E	<i>S. orion</i>	•		○				
T	<i>S. fremantle</i>	•		•				
B	<i>S. paratyphi-B</i>	•						
E	<i>S. onireke</i>	•						
E	<i>S. krefeld</i>	•						
G	<i>S. havana</i>	•						
K	<i>S. langenhorn</i>	•		•				
B	<i>S. heidelberg</i>	•						
C ₁	<i>S. edinburg</i>	•						
I	<i>S. orientalis</i>			•				
C ₂	<i>S. hadar</i>			•				
C ₁	<i>S. singapore</i>			•				
Q	<i>S. champaingn</i>			•				
T	<i>S. maricopa</i>			•				
C ₁	<i>S. amersfoort</i>		•	•				
C ₂	<i>S. belem</i>		•					
F	<i>S. rubislaw</i>		•	○				
C ₁	<i>S. tennessee</i>		•					
E	<i>S. newington</i>		•		•			
D	<i>S. eastbourne</i>			•	•			
D	<i>S. miami</i>				•			

▲ ; >1,000 strains ○ ; >50 strains
 ● ; > 500 // • ; <50 //
 ○ ; > 100 //

Table 8. Distribution of sensitivity to antibiotics (1)

Antibiotics		Concentration (mµg and U/ml)								
		≥100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39≥
Streptomycin	SM			8 (2.2)	62 (17.4)	251 (70.5)	34 (9.6)	1 (0.3)		
Tetracycline	TC			1 (0.3)	32 (9.0)	117 (32.5)	203 (57.0)	3 (0.8)		
Chloram-phenicol	CP			1 (0.3)	15 (4.2)	229 (84.0)	41 (11.5)			
Penicillin-G	PC-G		3 (0.8)	24 (6.7)	234 (65.7)	89 (25.0)	6 (1.7)			
Aminobenzyl-Penicillin	AM-PC			1 (0.3)	2 (0.6)	10 (2.8)	80 (22.4)	244 (68.5)	19 (5.3)	

Number of strains tested=356

() ; %

Table 9. Distribution of

Serotypes	Antibiotics mg/ml No. of strains	SM					TC				
		100	25	6.25	1.56	0.39	100	25	6.25	1.56	0.39
		50	12.5	3.13	0.78		50	12.5	3.13	0.78	
<i>S. San-diego</i>	20		3	12	5				18	2	
			(15)	(60)	(25)				(90)	(10)	
<i>S. saint-paul</i>	10		2	7	1				8	2	
			(20)	(70)	(10)				(80)	(20)	
<i>S. bredeney</i>	5		3	2					5		
			(60)	(40)					(100)		
<i>S. typhimurium</i>	186	8	22	156					184	2	
		(4.8)	(11.8)	(83.9)					(98.9)	(1.1)	
<i>S. oranienburg</i>	15		5	9	1				6	9	
			(33.3)	(60)	(6.7)				(40)	(60)	
<i>S. montevideo</i>	5		2	1	2				2	3	
			(40)	(20)	(40)				(40)	(60)	
<i>S. potsdam</i>	5			2	3				3	2	
				(40)	(60)				(60)	(40)	
<i>S. newport</i>	15		5	6	4				4	9	2
			(33.3)	(40)	(26.7)				(26.7)	(60)	(13.3)
<i>S. muenchen</i>	10			7	3				8	2	
				(70)	(30)				(80)	(20)	
<i>S. enteritidis</i>	10		10						10		
			(100)						(100)		
<i>S. anatum</i>	15		7	6	2					13	2
			(46.7)	(40)	(13.3)					(86.7)	(13.3)
<i>S. meleagridis</i>	15		2	8	4	1			1	9	4
			(13.4)	(53.3)	(16.7)	(6.7)			(6.7)	(60)	(26.7)
<i>S. raus</i>	10			7	3				9	1	
				(70)	(30)				(90)	(10)	
<i>S. vaertan</i>	5			4	1					2	3
				(80)	(20)					(40)	(60)
<i>S. minnesota</i>	10		1	7	2				1	9	
			(10)	(70)	(20)				(10)	(90)	
<i>S. good</i>	10			7	3					10	
				(70)	(30)					(100)	
<i>S. adelaide</i>	10			10						10	
				(100)						(100)	

Number of strains tested; 356

(); %

肉等から分離されるサルモネラには耐性を示すものは認められることは稀であると想像される。

6) 輸入食肉由来 *S. typhimurium* の phage 型について

細菌の汚染源および疫源追求の方法として広く phage typing が用いられている。サルモネラについても、*S. typhi*, *S. paratyphi* B, *S. enteritidis*, *S. typhimurium* に関して広く応用されている。

そこで輸入食肉由来の *S. typhimurium* が、わが国の食中毒にどのような関係を示すかを phage 型から検討するため、113株について、予研の phage 型別室

に型別を依頼し、phage 型を決定した成績と、坂崎ら⁶⁾の食中毒事例より分離された *S. typhimurium* の成績を比較したものを Table 10 に示す。食中毒由来株と輸入食肉由来株の phage 型の分布はよく似た型別を示すことから、わが国でヒトの食中毒の原因となっている *S. typhimurium* は、多少なりとも、輸入食肉に由来している疑いのあることを示唆している。

あ と が き

前報⁷⁾に続いて、1966年～1970年の5カ年間に17789検体の輸入食肉のサルモネラ検査を実施したと

sensitivity to antibiotics (2)

CP					PC-G					AB-PC				
100	25	6.25	1.56	0.39	100	25	6.25	1.56	0.39	100	25	6.25	1.56	0.39
50	12.5	3.13	0.78		50	12.5	3.13	0.78		50	12.5	3.13	0.78	
		5 13 2					15 3 2					6 12 2		
		(25) (65) (10)					(75) (15) (10)					(30) (60) (10)		
		4 4 2					5 4 1					3 7		
		(40) (40) (20)					(50) (40) (10)					(30) (70)		
		5					5					2 3		
		(100)					(100)					(40) (60)		
		182 4					20 132 34					20 153 13		
		(98.9) (1.1)					(10.8)(71.5)(18.5)					(10.8)(82.6) (7.1)		
		2 8 5					8 7					7 8		
		(13.3)(53.3)(33.3)					(53.3)(46.7)					(46.7)(53.3)		
		3 2					3 2					4 1		
		(60) (40)					(60) (40)					(80) (20)		
		1 4					3 2					2 3		
		(20) (80)					(60) (40)					(40) (60)		
	1	13 1				1 3	5 6				1 5 7 2			
	(6.7)	(86.7) (6.7)				(6.7)(20) (33.3) (40)					(6.7)(33.3)(46.7)(13.3)			
		8 2					7 2 1					3 3 4		
		(80) (20)					(70) (20) (10)					(30) (30) (40)		
		10					10					10		
		(100)					(100)					(100)		
		11 4					11 4					2 8 5		
		(73.3)(26.7)					(73.3)(26.7)					(13.3)(53.3)(33.3)		
		5 10				1	8 6				1	11 3		
		(34) (66)				(6.7) (53.3) (40)					(6.7) (73.3) (20)			
		10				1	7 2					9 1		
		(100)				(10) (70) (20)						(90) (10)		
		5					5					3 2		
		(100)					(100)					(60) (40)		
		2 8				1	4 5				1	2 7		
		(20) (80)				(10) (40) (50)					(10) (20) (70)			
		2 8					6 4					10		
		(20) (80)					(60) (40)					(100)		
		10					3 7					2 7 1		
		(100)					(30) (70)					(20) (70) (10)		

ころ、つぎのような結果を得た。

1) サルモネラ陽性率の5カ年間にわたる年次別推移をみると、1966年の17.9%，1967年の15.7%，1968年の11.1%，1969年の12.8%，1970年の15.7%で1965年当時のものとくらべると、陽性率は低くなり、現在では、国内産食肉の汚染状態と大体同様の陽性率となってきた。

2) 輸出国別にみると、アルゼンチン（馬肉）は平均15.2%，ブラジル（馬肉）は平均13.7%，パラグアイ（馬肉）は平均9.2%，メキシコ（馬肉）は平均3.8%で、パラグアイ、メキシコのものに改善がみとめら

れた。

3) サルモネラ陽性2722検体から10478株のサルモネラを分離し、70菌型の血清型に型別できた。常に高頻度に分離される菌型は、*S. anatum* (or *muenster*), *S. minnesota*, *S. good*, *S. oranienburg*, *S. sandiego* (or *chester*), *S. meleagridis*, *S. newport* (or *kottbus*), *S. typhimurium*, *S. muenchen* (or *manhattan*), *S. derby*, *S. saint-paul*, *S. bredeney* (or *azteca*) 等で、全分離菌株の約90%を占め、そのほとんどはわが国の食中毒にみられ、すでにわが国に定着したと思われるものである。

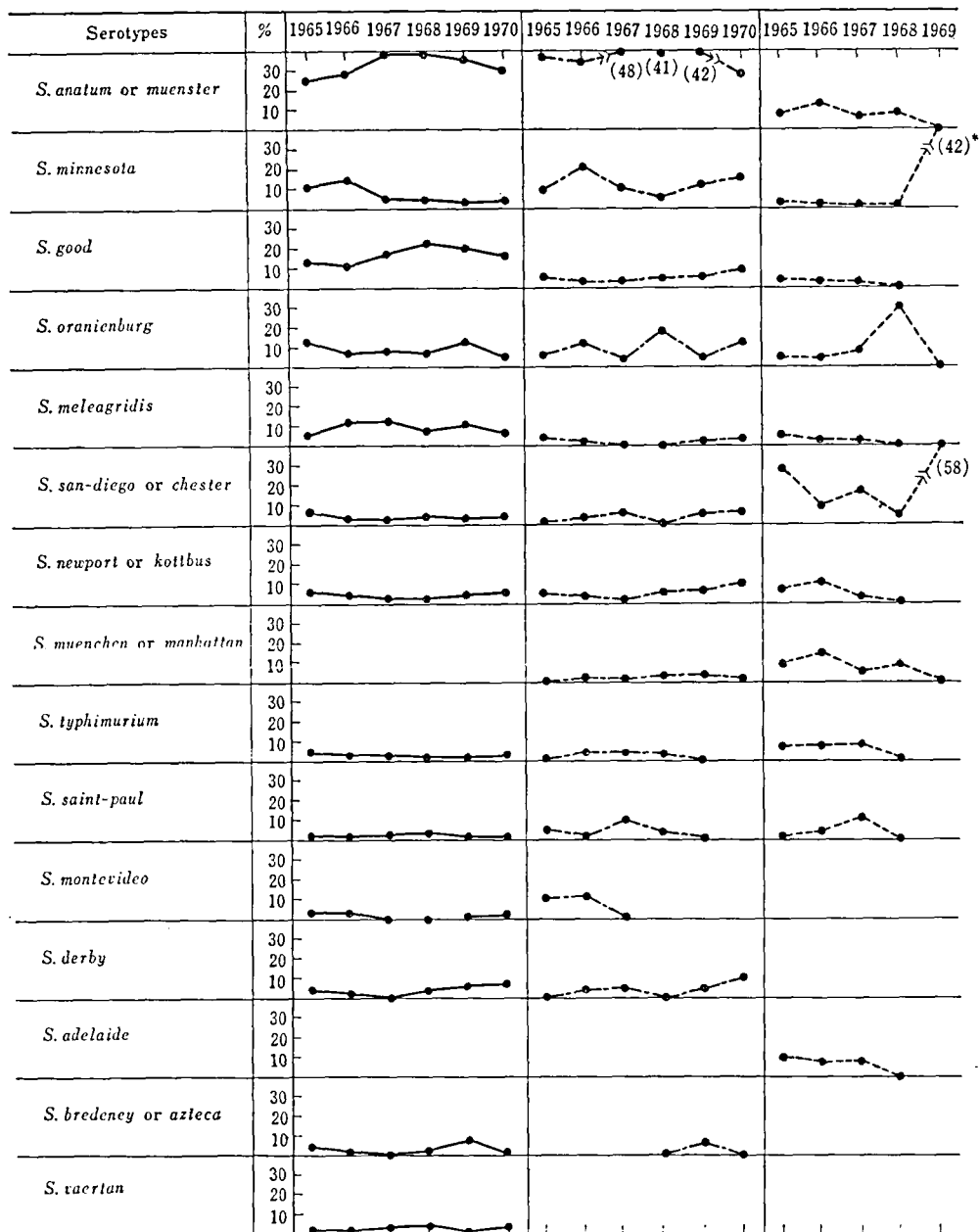


Fig. 1. The annual change of occurrence of *Salmonella* serotypes in main imported meats since 1965

—•—; Argentine horse meats, •---•; Brazilian horse meats, •----•; Australian kangaroo meats

* () ; %

Table 10. Distribution of phage types of *S. typhimurium*

Phage types	Imported meats		Food-poisoning*
	No. of strains	%	
1	4	3.5	
1a	20	18.0	15.0
1a var. 1	10	8.8	11.0
1b	—		3.2
2	34	30.0	15.0
2a	—	1.8	
2b	2	1.8	1.6
2c	2		1.6
2d	—		
3	—	0.9	1.6
3a	1		
4	—		
5	—	6.2	
Unknown	8	6.2	26.0
Untypable	32	29.0	26.0
Total	113		64

* Reported by SAKAZAKI and OHASHI⁶⁾

4) 検出頻度の高い17菌型 356 株について、5 種の抗生物質 (SM・TC・CP・PC-G・AM-PC) に対する感受性について検討した結果、大半は 12.5~25 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で感受性を示し、耐性株は認められなかった。

5) 輸入食肉由来 *S. typhimurium* の phage 型を調べた結果、多く、国内の食中毒事例から分離されるものと類似の型別を示した。

Phage 型別に関して特に御協力をいただいた予研、坂崎、大橋両博士に深甚なる謝意を表するとともに、東京、横浜、神戸、大阪、名古屋の各港の食品衛生監視員諸氏の御協力に感謝します。

文 献

- 1) 鈴木昭ら：衛生試験，85，188 (1967)
- 2) 善養寺浩：メディヤサークル，12，5 (1966)
- 3) 坂井千三：メディヤサークル，18，27 (1968)
- 4) 斎藤誠：メディヤサークル，12，25 (1966)
- 5) 善養寺浩ら：都衛研年報，17，47 (1965)
- 6) 坂崎利一，大橋誠ら：予研年報，20，32 (1966)

日本産 *Zygosporium* 属菌について

一 戸 正 勝

Some *Zygosporium* Species in Japan

Masakatsu ICHINOE

The details of four species of *Zygosporium* (Hyphomycetes), *Z. oscheoides*, *Z. echinosporum*, *Z. masonii* and *Z. gibbum*, are described and illustrated as new records in Japan. They were collected from the fallen leaves of various kind of trees and special Japanese fermented foods (Miso etc.).

(Received May 31, 1971)

Zygosporium 属菌は 1842 年に Montagne により *Z. oscheoides* Mont. をタイプ種として創立された不完全菌，線菌目の一属である。本属菌の分類学的研究は Mason (1941)，Hughes (1951) らによって検討され、これまでに 7 種が知られているが、その形態的特長は、falx (pl. falces) と呼ばれる扁豆形ないし腎臓形の暗かっ色、厚膜な細胞の頂部に 2 ないし数個の胞子形成細胞をもつことにある。*Zygosporium* は本来植物腐朽物上に存在する腐生菌であるが、土壌、空気中からの分離例も知られており、また本属中の *Z.*

echinosporum Bunt. & Mason は、アフリカのゴールドコーストで冷蔵チーズより分離されたのがはじめての報告であり、いわゆる contaminant として食品中に存在する可能性も大きい。近年、*Zygosporium masonii* Hughes が細胞毒性を有する代謝物質を生産することが知られ Zygosporin A と命名された¹⁾。この物質はマウス LD₅₀ s.c. 1.85 mg/kg, p.o. 36.0 mg/kg, HeLa 細胞 ED₅₀ 0.89 $\mu\text{g/ml}$ とかなり強い毒性をもつところから、新しいマイコトキシンとして注目されている。この *Z. masonii* は著者らが数年

来、食品中の糸状菌およびその有毒代謝生産物について調査研究を進めている長野県の農村地域で、1968年に収集されたみそおよびつけもの類から比較的多く分離されているが、分離菌の毒性物質生産の有無については目下当所生薬部において検討中である。

本報においては食品類および植物腐朽物上より分離した *Zygosporium oscheoides*, *Z. echinosporum*, *Z. masonii*, *Z. gibbum* の 4 種をいずれもわが国において未記録の菌種として記載と図を示した。

Zygosporium oscheoides Montagne *Ann. Sci. Nat.*, II, 17, 121 (1842); Saccardo, *Syll. Fung.* 4, 329 (1885); Mason, *Ann. Acc. Fungi Rec. I. M.I. List II*, Fasc. 3, 134 (1941); Hughes, *C.M.I. Mycol. Pap.* 44, 2-5 (1951); Subramanian, *Proc. Indian Acad. Sci.* 34, 45 (1952); Rao, *J. Univ. Poona Sci. Tech.* 24, 67 (1964)

形態的性質

falciphore は直立し、分岐することなく、菌糸上に側生し、淡かった色ないしかった色、1~4 の隔壁を有し、外壁はうすく平滑、42.5~60 μ 長、基部において 3.0~4.5 μ 巾、先端部がふくれて 1.5~3.0 μ 径の球形ないしだ円形の頂のう状になる。falx は falciphore の基部に近い部分より側生し、腎臓形ないし卵形で、3.0~5.0 $\times$ 3.0~4.5 μ の柄を有し、厚膜、平滑、暗かった色で頂部に 1 ないし 2 個の胞子形成細胞をそなえる。大きさは 10.0~12.5 $\times$ 6.5~9.5 μ 。

胞子形成細胞は倒洋梨形ないしフラスコ形、透明ないし半透明で先端に突起を有し、1 細胞、薄膜、大きさ 3.5~6.0 $\times$ 4.5~6.0 μ 。分生胞子は胞子形成細胞の頂端からふき出るように単生し、透明ないし半透明、平滑ないしやや粗面、だ円形、大きさ 7.5~10.5 $\times$ 6.0~7.0 μ (Figs. 1, 5, 6)。

培養的性質

麦芽煎汁寒天上で 25°, 2 週間培養で直径 32 mm, 黄茶色ないし暗い黄茶色*, 棉毛状, 裏面は茶色ないし黄茶色, 胞子形成は不良, 気中菌糸が豊富に形成される。オートミール寒天上で 25°, 2 週間培養で直径 22 mm, 茶灰色, ピロード状ないしわずかなわ状, 裏面はにぶ黄色, 胞子形成はわずかで気中菌糸上に生ずる。培養が古くなると気中菌糸が束状になり、表面にしわを生ずる。

分布: ヨーロッパ, 北アメリカ, アフリカ, インド, セイロン, 西インド諸島

資料: 千葉県清澄山, シュロ (*Trachycarpus fortunei*) 落葉, X, 1967, NHLH** 40123; 東京用賀, キミガヨラン (*Yucca recurvifolia*), IV, 1968, NHLH 40134; 神奈川県片瀬, リウウゼツラン (*Agave americana* f. *marginata*), III, 1971, NHLH 40374。

Zygosporium echinosporum Bunting & Mason *Ann. Acc. Fungi Rec. I.M.I. List II*, Fasc. 3, 135 (1941), Hughes, *C.M.I. Mycol. Pap.* 44, 13 (1951); Agnihotrudu, *Mycopathologia* 16, 235 (1962); Wang & Baker, *Can. J. Bot.* 45, 1949 (1967)

形態的性質

falciphore は直立、まれに分岐し、菌糸上に側生あるいは端生し、淡かった色ないしかった色、3~7 個の隔壁を有し、外壁はうすく平滑、47~180 μ 長、基部において 2.0~3.5 μ 巾、先端部はふくれて 3.5~4.0 μ 巾の球形の頂のう状となる。まれに falx を生じない不ねん性のものも存在する。falx は falciphore の中間から側生するか、あるいは独立して直接菌糸上に有柄で生ずる。腎臓形ないし卵形、11.0~37.5 $\times$ 2.0~3.5 μ の柄を有し、厚膜、平滑、暗かった色、大きさ 9.5~15.0 $\times$ 6.0~7.5 μ 。頂部に 3~4 個の透明ないし半透明の胞子形成細胞をそなえる。胞子形成細胞は狭卵形ないし徳利形、先端に突起を有し、1 細胞、薄膜、大きさ 5.5~8.5 $\times$ 2.5~4.5 μ 。分生胞子は胞子形成細胞の先端からふき出るように単生し、透明ないし半透明、外壁はこまかなとげを有し、球形、大きさ 6.0~8.5 μ (Figs. 2, 7, 8)。

培養的性質

麦芽煎汁寒天上で 25°, 2 週間培養で直径 20 mm, 暗い茶灰色, ややもり上がった棉毛状, 裏面は茶色, 胞子形成は良好で, 気中菌糸および基生菌糸上に多数みとめられる。培地中に赤茶色の色素の産生がみられる。オートミール寒天上で 25°, 2 週間培養で直径 25 mm, うす黄茶色, ピロード状, 裏面はにぶ黄色, 胞子形成は非常に良好で, 主として基生菌糸上に生ずる。培養が古くなると表面にしわが生ずるようになり, 色調も暗い茶色に変化する。

分布: アフリカ, インド, ハワイ

資料: 静岡県堂ヶ島, タブ (*Machilus thunbergii*) 落葉, I, 1968, NHLH 40130, (NHL*** 4644); 神奈川県江ノ島, タブ (*Machilus thunbergii*) 落葉, IV, 1968, NHLH 40136 (NHL 4701)。

* 菌集落の色調は日本色彩研究所「色の標準」(1964)にしたがった。

** NHLH: 国立衛生試験所真菌室標本番号

*** NHL: 国立衛生試験所真菌室培養菌株番号

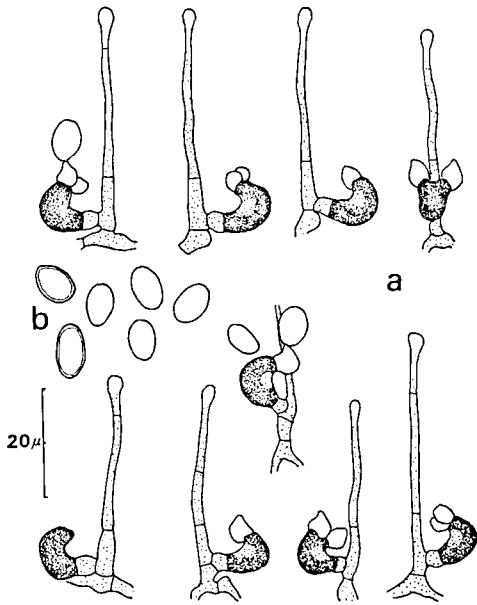


Fig.1.

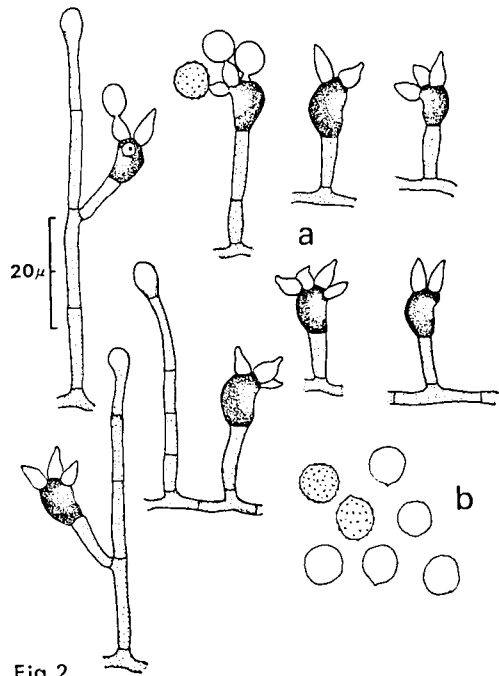


Fig.2.

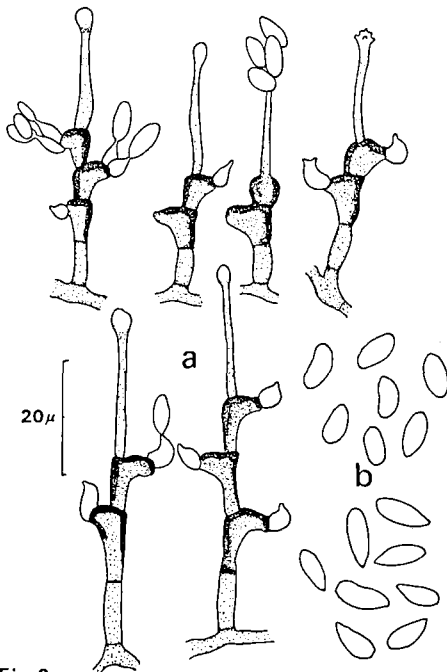


Fig.3.

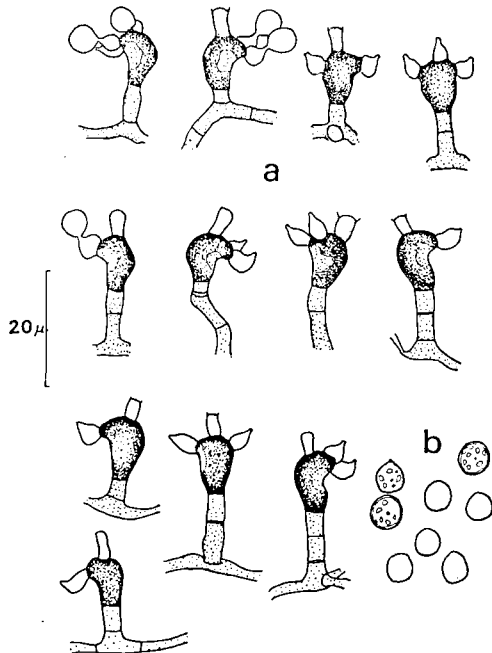


Fig.4.

Figures of *Zygosporium* species

Fig. 1. *Z. oscheoides*, Fig. 2. *Z. echinosporum*, Fig. 3. *Z. masonii*, Fig. 4. *gibbum*.
a: Conidia, falces and falciophores b: Conidia

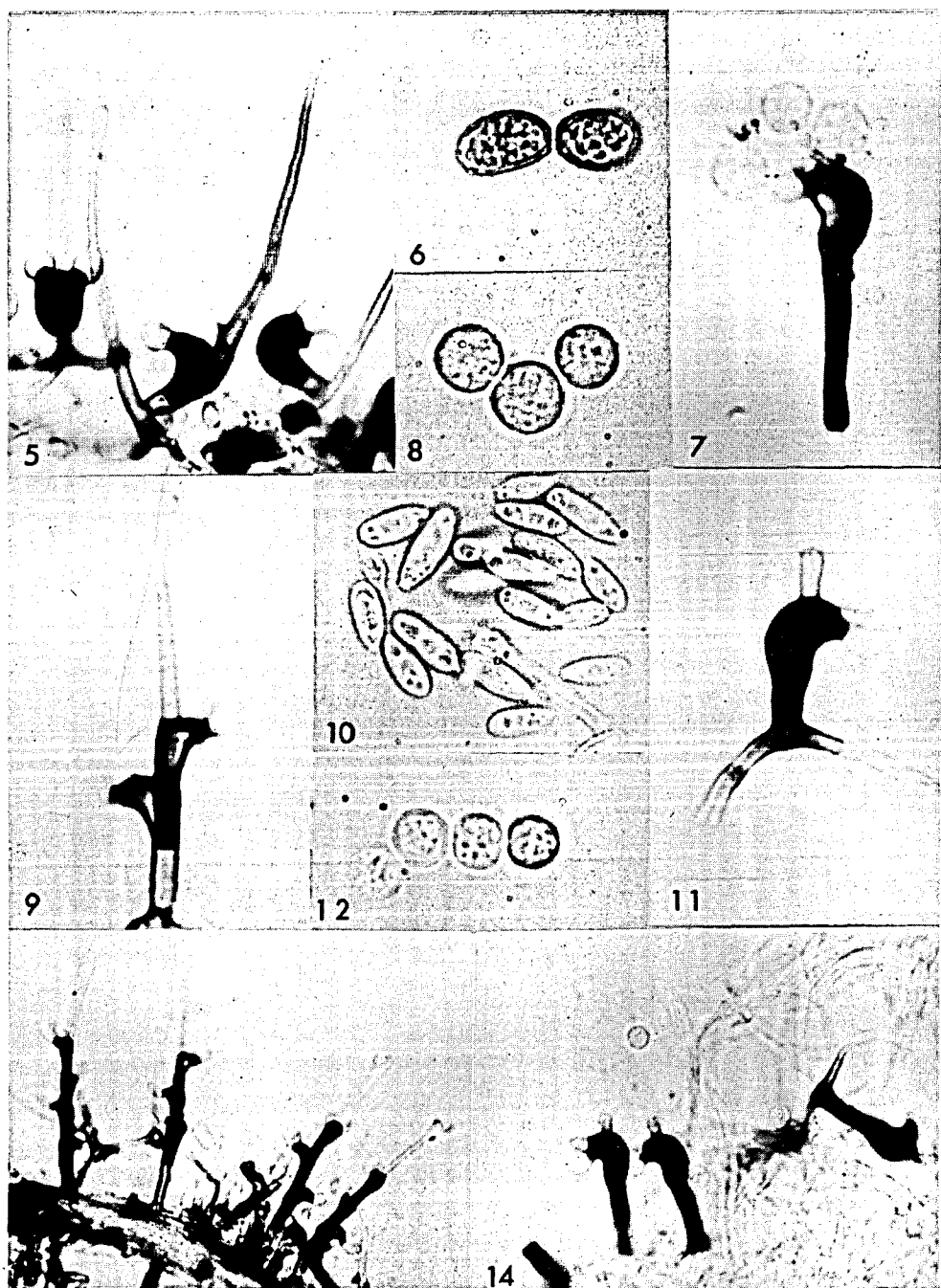


Fig. 5, 6. *Zygosporium oschcoides* Mont.

Fig. 7, 8. *Zygosporium echinosporum* Bunt. & Mason

Fig. 9, 10. *Zygosporium masonii* Hughes

Fig. 11, 12. *Zygosporium gibbum* (Sacc., Rouss. & Bomm.) Hughes

Fig. 13. *Z. masonii*, from culture 2 weeks old on oat-meal agar

Fig. 14. *Z. gibbum*, from culture 3 weeks old on oat-meal agar.

Zygosporium masonii Hughes C.M.I. Mycol. Pap. 44, 15 (1951); Batista & Lima, Inst. Micol. Univ. Recife Publ. No. 297 (1960); Whaley & Bennett, Proc. West Va. Acad. Sci. 33, 2 (1961); Wang & Baker, Can. J. Bot. 45, 1946 (1967)

形態的性質

分生子柄は直立し、分岐することなく菌糸上に側生し、淡かっ色ないしかっ色、1~2個の隔壁を有し、外壁はうすく平滑、6.5~12.5 μ 長、基部において2.0~2.5 μ 巾、頂部に falx を2~4個連続して生ずる。falx は腎臓形ないしおの形で、一側面が厚膜、暗かっ色、他の側面は薄膜、かっ色で、ふつう連続する。それぞれの falx の大きさは6.0~8.5 $\times$ 5.0~7.5 μ 。頂部に比較的長い淡かっ色の15~27.5 μ 長、基部で1.5~2.0 μ 巾の附属細胞を有するものが多い。各 falx には2~3個の透明ないし半透明の胞子形成細胞をそなえる。胞子形成細胞は卵形ないし倒洋梨形で、先端に通常1個、ときに3~4個の突起を有するものがみられる。大きさは3.0~5.0 $\times$ 2.5~4.0 μ 。分生胞子は胞子形成細胞の先端からふき出るように単生するが、まれに falx の頂部にある附属細胞の先端の突起から生ずることがある。透明ないし半透明、長だ円形ないし紡錘形。大きさは5.5~6.5 $\times$ 2.5~4.0 μ (Figs. 3, 9, 10, 13)。

培養的性質

麦芽煎汁寒天上で 25°, 2週間培養で直径 15 mm, 茶白色ないしうす茶色、気中菌糸が豊富で棉毛状ないしなわ状、裏面はうす茶色、胞子形成は気中菌糸上にわずかにみられる。オートミール寒天上で 25°, 2週間培養で直径 32 mm, 茶灰色、ビロード状、部分的に束状、裏面は明るい灰色、胞子形成は束状菌糸体上に豊富にみとめられる。

分布：アフリカ、北アメリカ、ブラジル、ハワイ、ホンコン

資料：伊豆大島、ヒメユズリハ (*Daphniphyllum teijsmannii*) 落葉, IV, 1967, NHLH 40089; 長野県佐久、味噌 (Miso), IX, 1968, NHL 4704~4706; 野菜漬物 (Salted greens) IX, 1968, NHL 4702~4703

Zygosporium gibbum (Sacc., Rouss. & Bomm.) Hughes Can. J. Bot. 36, 825 (1958)

Syn. *Clasterosporium gibbum* Sacc., Rouss. & Bomm. 1884

Pimina parasitica Grove 1888

Zygosporium parasiticum (Grove) Bunt. & Mason 1941

形態的性質

分生子柄は直立し、分岐することなく菌糸上に側生あるいは端生し、淡かっ色ないしかっ色、1~3個の隔壁を有し、外壁はうすく平滑、4.0~12.5 μ 長、基部において3.0~4.0 μ 巾、頂部に1個の falx を生ずる。falx は腎臓形ないしフック状で厚膜、平滑、暗かっ色、大きさ12.5~14.0 $\times$ 7.5~10.0 μ 、頂部に1~3個の透明ないし半透明の胞子形成細胞と1個の円筒形の附属細胞をそなえる。胞子形成細胞は狭卵形ないし倒洋梨形、先端に突起を有し、大きさ5.0~6.0 $\times$ 3.0~4.5 μ 。附属細胞は淡かっ色、隔壁を有さず、4.5~6.5 $\times$ 2.5~3.0 μ 、不ねん性。分生胞子は胞子形成細胞の先端からふき出るように生じ、透明ないし半透明、球形、平滑、大きさ4.5~6.0 μ (Figs. 4, 11, 12, 14)。

培養的性質

麦芽煎汁寒天上で 25°, 2週間培養で直径 25 mm, 白色、気中菌糸が豊富で棉毛状、やや盛りあがる。胞子形成は不良だが培養が古くなると灰色がかってきて気中菌糸上にわずかに生ずる。裏面はうす茶色。オートミール寒天上で 25°, 2週間培養で直径 40 mm, 灰味黄茶色でビロード状、わずかに気生菌糸がみられ、裏面は白色、胞子形成は不良だが培養が古くなると気中菌糸上に生ずるようになる。

分布：ヨーロッパ、アフリカ

資料：奈良県室生寺、アラカシ (*Quercus glauca*) 落葉, XI, 1966, NHLH 40045; 神奈川県片瀬、タブ (*Machilus thunbergii*) 落葉, X, 1967, NHLH 40100 b; イヌマキ (*Podocarpus macrophyllus*) 落葉, X, 1967, NHLH 40102; クロマツ, (*Pinus thunbergii*) 落葉, X, 1967, NHLH 40104; 神奈川県江の島、ヤブニッケイ (*Cinnamomum japonicum*) 落葉, IV, 1968, NHLH 40135 (NHL 4674)。

文 献

- 1) T. Matsushima et al.: J. Antibiotics, 21, 523 (1968)

防腐剤に関する研究

とくに防腐剤46種の抗菌スペクトルについて

石 関 忠 一

*Studies on the Preservatives**Especially, on the Antimicrobial Spectra of 46 Kinds of Preservatives.*

Chuichi ISHIZEKI

Antimicrobial spectra of total 46 test compounds were determined by the agar plate method. No inactivator was used in the test.

Two Gram positive and two Gram negative bacterial strains, and four fungal strains were used as test strains. Gram negative bacteria were shown to be more resistant to most of the antimicrobials than Gram positive bacteria. *Pseudomonas* was highly resistant to almost all tested compounds.

From these results, the benefit of preservatives should not be overestimated.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

従来から多くの防腐剤が開発されかつ多方面にわたって使用されているが、今日ではその適用についてそれぞれの目的によって種類および量が規制されている^{1,2)}。(例えば食品添加物、化粧品および日薬等がある。)また一般消毒殺菌作用の意味からは多くのものが日本薬局方第7改正³⁾にも記載されているが、これら多くの防腐剤は微生物個々に対する抗菌活性についての報告はあっても、抗菌スペクトルとして数種類の微生物を同時に同じ方法で検討した活性値についての報告は数少ない。防腐剤の活性値は培地や実験方法を異にすることによってえられる結果も当然変ってくる。したがって種々の試験法によってえられた結果をもとに総合的に評価することが必要である。今回は細菌4種、一部の化合物については真菌4種も併用してその抗菌スペクトルを寒天平板法によって検討した結果、用いた化合物間にそれぞれ特徴とも思われる活性値を得たので報告する。

実験材料および方法

薬剤：化合物は無差別に選んだもので脂肪酸10種、芳香族19種、異項環4種、有機金属6種、界面活性剤5種、無機化合物2種、計46種を試験に供した。

薬剤の希釈：水に難溶性のものは Dimethyl formamide (DMF) 0.1 ml に溶解し、これを使用培地と混和した。一方水溶性のものは滅菌蒸留水少量に溶

解し培地中に混和した。

薬剤濃度：薬剤はすべて 1—2—5—10 希釈によって所定の濃度に寒天培地中に含まれるように調製した。

菌株：細菌4種 *Staphylococcus aureus* FDA 209 P, *Escherichia coli* U 5/41, *Bacillus subtilis* IAM 1213, *Pseudomonas aeruginosa* P 2, 真菌4種 *Candida albicans* NHL 4019, *Geotrichum candidum* SL-1, *Aspergillus niger* NHL 5088, *Trichophyton asteroides* T-14.

培地：細菌試験には Trypticase soy broth およびその寒天培地 (TSB および TSA)⁴⁾。真菌試験にはブドウ糖ペプトンブイヨンおよび寒天培地 (DPB および DPA) を用いた。

抗菌力試験法：接種菌として細菌では TSA 培地で 37°, 約 18 時間培養したものを種菌とし、これより TSB 培地に少量接種し 37°, 約 18 時間培養したものを接種菌液とした。接種は各種濃度の薬剤加培地に 1 白金耳塗抹し 37°, 24~48 時間培養後、対照に対するコロニーの発育状態より判別して発育阻止濃度を求めた。真菌は DPA 斜面培地にて 30°, 1~2 週間培養したものを種菌とし、これを日本工業規格⁵⁾の術式にそい胞子懸濁液を調製して、その 1 白金耳を薬剤加培地に塗抹し 30°, 1 週間培養により判定した。

実験結果

供試した化合物46種を分類してみると 6 種に大別することができるが、これに対して今回寒天平板法によ

Table 1. Anti-microbial spectra of 46 kinds of preservatives

Compounds		Bacteria				Fungi			
		<i>S. aureus</i> FDA 209 P	<i>E. coli</i> U 5/41	<i>B. subtilis</i> IAM 1213	<i>Ps. aeruginosa</i> P 2	<i>C. albicans</i> NHL 4019	<i>G. candidum</i> SL-1	<i>Asp. niger</i> NHL 5088	<i>Tri. asteroides</i> T-14
Aliphatic compounds	Alcohols								
	Benzyl alcohol	5000	5000	5000	5000				
	Chlorobutanol	5000<	5000<	5000<	5000<				
	Phenethyl alcohol	5000	5000	5000	5000				
	Carboxylic acids								
	Dehydroacetic acid	2000	2000	2000	2000	500>	500>	500>	500>
	Sodium dehydroacetate	5000<	5000<	5000<	10000<	500>	1000<	1000>	500>
	Glyoxylic acid	1000	1000<	1000<	1000				
	Propionic acid	2000	2000	1000	1000				
	Sorbic acid	2000	1000	2000	1000	1000	1000<	1000	200
	Undecylenic acid	1000	1000<	1000	1000<				
	Amine								
Aromatic compounds	Hexamine	1000	1000	1000	5000<				
	Phenols								
	4-Chloro-3,5-xyleneol	200	200	100	500				
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1000<	1000<	1000<	1000<				
	" ethyl ester	1000<	1000<	1000<	1000<				
	" methyl ester	1000<	1000<	1000<	1000<				
	" propyl ester	1000<	1000<	1000<	1000<				
	" butyl ester	1000<	1000<	1000<	1000<				
	" benzyl ester	1000	1000<	1000	1000<				
	Pentachlorophenol	10	500	10	1000				
	2-Hydroxydiphenyl	200	200	200	500	200	100	200	100
	Isopropylmethylphenol	200	500	200	2000	500	200	500	100
	Phenol	2000	2000	2000	2000	1000<	1000<	1000	1000
	Resorcinol	5000	5000	5000	5000	1000	1000	1000	500
	Salicylic acid	1000	1000	1000	1000	1000<	1000<	1000<	1000
	Vanillin	1000<	1000<	1000<	1000<				
	Zinc <i>p</i> -phenol-sulfonate	200	100>	200	500				
	Halogens								
	4,4'-Dichloro-3-trifluoro-methylcarbanilide	1	2000<	1	2000<	1000<	1000<	1000<	50
	1,1'-Hexamethylene bis-[5(<i>p</i> -chlorophenyl biguanide)]chlorhexidine	5	5	2	500	500	100	500	500
	3,4,4'-Trichlorocarbanilide	1	2000<	1	2000<	1000<	1000<	1000<	200
Heterocyclic compounds	Carboxylic acid								
	Benzoic acid	1000	1000	1000	1000				
	Acrinol	500	1000	200	1000	500	500	1000	500
	Alkylisoquinolinium bromide	5	200	5	1000	200	200	200	200
	8-Hydroxyquinoline sulfate	10>	50	10>	500				
Heterocyclic compounds	Sulfadiazine	5000<	5000<	5000<	5000<				
	Thimerosal	0.5	1	1	10				

(continued)

Compounds		Bacteria				Fungi			
		<i>S. aureus</i> FDA 209 P	<i>E. coli</i> U 5/41	<i>B. subtilis</i> IAM 1213	<i>Ps. aeruginosa</i> P 2	<i>C. albicans</i> NHL 4019	<i>G. candidum</i> SL-1	<i>Asp. niger</i> NHL 5088	<i>Tri. asteroides</i> T-14
Organometallic compounds	Tri- <i>n</i> -butyl tin chloride	10	200	10	200<	10	10	10	10
	Di-tri- <i>n</i> -butyl tin oxide	10	200<	10	200<	10	10	10	10
	Tri- <i>n</i> -butyl tin trichloroacetate	10	200<	10	200<	10	10	10	10
	Tri-phenyl tin hydroxide	10	200<	10	200<	10	10	10	10
	Tri- <i>n</i> -butyl tin monochloroacetate	10	200<	10	200<	10	10	10	10
Surfactants	Alkyl benzene sulfonate	1000>	10000<	1000>	10000<				
	Benzalkonium chloride	5	200	5	500	200	200	500	200
	Benzethonium chloride	50	2000	50	5000				
	Cetyl pyridinium chloride	5	200	5	1000<	200	200	500	200
	Cetyl tri-methylammonium bromide	10	100	10	1000<				
Inorganic compounds	Boric acid	5000	5000	5000	5000				
	Sodium azide	5000	200	100	2000				

Numerals in the table indicate the minimum inhibitory concentrations ($\mu\text{g/ml}$)

る抗菌活性値を求めた結果からみると、用いた試験菌株によってその活性値はまちまちである (Table 1 参照)。

一般細菌では Gram 陽性菌 2 株に対しては Gram 陰性菌 2 株よりもその活性値は、一部の化合物を除いて全体に高く、また化合物別にみると芳香族、ハロゲン、異項環、有機金属および界面活性剤にかなり高い活性値がみとめられた。これに反し Gram 陰性菌に対してはその活性値が全体に低く、とくに *Pseudomonad* に対して $10 \mu\text{g/ml}$ の濃度で作用のみとめられたものは Thimerosal ただ 1 種であった。したがって、用いた 46 種の化合物の結果からではいかに *Pseudomonad* が薬剤に対し強い抵抗力をもっているかわかる。また *E. coli* に対しては Chlorhexidine および Thimerosal が比較的作用が強かった。一方 Gram 陰性菌を陽性菌に対比すると、およそ 100~1,000 倍以上の作用濃度を必要とするものもあり、スペクトルの面からみると化合物の各菌株に対する特徴があらわれていることがわかった。従来から食品添加物あるいは化粧品などに防腐剤として使用されている化合物の多くはほとんど $1,000 \mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度を必要とするものばかりで、なかには使用上限量を規制されている化合物でもその量では特殊な菌株に対してはあまり効果を期待しえないことをみとめた。

考察および結論

防腐剤として使用される以上は多くの微生物を対象にしているの評価をしなければならない。しばしば、防腐剤が使用目的にあわない、すなわち乱用の問題も起きてくる可能性があり、一方では防腐剤の適正な使用をしないがために、微生物学的には変異細胞の出現とあわせて効果を完全に発揮しえない状態をまねくおそれが生じてくる。

元来、防腐剤を使用すればすべての微生物を防ぐことができるという安易な考えをもつ人もなきにしもあらずであり、防腐剤の使用に際しては相当に吟味すべきである。今回の実験結果から、抗菌活性からみた全体的な知見として化合物によっては微生物に対する特異性がかなりはっきりしている。すなわち薬剤に対する抵抗力をみると、Gram 陽性菌は比較的弱い、陰性菌は強い。とくに *Pseudomonad* は薬物の作用濃度の面からみても相当に抵抗力が強いことを示している。したがって、防腐剤の利用価値についてはさらに異なる試験法による結果を合わせて総合的に評価しなければならないと考えられる。

文 献

- 1) 日本食品衛生協会：食品添加物要覧，p. 430

- (1968)
- 2) 化粧品品質基準：p. 6 (1970) 厚生省告示第72号
- 3) 日本薬局方第7改正第一部解説書：(1961) 広川書店

- 4) BBL Manual of Products and Laboratory Procedures 5th Ed., p. 149 (1968) U.S.A.
- 5) 微生物学ハンドブック編集委員会：微生物学ハンドブック，p. 1029 (1957) 技報堂

界面活性剤と殺菌剤の併用効果（第3報）

防腐剤の効力に及ぼす非イオン性界面活性剤の影響

栗栖 弘光・川原 隆一*

The Combined Effects of Surfactants with Germicidal Compounds. III

Effect of Nonionic Surfactants on the Activities of Antiseptics.

Hiromitsu KURISU and Ryuichi KAWAHARA

Three sorts of food antiseptics and four sorts of nonionic surfactants were tested for the combined effect of antifungal and antiyeast activities.

Results of the experiments were as follows;

- 1) Synergistic action was found when sodium benzoate (BA-Na) or sodium dehydroacetate (DHA-Na) were used with polyoxyethylene lauryl alcohol ether (BL-9EX), but other surfactants did not show the effect.
- 2) Butyl p-hydroxybenzoate (POBB) was antagonized with all nonionic surfactants and its activity decreased.

(Received May 31, 1971)

界面活性剤は、食品、医薬品、化粧品等に乳化剤、可溶化剤として広範囲に利用され、一般に反応性の少ない非イオン性界面活性剤が多く使用されているが、これらの製剤にはときにカビまたは細菌の増殖が見られることがあり、それらの防止のために、防腐剤が添加されることがある。これらの防腐剤として一般にパラオキシ安息香酸エステル類が多く使用されているが、青木、鎌田ら^{1,2)}は、パラオキシ安息香酸エステル類は、Tween系の界面活性剤と拮抗してその防腐効果が減少することを報告している。

著者らは第1報³⁾、第2報⁴⁾にて、水溶性殺菌剤、難溶性の殺菌剤等と、界面活性剤との併用効果について報告したが、今回、食品、医薬品等に多く使用されている防腐剤3種と非イオン性界面活性剤4種の併用効果について、水素イオン濃度を変えて、抗菌力にあたる影響について試験を行なったので報告する。

実験方法

1. 使用薬剤および菌株

実験に使用した非イオン性界面活性剤は、Table 1に示す4種類、防腐剤は、Table 2に示す3種類を使用した。

試験に使用した菌株は、当室保存の *Saccharomyces cerevisiae var ellipsoideus*, *Aspergillus niger* (ATCC 9642) の2株を用い、ブドウ糖ペプトン寒天培地で、30°, 48時間または72時間培養したものを使用した。

2. 抗菌力試験

供試菌株が発育可能な pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0 および pH 6.0 に調製したブドウ糖ペプトン水 10 ml 中に、防腐剤および非イオン性界面活性剤を、各実験の所要の稀釈濃度が得られるように調製した。

すなわち、非イオン性界面活性剤は、実験濃度（25倍、50倍、100倍、200倍）の2倍濃度液を作り、防腐剤は実験濃度の2倍の濃度液を作り、おのおの 5 ml ずつを各試験管に分注し、十分混和して各実験の所要の最終濃度液が得られるように調製した。

* エスエス製薬株式会社中央研究所

Table 1. Nonionic surface active agent

Compounds		Grade or manufacturer
Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate	Tween 80	JP VII
Polyoxyethylene lauryl alcohol ether	BL-9EX	Nikko Chemicals
Polyoxyethylene cetyl alcohol ether	Emalex 120	Nihon Emulsion
Polyoxyethylene hydrogenated castor-oil	HCO 60	Nikko Chemicals

Table 2. Antiseptics

Butyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	(POBB)
Sodium benzoate	(BA-Na)
Sodium dehydroacetate	(DHA-Na)

Specification by Japanese Food Hygienic Law

供試菌の接種は、*Asp. niger* は香川の方法で作った菌液を平板培養法で生菌数を測定し、約 6×10^7 /ml の菌液 1 白金耳を接種し、*Sac. cerevisiae* はブドウ糖ペプトン水で、30°, 24時間培養した菌液の 1 白金耳を接種したのち、それぞれ 30° で *Asp. niger* は168時間、*Sac. cerevisiae* は120時間静置培養した後、各菌株の発育の有無により各防腐剤の抗菌力を各々の菌の最小発育阻止濃度で測定した。

実 験 結 果

Table 3 (p. 145) および Table 4 (p. 146) に見られるように糸状菌と酵母菌との大きな相違は認められなかった。培地の pH による影響は、パラオキシ安息香酸ブチル (POBB) では見られず、安息香酸ナトリウム

(BA-Na) およびデヒドロ酢酸ナトリウム (DHA-Na) では、界面活性剤の濃度により若干の影響が見られた。界面活性剤が抗菌力に及ぼす影響については、パラオキシ安息香酸ブチル (POBB) では 4 活性剤とも同様な抗菌力の減少を示し、安息香酸ナトリウム (BA-Na) では、HCO 60, Tween 80, Emalex 120 の順で抗菌力が減少するのが見られたが、デヒドロ酢酸ナトリウム (DHA-Na) では、BL-9 EX を除いた他の 3 活性剤はほとんど抗菌力の減少は見られなかった。

BL-9 EX は安息香酸ナトリウム (BA-Na) およびデヒドロ酢酸ナトリウム (DHA-Na) の抗菌力を増加するのが認められた。

文 献

- 1) 青木大, 鎌田皎, 吉岡一成, 松崎藤一郎: 薬学雑誌, 76, 939 (1956)
- 2) 青木大, 鎌田皎, 松崎藤一郎, 中谷弘実: 薬学雑誌, 77, 410 (1957)
- 3) 栗栖弘光, 川原隆一: 衛生試験, 87, 90 (1969)
- 4) 栗栖弘光, 川原隆一: 衛生試験, 87, 94 (1969)
- 5) 香川三郎: 真菌と真菌症, 2, 251 (1961)

Table 3. Combined effect of nonionic surfactants with antiseptics in the test by *Aspergillus niger*

Nonionic Surfactant	POBB				BA-Na				DHA-Na			
	pH 3.0 1 : 8000 =1	pH 4.0 1 : 8000 =1	pH 5.0 1 : 8000 =1	pH 6.0 1 : 8000 =1	pH 3.0 1 : 4000 =1	pH 4.0 1 : 1000 =1	pH 5.0 1 : 120 =1	pH 6.0 1 : 60=1	pH 3.0 1 : 16000 =1	pH 4.0 1 : 8000 =1	pH 5.0 1 : 4000 =1	pH 6.0 1 : 1000 =1
Polyoxyethylene hydrogenated castor-oil (HCO 60)	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/2 1/2 1/2 1/4	1 1 1/2 1/4	1 1 1 1/2	1 1 1 1/2	1 1 1/2 1/2	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1
Polyoxyethylene cetylalcohol ether (Emalex 120)	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/2 1/2 1/4 1/8	1 1/2 1/2 1/4	1 1 1/2 1/2	1 1 1/2 1/2	1 1 1/2 1/2	1 1 1 1/2	1 1 1 1	1 1 1 1
Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate (Tween 80)	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/2 1/2 1/2 1/4	1 1/2 1/2 1/4	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1/2	1 1 1 1/2	1 1 1 1	1 2 2 4
Polyoxyethylene laurylalcohol ether (BL-9EX)	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1 1 1 1/2	2 2 2 1	4 4 4 4	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 4 4

The values in the Table are antifungal activities of the antiseptics when incubated with four kinds of surfactants, comparing with the antifungal activities of the antiseptics without the surfactant which activities were shown as 1.0.

Table 4. Combined effect of nonionic surfactants with antiseptics in the test by *Saccharomyces cerevisiae*

Nonionic Surfactant	POBB				BA-Na				DHA-Na			
	pH 3.0 1 : 16000 =1	pH 4.0 1 : 8000 =1	pH 5.0 1 : 8000 =1	pH 6.0 1 : 8000 =1	pH 3.0 1 : 4000 =1	pH 4.0 1 : 2000 =1	pH 5.0 1 : 500 =1	pH 6.0 1 : 60=1	pH 3.0 1 : 4000 =1	pH 4.0 1 : 4000 =1	pH 5.0 1 : 4000 =1	pH 6.0 1 : 500 =1
Polyoxyethylene hydrogenated castor-oil (HCO 60)	1 : 200 1/8 1/16 1/32 1/32	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/8 1/16 1/16	1 1/2 1/2 1/4	1 1/2 1/2 1/2	1 1 1 1/2	1 1/2 1/2 1/2	1 1 1 1	1 1 1 1	1/2 1/2 1/2 1/2	1 1 1 1
Polyoxyethylene cetylalcohol ether (Emalex 120)	1 : 200 1 : 100 1 : 50 1 : 25	1/8 1/8 1/16 1/32	1/8 1/8 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1/2 1/2 1/2 1/4	1 1/2 1/2 1/4	1 1/2 1/2 1/4	1/2 1/2 1/2 1/2	1 1 1 1	1 1 1 1/2	1/2 1/2 1/2 1/2	1 1 1 1
Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate (Tween 80)	1 : 200 1 : 100 1 : 50 1 : 25	1/8 1/16 1/32 1/32	1/8 1/16 1/16 1/16	1/8 1/16 1/16 1/16	1 1 1/2 1/2	1 1 1/2 1/2	1 1 1 1	1 1 1 2	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 2 4
Polyoxyethylene laurylalcohol ether (BL-9EX)	1 : 200 1 : 100 1 : 50 1 : 25	1/8 1/8 1/8 1/4	1/8 1/8 1/16 1/2	1/8 1/16 1/16 1/16	1 1 1 1	1 1 1/2 1/2	1 1 1 1	1 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	1 1 1 1	2 2 2 4

The values in the Table are antiyeast activities of the antiseptics when incubated with four kinds of surfactants, comparing with the antiyeast activities of the antiseptics without the surfactant which activities were shown as 1.0.

ラット副腎中コルチコステロン，アスコルビン酸および血清中
コルチコステロンに対する絶食，移動および注射の影響

長尾重之・中浦慎介・桑村 司

*The Influence of Starvation, Moving and Injection on Rat Adrenal
Corticosterone, Adrenal Ascorbic Acid and Serum Corticosterone*

Shigeyuki NAGAO, Shinsuke NAKAURA and Tsukasa KUWAMURA

The influence of starvation, moving and injection was studied on adrenal corticosterone, ascorbic acid and serum corticosterone in rats. It was demonstrated that injection was the most effective and even moving and relative short term starvation were remarkable stressful stimuli.

(Received May 31, 1971)

生体にストレスが加わった場合，副腎皮質の化学成分が変動することはよく知られているところであるが，Hodges ら¹⁾ はラットを用い生理食塩液の注射または handling (手でつかんだり もち上げたり すること) だけによっても副腎中コルチコステロン (AB)，副腎中アスコルビン酸 (AAA) の減少することを見ており，また Bouillé ら²⁾ は絶食がこれらの含量を変化させる因子となり得ることを指摘している。

われわれはこれまでラットを用い，その AB, AAA および血清中コルチコステロン (SB) を指標にしてモルヒネ (Mor) の影響を検討してきているが，その際の動物の取扱いでこれらの指標がいかに変動するかを明らかにするため，絶食，ラットの移動および生理食塩液投与が上述の指標にどの程度影響を与えるかについて検討した。

実験方法

動物は体重 130~140 g のウイスター系雄ラット40匹を使用し，つぎのように群分けした．各20匹ずつ2群に大別し，1群は実験開始16時間前に飼育室から隣室に移動した移動群と，他の1群はそのまま飼育室において非移動群とした．両群は各10匹ずつにさらに分け，1群は16時間前に餌を除いた絶食群，他の1群には餌を自由摂取させた給餌群として，さらにこれらの群はそれぞれ1群5匹となるように生理食塩液投与群と非投与群に分けた．実験当日，投与群には生理食塩液 0.5 ml/rat を背部皮下に投与しその1時間後に断頭採血し，直ちに副腎を摘出した．血液は血清を分離して SB 測定用に，また副腎は重量測定後，AB および AAA の測定に供した．なおコルチコステロンの抽出および定量は Guillemin ら³⁾ の方法の変法⁴⁾，アスコルビン酸については Roe ら⁵⁾ の方法に従って実

Table 1. Summarized data of results

Room	Injection	Food Serum Cort. ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Adr. Cort. ($\mu\text{g}/100\text{ mg}$)	Adr. Ascor. ($\mu\text{g}/100\text{ mg}$)
Not changed	Non	+ 4.59 $\pm$ 1.84	2.65 $\pm$ 1.23	506.67 $\pm$ 51.81
		- 7.84 $\pm$ 2.72	3.59 $\pm$ 1.79	446.32 $\pm$ 23.73
	Saline	+ 14.52 $\pm$ 6.23	4.27 $\pm$ 1.06	466.30 $\pm$ 20.68
		- 13.93 $\pm$ 4.41	3.99 $\pm$ 1.43	438.66 $\pm$ 35.94
Changed	Non	+ 4.59 $\pm$ 0.79	2.59 $\pm$ 0.58	440.78 $\pm$ 37.03
		- 10.51 $\pm$ 2.51	4.61 $\pm$ 0.55	424.51 $\pm$ 37.11
	Saline	+ 17.63 $\pm$ 3.81	9.60 $\pm$ 1.16	387.09 $\pm$ 33.09
		- 16.59 $\pm$ 3.52	7.88 $\pm$ 1.84	378.05 $\pm$ 14.92

Numerals in the table indicate mean and standard error.

施した。

実験結果

一括して Table 1 に示した。

全体的にみて注目されたのは SB および AB に対する注射の影響が大きいことであった。このことは非移動、移動、給餌および絶食のいずれの条件下でも同様であった。すなわち注射—給餌—非移動群の SB では非注射群の約 3 倍、AB で約 1.5 倍、非移動—絶食群では SB で約 1.8 倍、AB においても若干高い値が得られた。注射—移動—給餌群では SB、AB 両者とも非注射群の約 3.5 倍、一方、移動—絶食群では SB、AB 両者とも約 1.5 倍であった。なお AAA に対しても注射の影響がわずかに認められ、その変動は SB、AB に比較して小さく、非移動群、移動群それぞれの群内において注射群と非注射群とを比較した場合、非移動群、移動群ともに注射による減少は数%であった。

絶食の影響は、注射の場合ほど大ではなかったが、非注射群において絶食群と給餌群とを比較するとき、SB、AB では絶食群の方が高く、AAA では低い値を示した。すなわち絶食—非移動—無注射群の SB では給餌群の約 1.7 倍、AB では約 1.4 倍、移動—無注射群は SB 2.3 倍、AB 約 1.8 倍で絶食の影響が明らかに認められた。しかし注射した場合には注射の影響が大きく現われ、絶食の影響は被われて絶食群より給餌群の方がむしろ若干高い値が得られた。

他方 AAA では、SB、AB にくらべてその変動は小さく、非移動—無注射群で約 10% の減少がみとめられたのみで、他の群では絶食の影響は明らかでなかった。

移動の影響は給餌群より絶食群において強く現われ、注射によりさらに大となり、移動 16 時間後においてもなお環境変更の影響が認められた。

考察およびまとめ

血清および副腎中コルチコステロンおよび副腎中アスコルビン酸含量を指標として注射、移動および絶食の副腎に対する影響を検討したが、AAA の変化は SB または AB に対するそれに比較して小であり、Hodges らの報告と同様な結果であった。3 因子のうち注射による影響が最も大であったが、移動や絶食の影響も認められた。移動は実験 16 時間前に実施したのであるが、その時間を短縮すればさらに大きな影響を与えたものと考えられる。

副腎に対する薬物の影響を検討する際、注射の影響を考慮することはもちろん、使用動物を環境に慣しおくとともに動物の取扱いは慎重に行ない、実験は飼育条件と同じ環境下で処理する必要があると考える。

文 献

- 1) J.R. Hodges et al.: *J. Endocrin.*, **47**, 253 (1970)
- 2) C.B. Bouille et al.: *Endocrinology*, **87**, 1390 (1970)
- 3) R. Guillemin et al.: *J. Lab. Clin. Med.*, **53**, 830 (1959)
- 4) 中尾ら: 日薬理誌, **60**, 16§ (1964)
- 5) I.H. Roe et al.: *J. Biol. Chem.*, **141**, 399 (1943)

ウサギ脱繊維血を用いる溶血試験法補遺

田中 悟・長尾重之・桑村 司

On Hemolysis Test with Defibrinated Rabbit Blood

Satoru TANAKA, Shigeyuki NAGAO and Tsukasa KUWAMURA

Fundamental examination for the hemolysis test on extracts prepared from plastic containers for injection was studied. Incubation of samples more than 2 hours after addition of defibrinated rabbit blood and also centrifugation at 3,000 rpm after incubation were noticed to increase the rate of hemolysis.

(Received May 31, 1971)

近年、合成樹脂が医薬品用容器のみならず諸種の医療器具に利用されるようになり、その規格試験のひと

つとして、諸外国の公定書¹⁻⁵⁾を参考にして第八改正日本薬局方⁶⁾でも輸液用プラスチック容器の試験法がとり入れられることになった。

そこでわれわれはこの方法について検討し、溶血判定に関し若干の成績を得たので報告する。

実験方法

実験に用いた生理食塩液、蒸留水はともに日局VII⁷⁾規定の生理食塩液および注射用蒸留水である。

脱繊維血は、ウサギの耳中心動脈から血液 30 ml を無菌的に採取し、これを直径約 0.3 cm 大のガラス玉 20 個を入れて滅菌した内容約 50 ml の丸底フラスコに入れ、ゆるやかに約 5 分間（ガラス玉の音がしなくなるまで）手で振とうしたのち、滅菌ガーゼ 2 枚でろ過して調製し、これを実験に供した。

なお、本実験に用いたガラス器具はすべて、250°, 30分間乾熱滅菌し、実験操作も無菌的に行なった。

実験成績ならびに考察

(1) 溶血検体の可視部吸収スペクトル

脱繊維血 0.5 ml を蒸留水 10 ml に加え、37° のふらん器内に 2 時間静置して溶血させたのち、3,000rpm 10分間遠沈後その上清をとり、自記分光光度計（日立 EPS-3 T 型）により吸収スペクトルを測定した結果、酸化ヘモグロビンの吸収スペクトル^{8,9)}と一致して 578 mμ に吸収極大を得た。以下の実験では 578 mμ における吸光値を測定することとした。

(2) 脱繊維血量と吸光値

脱繊維血 0.01, 0.025, 0.05 および 0.1 ml に蒸留水を加えてそれぞれ 10 ml とし、吸収スペクトル測定の場合と同様の操作を行ない、加えた脱繊維血量と吸光値の関係を比較検討したところ、脱繊維血量を増すに従って吸光値も高くなり、加えた脱繊維血量 (0.01 ~ 0.1 ml) と吸光値の間に直線関係が認められた。

(3) 静置時間と遠沈操作の溶血に及ぼす影響

この種の実験において、溶血しなかった赤血球を除くために、しばしば遠沈操作が行なわれているが、脱繊維血を加えたのちの静置時間が長くなると赤血球の抵抗性が減弱するので¹⁰⁾、その後遠沈した場合、遠沈操作そのものによる物理的溶血の起こることが当然考えられる。

そこで脱繊維血 0.1 ml を生理食塩液 10 ml に加え、静かに 2 回転倒かくはんし、37° ふらん器内に 0, 2, 6, 12 および 24 時間静置したのち、各静置時間について、5, 10, 20 および 30 分間遠沈 (3,000 rpm) したものと、全く遠沈しないものの上清の 578 mμ における吸光値を測定し、次式 (I) により溶血率を算出して比較した。ただし、0 および 2 時間の静置では溶血しなかった赤血球が自然に沈殿せず、遠沈しない場合の吸光値は測定しなかった。

$$[I 式] \text{ 溶血率 } (\%) = \frac{a}{b} \times 100$$

a : 脱繊維血 0.1 ml を生理食塩液 10 ml に加えたときの吸光値

b : 脱繊維血 0.1 ml を蒸留水 10 ml に加え溶血させたときの吸光値

結果は Table 1 に示すとおりで、遠沈操作の有無および遠沈時間と溶血率の関係を見た場合、静置 0 および 2 時間では遠沈時間の長短に関係なく溶血率は 0.27 ~ 0.32% の範囲内で大きな差を示さず、ほとんど溶血現象は認められなかった。また静置 6 時間の遠沈したものとしらないものの溶血率も大差なかった。さらに、12 時間静置したものでも遠沈操作の有無および遠沈時間の長短による溶血率の差はほとんど見られなかったが、静置 6 時間以下のものより、全般的にやや高い溶血率 (0.64 ~ 0.89%) を示した。しかしこの程度の溶血率は吸光値として 0.009 ~ 0.013 であり、肉眼では溶血したと判定できなかった。

Table 1. Effect of centrifugation and incubation time on hemolysis *in vitro*

Incubation time (hr)	Centrifugation time (min)				
	0	5	10	20	30
0	—	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.29 ± 0.03
2	—	0.32 ± 0.04	0.30 ± 0.05	0.32 ± 0.03	0.29 ± 0.03
6	0.25 ± 0.04	0.39 ± 0.02	0.37 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.41 ± 0.04
12	0.64 ± 0.12	0.82 ± 0.11	0.80 ± 0.05	0.89 ± 0.11	0.78 ± 0.09
24	0.75 ± 0.13	19.19 ± 0.71	20.45 ± 1.81	21.70 ± 1.83	23.41 ± 0.92

Numerals indicate hemolytic rate (%)

Mean ± standard error

24時間静置したものでは、遠沈しない場合の溶血率は $0.75 \pm 0.13\%$ で静置12時間以下のものと大差なかったが静置6時間値より大となり、遠沈した場合には、遠沈時間が5, 10, 20, 30分と長くなるに従って、溶血率はそれぞれ19.2, 20.5, 21.7および23.4%となり、遠沈操作の有無により明らかな差が見られるとともに、遠沈時間が延長するに従い溶血率も大となることが認められた。また、市販輸液用プラスチック容器生理食塩液抽出液を用いて行なった実験においても同様の結果が得られた。

一方、静置時間と溶血率の関係をみた場合、静置時間が長くなるに従って、遠沈操作の有無および遠沈時間に関係なく溶血率は全般的に増加傾向を示し、特に、24時間静置後遠沈したものでは明らかに溶血率の増大が認められ、ヒトの赤血球を 37° 下に24時間静置したのちの赤血球抵抗は著しく減弱していたというDacieら¹⁰⁾の報告と良く一致する成績が得られた。

したがって、本実験では静置時間と遠沈操作の溶血に及ぼす影響について検索するために前述式(I)を用いたが、実際に未知検体の赤血球溶血に及ぼす影響の程度を検索する場合には必ず対照に生理食塩液をとり、次の式(II)によって溶血率を算出するのがより適当であろう。

$$[\text{II式}] \quad \text{溶血率}(\%) = \frac{(x-a)}{(b-a)} \times 100$$

ただし、a, bは前述I式と同じ、xは脱繊維血0.1 mlを未知検体10 mlに加えたときの吸光値である。

なお、本実験はすべて 37° の温度条件下で行ない、温度と溶血の関係については検討を加えなかったが、 $20 \sim 40^{\circ}$ の温度条件下では特に温度差に由来する溶血は認められなかったという報告^{11,12)}などから推察し

て、温度条件に関する限り、 37° 下で溶血試験を行なってもその遂行上不都合はないものと考える。

ま と め

ウサギの脱繊維血を用いる溶血試験法について検討した結果、静置時間の延長にともない溶血率は増加傾向を示し、2時間以内の静置では遠沈時間に関係なくその増加傾向は軽度であったが、静置24時間では、遠沈操作を行なうことにより明らかに溶血率が増大し、遠沈時間が長くなるに従いさらに溶血率は大となる結果を得た。したがって輸液用プラスチック容器試験法での判定にあたり、遠沈操作を行なう場合には注意を要するものと考える。

文 献

- 1) USP, XVII, p. 899 (1965)
- 2) BP, p. 496 (1968)
- 3) FP, VIII, p. 1387 (1965)
- 4) NF, XIII, p. 840 (1970)
- 5) NP, p. 16 (1963)
- 6) 第8改正, 日本薬局方, p. 853 (1971)
- 7) 第7改正, 日本薬局方, p. 352, p. 385 (1961)
- 8) E.B. Flink, C.J. Watson: *J. Biol. Chem.*, **146**, 171 (1942)
- 9) 西岡脩: 医学のあゆみ, **56**, 644 (1966)
- 10) J.V. Dacie, P.L. Mollison, N.J.G. Richardson, L. Shapiro: *Quart. J. Med. N.S.*, **22**, 79 (1953)
- 11) 有賀槐三, 大岩林次: 日本内科誌, **42**, 311 (1953)
- 12) H. Banaschak: *Folia Haematol.*, **89**, 469 (1968)

タール色素の製品検査について（第4報）*

昭和45年度におけるタール色素の製品検査成績について

野村幸雄・外海泰秀・上吉千恵子

*On the Official Inspection of Coal-Tar Dyes. IV**Results of the Official Inspection of Coal-Tar Dyes, in 1970*

Yukio NOMURA, Yasuhide TONOGAI and Chieko KAMIYOSHI

Results of the official inspection of coal-tar dyes, in 1970, were described. Numbers of coal-tar dyes tested and the results were summarized in Table 1. Total 1633 samples were submitted to the test and 13 of them were rejected and 18 were questionable. The results of tests for the rejected and questionable samples were also shown in Table 2 and 3. The quality of the passed samples were summarized in Table 4 and 5.

(Received May 31, 1971)

食用タール色素およびそのアルミニウムレーキの製品検査¹⁾は国立衛生試験所の重要な業務の一つである。

昭和44年度における食用タール色素の製品検査については、件数、品目および検査項目が多岐にわたるため、限られた人員と期間で、迅速正確に検査する方法を試み²⁾、特に煩雑な操作を必要とするタール色素およびそのアルミニウムレーキ中の重金属試験には、原子吸光分析法の活用を検討して省力化を計り³⁾、その方法を応用した製品検査成績について詳細に報告した⁴⁾。

昭和45年度の製品検査については、前記検査方法²⁾の問題点の解決を計りつつ⁵⁾年間の全製品についてその品質を検査したのでその成績を報告する。

検査成績および考察

1. 種類別、月別の検査件数および成績について

食用タール色素は31社から12種類、1,633件の規格試験を行ない、種類別の合格、不合格件数および月別の件数は Table 1 に示すとおりである。

食用タール色素で最も件数の多い品目は、食用黄色4号で642件、ついで食用赤色2号352件、食用黄色5号310件、食用赤色102号193件の順序になる。件数の最も少ないのは食用赤色105号1件で、昭和44年度と同様食用緑色2号、同3号の申請はなかった。

不適色素の種類、件数および不適率は、食用赤色106号が7件中3件（42.9%）、食用赤色3号が41件中7件（17.1%）とキサンテン系色素の成績がふるわず、食用黄色4号が642件中2件、食用黄色5号が310件中1件で、いずれも0.3%であった。

要注意件数は昭和44年度に劣らず本年度も多いが、色素の精製のめやすとなる塩化物および硫酸塩の項の要注意件数の多いことが特徴である。すなわち、塩化物および硫酸塩の項では、食用赤色102号193件中7件（3.6%）、食用黄色5号310件中8件（2.6%）もあり、重金属クロムの項では、食用青色36件中3件（8.3%）みられた。

Table 1 に示したように1971年1月以降、今まであまり問題のなかった食用赤色102号および食用黄色5号に要注意件数が急増したので、これからも充分の監視が必要と思われる。

本年度の製品検査結果の特徴は、昨年度に比べて、不適の率では、食用赤色106号について他の色素の項不適が最も多く、ついで食用赤色3号と、キサンテン系色素の不合格品が目立ち、要注意件数では、前年度と異なり他の色素の項における食用赤色106号はなくなり、かわりに重金属クロムの項で食用青色1号、塩化物および硫酸塩の項では、これまで問題のなかった食用赤色102号、食用黄色5号の件数が急増したことである。

なお他の色素の項での要注意に相当するものは本年度より全部不合格と判定した。

2. 不合格件数およびその理由

* 外海泰秀, 野村幸雄: 衛生試験, 88, 139 (1970) を第3報とする。

Table 1. Numbers of the test samples in several coal-tar dyes

Name of dye	1970					Months				1971				Total
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
Food Red No. 2	26	30	5	28	38	18	64	49	21		42	31	352	
Food Red No. 3		6	7 (3)	5	6 (1)	4	1	1	6 (3)			5	41 (7)	
Food Red No. 102	4	20	20	11	19	38	14	4	30		23	10 (7)*	193 (7)*	
Food Red No. 103	2			2			1						5	
Food Red No. 104				2		3	2		2		4		13	
Food Red No. 105							1						1	
Food Red No. 106		1				2 (2)	1 (1)		2		1		7 (3)	
Food Yellow No. 4	83	58 (2)	73	68	61	60	114	36	33		33	23	642 (2)	
Food Yellow No. 5	41	20	40	46	18	29	26	7	35 (1)		34 (8)*	14	310 (1)(8)*	
Food Blue No. 1			5 (3)*	2	2	11	3		8		4	1	36 (3)*	
Food Blue No. 2		2	3	4	5		8						22	
Food Violet No. 1		1		3		1	2		2		1	1	11	
Total	156	138 (2)	153 (3) (3)*	171	149 (1)	166 (2)	237 (1)	97	139 (4)	0	142 (8)*	85 (7)*	1633 (13) (18)*	

() : Numbers of rejected samples

()* : Numbers of questionable samples

食用タール色素製品検査件数 1,633 件のうち、不合格製品が 13 件 (0.9%) 認められた。

Table 2 に示すように、不合格色素の不適理由は、他の色素および水不溶物の項不適のものが食用赤色 3 号に 3 件、他の色素の項不適のものが食用赤色 3 号に 1 件、食用赤色 106 号に 3 件、定量の項不適のものは食用黄色 4 号に 2 件、塩化物および硫酸塩の項不適のものは食用赤色 3 号に 2 件、塩化物および硫酸塩の項と重金属鉄の項不適のものでは、食用黄色 5 号に 1 件あり、いずれも精製度の不十分であることを示している。なお重金属鉄の項不適のものでは、食用赤色 3 号に 1 件みられた。本年度は乾燥減量不適の製品はなかったが、食用黄色 4 号に 1 件、色素含量が 68.9% (規格値 85% 以上) の不良品も混在していた。

要注意色素は 18 件あり、Table 3 に示したように、その要注意理由は、塩化物および硫酸塩の項について食用赤色 102 号 7 件、食用黄色 5 号 8 件と、アゾ系色素の精製度に問題点がみられ、また重金属試験ではクロムについて、食用青色 1 号に 3 件認められた。前年度に比較して異なった点は、定量および乾燥減量ならびに他の色素の項における要注意件数は全く見当らなかった。

3. 合格製品の品質について

Table 1 に示した食用タール色素 12 種類の各件数を検査した結果、合格した製品の品質をまとめて Table 4 に示した。

本年度の合格品の品質をみると Table 4 から明らかのように、色素含量は、食用赤色 102 号および食用

Table 2. Summary of the rejected samples

Name of dye	Content of dye (%)	Chloride and Sulfate (%)	Other coloring matter	Heavy metal	Insoluble matter in water	Total
Food Red No. 3			Recognized obviously		Recognized obviously	7
"						
"						
"			Tailing from original point			
"		2.4 (2.0)* 2.5				
"		2.2 (2.0)* 2.2				
"				<Iron limit, ≈Chromium		
Food Red No. 106			Recognized obviously			3
"						
"						
Food Yellow No. 4	82.3 (85.0)					2
"	68.9 (85.0)					
Food Yellow No. 5		7.7 (5.0) 7.8		>Iron limit		1

() : Lower limit

() * : Upper limit

Table 3. Summary of the questionable samples

Name of dye	No. of sample	Chloride and Sulfate (%)	Heavy metal
Food Red No. 102	7	Limit (8.0)	
Food Yellow No. 5	8	Limit (5.0)	
Food Blue No. 1	3		Chromium questionable

青色1号の規格値82%以上のほかは、85%以上となっているが、各食用色素とも限度の近くから、かなり高純度のものまで各社によって品質の差がみられた。

また乾燥減量についてみると、その規格限度は食用赤色3号12%以下、食用紫色1号8%以下のほかはすべて10%以下となっているが、まだ規格値ぎりぎりの製品もかなり含まれており、ある社の製品ではつねに良好な乾燥製品結果を与えている。

食用色素中の不純物で水と共に大きな割合を占めている塩化物および硫酸塩試験についてみると、塩析剤としては硫酸ナトリウムより塩化ナトリウムの方がよく用いられているようで、前年度のように色素の種類による明らかな差異はなくなる傾向がみられる。

すなわち、硫酸塩の含量が増加する可能性があるもので、今後さらに硫酸塩の含量の動向を十分試験する必要を痛感した。

塩化物試験および重金属試験は省力と正確さをかね

Table 4. Quality of the passed samples

Name of dye	Content of dye (%)	Loss on drying (%)	Chloride (%)	Sulfate (%)	Other coloring matter	Arsine 2 ppm
Food Red No. 2	88.2~94.5	0.5~9.4	1.4~4.4	0~<2.0	<Limit	<Limit
Food Red No. 3	86.4~94.4	0.3~9.7	0.2~1.9	0~<1.5	"	"
Food Red No. 102	82.2~89.5	1.0~9.8	4.0~7.9	0~<2.0	"	"
Food Red No. 103	91.5~91.6	4.2~5.3	0.8~1.0	0~<0.5	"	"
Food Red No. 104	86.5~90.6	3.5~6.4	1.7~2.9	0	"	"
Food Red No. 105	89.8	5.4	1.6	0	"	"
Food Red No. 106	87.2~92.2	1.1~4.8	0.3~4.9	0~<0.5	"	"
Food Yellow No. 4	85.1~96.2	0.3~9.9	2.5~5.9	0~<2.0	"	"
Food Yellow No. 5	85.4~95.4	0.8~9.0	2.3~4.9	0~<1.0	"	"
Food Blue No. 1	86.5~96.8	1.2~4.7	0.1~1.2	0~<1.0	"	"
Food Blue No. 2	92.5~96.7	1.4~5.0	0 ~1.3	0~<7.0	"	"
Food Violet No. 1	90.1~94.5	0.6~3.5	0.1~0.9	0~<0.5	"	"

Table 5. Quality of the passed samples with the remarks

Name of dye	No. of sample	Supplier of sample	Chloride+ (%)	Heavy metal++				Total
				Zn	Fe	Cr	Pb	
Food Red No. 2	5	K			**			
"	2	K			**	****		7
Food Red No. 102	1	R	7.0		*			
"	1	A	7.7	*	*			
"	20	K					*	
"	11	S	7.4~7.9					33
Food Red No. 3	1	B			**	**		
"	4	D	2.6~3.2					5
Food Yellow No. 4	1	A	5.9					
"	1	C	5.8					
"	1	F	6.4					
"	1	G	6.2					
"	3	E					*	7
Food Yellow No. 5	1	D	5.7					
"	1	I	5.8					
"	1	S					*	
"	14	R	4.7~5.7					17
Food Blue No. 1	17	S				**		
"	2	H				*		
"	1	R			*	**		20
Food Blue No. 2	10	S			**			
"	4	S			***			
"	3	R			*	**		
"	1	K						18

* : A little
 ** : No little
 *** : Limit

**** : Over the limit
 + : Automatic potentiometric titration method
 ++ : Atomic absorption spectrophotometric method

て、自動電位差滴定法、原子吸光分析法をスクリーニングに活用し²⁾、色素規格試験の迅速化を計ったが、公定書法¹⁾では合格品ではあるが、かなり問題のあった色素の種類、件数、定量値、申請者を関連づけて Table 5 にまとめたので、今後、食用タール色素製造上の参考となれば幸甚である。

他の色素の項では、前年の経験から適否判決基準を定めたので判定上は問題はなく、他の色素の項についての要注意件数もなくなった。なお、ヒ素、その他の試験項目については不良品はなかった。

あ と が き

以上の製品検査成績より、タール色素の過半数を占めるアゾ系色素（食用赤色 2 号、同 102 号、同黄色 4 号、同 5 号）は概して品質の一定した製品が多いようであるが、Table 5 にまとめたように、前年と異なり 1 部小分け業者のみならず大手メーカーの製品にも、たとえば、食用赤色 2 号、同 102 号、同黄色 4 号、同 5 号に塩化物および硫酸塩の項、重金属試験の各項で品質の低下傾向がみられた。

キサントン系色素（食用赤色 3 号、同 103 号、同 104 号、同 105 号、同 106 号）については、本年度の不合格色素の過半数（10 件）を占め、特に純度試験のうち、他の色素の項で食用赤色 3 号、食用赤色 106 号に不適品があり、色素製造技術上、各社の一層の努力が望まれる。

ヒ素については、前年度は問題はなかったが、最近食用赤色 2 号に比較的多いものが検出されるようになり、製造原料、試薬の吟味を希望したい。

重金属試験に関しては、前年度に続いて原子吸光分析法でスクリーニングした結果、Table 5 にまとめたように色素の種類、各社の製品間に差異が認められた。

クロムは食用赤色 2 号、同 3 号、同青色 1 号、同 2 号に検出されることが多く、鉄は食用赤色 2 号、同 102 号、同 3 号、同青色 1 号、同 2 号に多い。本年度は亜鉛を多く含有する製品はなかったが、その他の重金属の項（主として鉛）では食用赤色 102 号、食用黄色 4 号、同 5 号にかなりの増加が判明した。

塩化物は食用赤色 3 号に 2 件、食用黄色 5 号に 1 件不良品がみられた。

年間を通じてまだ昨年に劣らず要注意の製品があつたとをたず、特に 1971 年以降の製品に塩化物および硫酸塩の試験の項で許容限界値に近い製品が急に出現し、品質の低下をきたしていることはまことに遺憾である。

文 献

- 1) 食品添加物公定書注解編集委員編：第 2 版食品添加物公定書注解，p. 426, p. 1121 (1968) 金原出版
- 2) 野村幸雄，外海泰秀，吉田由美子，栗山加代：衛生試験，88，134 (1970)
- 3) 外海泰秀，野村幸雄：衛生試験，88，139 (1970)
- 4) 野村幸雄，外海泰秀，吉田由美子，栗山加代：衛生試験，88，130 (1970)
- 5) 外海泰秀，野村幸雄：日本薬学会大会 (1971) で発表

タール色素の製品検査について (第5報)

昭和45年度におけるタール色素のアルミニウムレーキの
製品検査成績について

野村幸雄・外海泰秀・上吉千恵子

*On the Official Inspection of Coal-Tar Dyes. V**Results of the Official Inspection of Aluminium Lakes
of Coal-Tar Dye, in 1970*

Yukio NOMURA, Yasuhide TONOGAI and Chieko KAMIYOSHI

Results of the official inspection of aluminium lakes of coal-tar dyes in 1970, were described.

Numbers of lakes tested and the results were summarized in Table 1. Total 127 samples were submitted to the test and all of them were passed. The quality of the passed samples were summarized in Table 2.

(Received May 31, 1971)

粉末食品、マーガリンなどの油脂製品、糖衣菓子、錠剤のコーティングなど、種々の食品に単味または他の食用タール色素レーキと配合して使用される食用タール色素のアルミニウムレーキは、基質顔料としての水酸化アルミニウムの上に色素のアルミニウム塩を生成させて製造する。

またレーキに使用する水酸化アルミニウムは塩基性アルミニウム塩というべきもので、その構造は $\text{Al}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{Al}(\text{OH})_2 \cdot \text{OSO}_3\text{H}$ または $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{O} \cdot 3\text{SO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ あるいは $[\text{Al}_{2+n}(\text{OH})_{3n}]\text{LX}_m$ (X: Cl, NO_3 , SO_4 など, L: 色素本体) などの一般式であらわされている¹⁾。本品は、昭和40年7月5日に食品添加物に指定され、昭和41年2月27日に規格²⁾が定められているが、当所では、昭和40年7月8日に食用タール色素のアルミニウムレーキを初めて受付け、7月30日に合格品第1号を出して以来、本年3月末までの検査件数は738件であり、昭和23年7月13日、厚生省令第23号で指定された食用タール色素に比べて製品検査の歴史は浅い。

著者らは、昭和44年5月、製品検査業務を引継いで以来、食用タール色素とともにそのアルミニウムレーキの検査³⁾も実施してきた。昭和44年度においては、アルミニウムレーキの検査項目も食用タール色素と同様、多岐にわたり、重金属試験は操作が煩雑なため、アルミニウムの妨害を除去しつつ原子吸光分析法を活用し³⁾、また水溶性塩化物および水溶性硫酸塩の試験

には、自動電位差滴定法を応用し、製品検査の迅速正確化を図り⁴⁾、その検査結果を食用タール色素とともに報告⁵⁾した。本年度も従前の方法で、年間の全製品について品質を検査を行なうことにした。食用タール色素の検査成績については、前報⁶⁾で詳細に報告したので、本報ではそのアルミニウムレーキについての検査成績を報告する。

検査成績および考察

1. 種類別、月別の検査件数および成績について

食用タール色素のアルミニウムレーキは、1社から7種類、127件について規格試験を行ない、種類別の合格件数および月別件数は Table 1 に示すとおりである。

食用タール色素のアルミニウムレーキで最も件数の多いのは、食用黄色4号レーキで51件、ついで同5号レーキ42件、同赤色2号レーキ14件の順でアゾ系色素レーキが大半を占めている。

キサンテン系色素のレーキでは食用赤色3号レーキで11件、トリフェニルメタン系色素レーキでは食用青色1号レーキ5件、同紫色1号レーキ3件で、件数の最も少ないのは、食用青色2号レーキ1件であった。なお、昨年同様、食用緑色2号アルミニウムレーキ、同3号レーキの申請はなく、127件の検査結果は、問題なく全品合格となった。

2. 合格品の品質について

Table 1. Numbers of the test samples in several lakes of coal-tar dyes

Name of dye	1970	Months								1971				Total
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
Food Red No. 2 Al Lake				3				11					14	
Food Red No. 3 Al Lake				10				1					11	
Food Yellow No. 4 Al Lake	22			8				1		10	10		51	
Food Yellow No. 5 Al Lake	23				18			1					42	
Food Blue No. 1 Al Lake								1		4			5	
Food Blue No. 2 Al Lake								1					1	
Food Violet No. 1 Al Lake								1			2		3	
Total	45			21	18			17		14	12		127	

Table 2. Quality of the passed samples

Name of dye	Content of dye (%)	Loss on drying (%)	Chloride (%)	Sulfate (%)	Other coloring matter	Arsine 2 ppm
Food Red No. 2 Al Lake	18.3~19.2	18.5~23.7	0.1~0.2	<0.5	>Limit	<Limit
Food Red No. 3 Al Lake	16.7~17.5	16.3~18.1	0.1	0	//	//
Food Yellow No. 4 Al Lake	19.4~21.0	15.5~18.6	0.1~0.2	<0.5~<1.5	//	//
Food Yellow No. 5 Al Lake	15.9~19.9	17.8~19.2	0.1~0.3	<0.5	//	//
Food Blue No. 1 Al Lake	11.6~12.7	15.5~20.1	0.5~0.7	0	//	//
Food Blue No. 2 Al Lake	15.1	17.6	0.2	<0.5	//	//
Food Violet No. 1 Al Lake	14.5~17.4	19.6~20.6	0.1~0.2	0	//	//

食用タール色素の規格値に対して、そのアルミニウムレーキの規格値は、各試験項目とも比較的緩和なため不適製品はなかった。合格品 127 件についての品質を Table 2 にまとめた。

製品検査結果から本年度の合格品の品質をみると、色素含量では、食用赤色 2 号レーキでは 18.3~19.2%，同 3 号レーキでは 16.7~17.5%，同黄色 4 号レーキは 19.4~21.0%，同 5 号レーキ 15.9~19.9%，同青色 1 号レーキ 11.6~12.7%，同青色 2 号レーキ 15.1%，同紫色 1 号レーキ 14.5~17.4% となり、青色 1 号レー

キの色素含量が比較的少いようであるが、いずれも規格値 10% 以上の品質で合格した。

また乾燥減量についてみると、食用赤色 2 号レーキ 18.5~23.7%，同 3 号レーキ 16.3~18.1%，同黄色 4 号レーキ 15.5~18.6%，同 5 号レーキ 17.8~19.2%，同青色 1 号レーキ 15.5~20.1%，同 2 号レーキ 17.6%，同紫色 1 号レーキ 19.6~20.6% となり、いずれも規格値 30% 以下で品質には問題はなかった。

水溶性塩化物および水溶性硫酸塩の試験についてみると、一般に硫酸塩および塩化物がいずれも含有され

ているが、食用赤色3号レーキ、同青色1号レーキ、同紫色1号レーキには硫酸塩はみとめられなかった。アルミニウムレーキの場合、塩化物および硫酸塩の規格値が2%以下で、食用タール色素に比して低く、検査結果からみても非常に少なく、問題はなかった。なお Table 2 に示した塩化物の定量値の範囲は、自動電位差滴定法による測定値である。重金属試験については、レーキを湿式分解後、原子吸光分析法²⁾でスクリーニングしたが、亜鉛、鉄、その他の重金属(鉛として)には、問題となる製品はみられず、他の色素、ヒ素、バリウムの試験結果も良好であった。

あ と が き

以上の製品検査結果からみると、本年度は申請者が

1社のため、品質はおおむね一定しているようである。

文 献

- 1) 食品添加物公定書注解編集委員編：第2版食品添加物公定書注解，p. 432 (1968) 金原出版
- 2) 食品添加物公定書注解編集委員編：第2版食品添加物公定書注解，p. 1127 (1968) 金原出版
- 3) 外海泰秀，野村幸雄：衛生試験，88，139(1970)
- 4) 野村幸雄，外海泰秀ら：衛生試験，88，134(1970)
- 5) 野村幸雄，外海泰秀ら：衛生試験，88，130(1970)
- 6) 野村幸雄，外海泰秀，上吉千恵子：衛生試験，89，151 (1971)

昭和44，45年度における口紅中のタール色素の一斉取締検査について

持田研秀・古謝紀和・佃井典子

Tests for Arranged Inspection of Coal-Tar Dyes in Lipsticks, in 1969 and 1970

Kenshu MOCHIDA, Norikazu KOJA and Setsuko TSUKUI

Results on arranged inspection of coal-tar dyes in lipsticks, in 1969 and 1970, were described with some discussion. In 1969, all samples passed through the examination, but in 1970, one of 56 samples was rejected and five samples were passed with the remarks. It was found that Tetrabromofluorescein (Red 223 or Red 103), Lake Red (Red 203 or Red 204), Permanent Orange (Orange 203), Brilliant Lake Red (Red 219), and Lithol Rubin (Red 201 or Red 202) were widely contained in lipsticks. Brilliant Fast Scarlet (Red 404) was detected in the rejected sample which has been permissible only for mucous membrane. In the remarked samples, xanthene dyes contained subsidiary products as a concomitant.

(Received May 31, 1971)

ま え が き

現在、化粧品に使用を許可されているタール色素は88種類あり、発がん性および催腫瘍性など人体にとって有害な色素は、順次削除される段階にある。この趣旨をもとにして昭和44，45年度の口紅中のタール色素の一斉取締検査は、厚生省令第30号(昭41. 8. 31)によって削除した品目(16種類)および使用範囲を変更した品目(9種類)を対象に実施されたことは、きわめて重要な意義を持っている。

そこで、著者らは、検査の過程において遭遇した問題として、最近の市販口紅に使用される色素の種類の調査ならびに削除された色素と使用範囲の変更された色素の徹底的な検索と付随する副色素について、参考

となる知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 材料

パールおよびゴールド系統色口紅43品(昭和44年度)，オレンジ，ピンクおよびローズ系統色口紅56品(昭和45年度)。

2. 分離ならびに確認方法

(1) タール色素の抽出，確認：口紅中のタール色素の証明方法¹⁾および衛生試験法の有機性着色料定性試験法²⁾に準じ，Fig. 1の方法により抽出したのち，分取薄層クロマトグラフ法により分離し，ろ紙クロマトグラフ法，薄層クロマトグラフ法，可視部吸収スペクトル法，けい光スペクトル法，赤外線吸収スペクトル

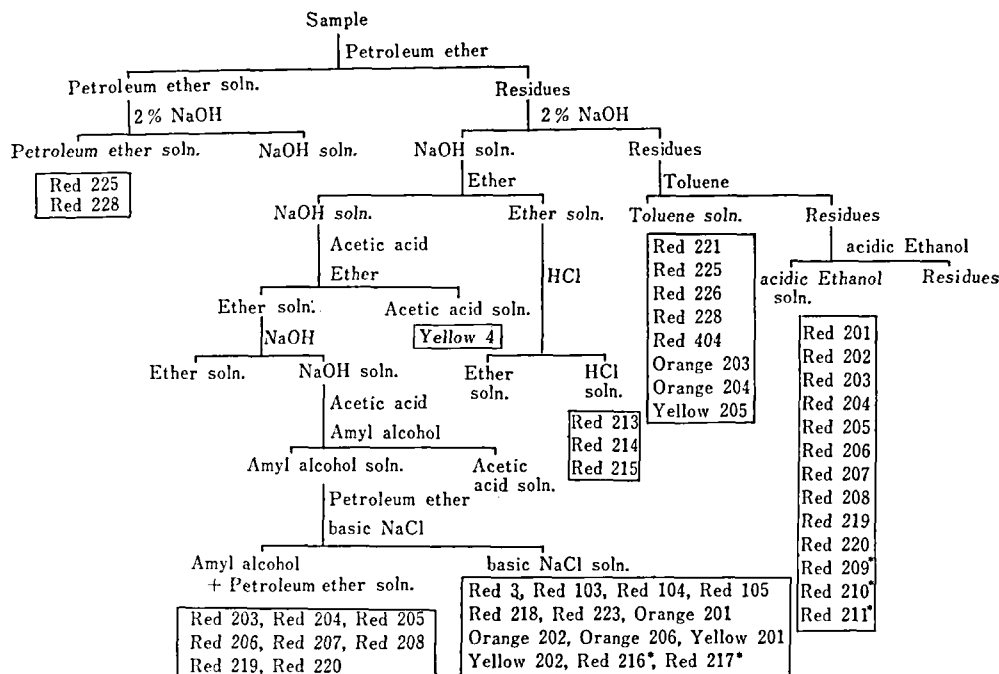


Fig. 1. Analytical scheme of coal-tar dyes in lipstick

* struck off the list of permissible dye in 1966

法により確認を行なった。ただし、Brilliant Fast Scarlet (Red 404) の場合は、口紅約 20 g をとり、クロロホルムを抽出溶媒として、ソックスレー抽出器を用いた。さらに、色素抽出液に混入する基剤（ワックス・パラフィン）を除去するため、石油エーテルを用いて数回脱脂操作を繰り返した。

(2) 可視部吸収スペクトル：日立自記分光光度計 EPS-3 形を用いた。

(3) けい光スペクトル：日立分光けい光光度計 MPF-2A 形を用いた。

(4) 赤外線吸収スペクトル：日立回折格子赤外分光光度計 EPI-G2 形を用いた。

(5) 融点：三田村理研製視野式微量融点測定装置によって測定した。

3. 標準品

下記以外のものは国立衛生試験所標準品を用いた。

Dibromofluorescein, Fluorescein：市販品を分取薄層クロマトグラフ法により精製した。

Brilliant Lake Red R (Red 219)：市販品から夾雑物を熱クロロホルムで除いたのち、氷酢酸により再結晶した。融点：233~234°。

Brilliant Fast Scarlet (Red 404)：市販品から夾雑物をエーテルで除いたのち、クロロホルムから再結晶

した。融点：313~314.5°。

実験結果および考察

1. 口紅中から検出された色素の種類

口紅に使用が許可されている色素³⁾は、省令ではその別表第一（医薬品・化粧品用色素）に属する17種類、別表第二（粘膜に使用する外用医薬品・化粧品用色素）に属する45種類の計62種類であるが、44、45年度一斉取締検査で口紅中から Fig. 2 に示すような色素が検出された。Tetrabromofluorescein およびそのナトリウム塩 (Red 223, Red 103) が最も繁用されており、ついで Lake Red C (Red 203, Red 204), Permanent Orange (Orange 203), Brilliant Lake Red R (Red 219), Lithol Rubin B (Red 201, Red 202) 等がある。しかし、両年度の試料は、パール・ゴールド（昭和44年度）、ピンク・オレンジ・ローズ（昭和45年度）と系統色が異なるにもかかわらず、使用された色素の種類にはほとんど差がみとめられなかった。

2. Brilliant Fast Scarlet (Red 404) の検出

Fig. 1 の系統的分析法によってトルエン抽出液から別表第三（粘膜以外に使用する外用医薬品・化粧品用色素）に属する Brilliant Fast Scarlet (Red 404) を検出した。すなわち、このトルエン抽出液の可視部吸

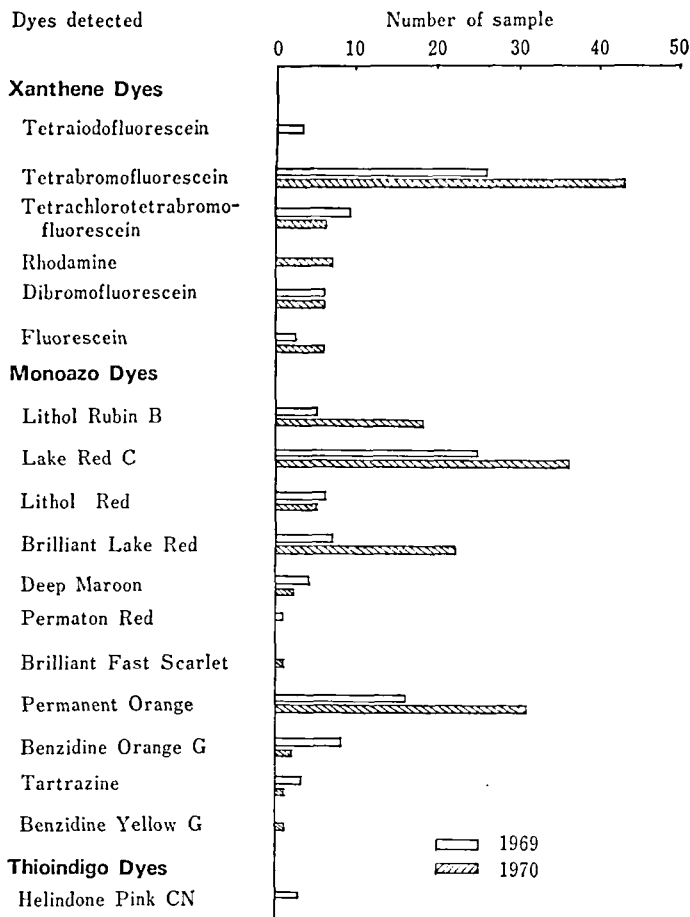
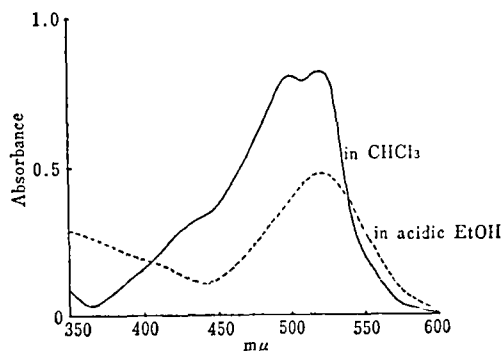


Fig. 2. Dyes detected from Lipsticks in 1969 and 1970

Fig. 3. Absorption spectra of Brilliant Fast_Scarlet ($1.41 \times 10^{-4} M$)

収スペクトルは、 λ_{max} 498 m μ および 522 m μ の特異な二峰性のパターンを示し、Fig. 3 の標準 Red 404 とよく一致した。またベンゼン、1,1,1-トリクロロエタン等を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行

なうとき、 R_f 値が低く、他の油溶性色素との分離が充分でないで、メチルエチルケトン：ベンゼン：氷酢酸 (25:90:2) の混合溶媒を用いたところ R_f 値は約0.6となり、標準 Red 404 とよく一致した。さらに口紅の基剤としてワックスおよびパラフィン等が微量夾雑するため、抽出後精製したものの赤外線吸収スペクトルを測定するとき、Fig. 4 に示すように、 $2,980\text{ cm}^{-1}$ 、 $2,850\text{ cm}^{-1}$ にメチルメチレンの吸収および $1,730\text{ cm}^{-1}$ にカルボニルの吸収を認めた。これを石油エーテルにより数回脱脂操作を行ない、精製された色素は標準 Red 404 のスペクトルとよく一致した。この精製された色素の融点を測定するとき、 $313 \sim 314.5^\circ$ を示し、標準 Red 404 と混融しても融点降下を示さなかった。

3. 夾雑する附随色素について

45年度の検査結果では Dibromofluorescein およびそのナトリウム塩 (Orange 201, Orange 202) を含

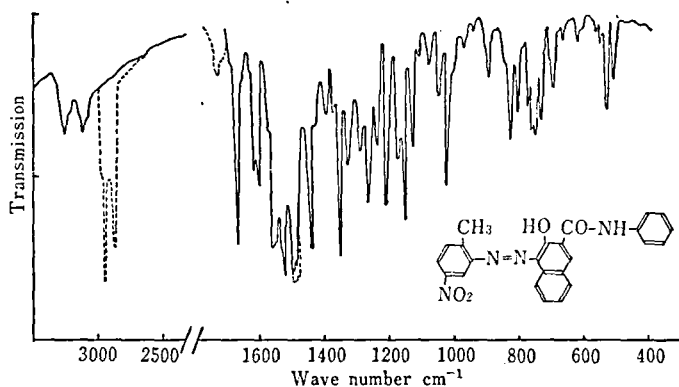
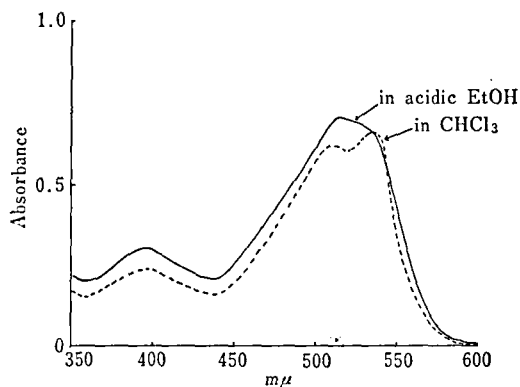


Fig. 4. IR-Spectrum of Brilliant Fast Scarlet (KBr)

—: with petroleum ether washing
 ---: without petroleum ether washing

む6検体中，4検体は Dibromofluorescein のほかに Tetrabromofluorescein および Fluorescein およびそのナトリウム塩 (Yellow 201, Yellow 201) を同時に検出し，他の2検体は Tetrabromofluorescein を検出した。これらの Xanthene 色素は Fluorescein をブロム化して製するため，市販の Dibromofluorescein には，Fluorescein, Tetrabromofluorescein のほかに monobromo-, Tribromofluorescein などの副色素ならびに Dibromofluorescein の異性体が含まれ，これらが口紅中に混入される疑いがあった。そこで化粧品製造許可申請書 (大阪府薬務課) を調査したところ，さきの4件は Dibromofluorescein の副色素として含まれる Fluorescein, Tetrabromofluorescein であることがわかった。また，別の2件は Dibromofluorescein と登録されていたが Dibromofluorescein を含まず，登録されていない Fluorescein と Tetrabromofluorescein を検出した。市販の Dibromofluorescein には Fluorescein と Tetrabromofluorescein の等量混合物よりなる偽称品があり，その品質に問題がある。

つぎに，夾雑する附随色素が色素の確認を妨げる例として Brilliant Lake Red R (Red 219) がある。すなわち Fig. 5 に示すように氷酢酸から再結晶したカルシウム塩遊離の色酸 (3-hydroxy-4-phenylazo-2-naphthoic acid) は，波長 512 mμ (酸性エタノール溶液) に極大吸収を示すが，クロロホルム溶液では $\lambda_{\max}$ 510 mμ と 534 mμ の特異な二峰性の可視部吸収を示す。一方，市販 Red 219 は薄層クロマトグラフィ (メチルエチルケトン：ベンゼン：氷酢酸 = 25：90：2) により， R_f 0.53，可視部吸収 $\lambda_{\max}$ 493

Fig. 5. Absorption spectra of Brilliant Lake Red (1.7×10^{-5} M)

mμ の付随色素 (benzeneazo- β -naphthol) のほかに，熱クロロホルムに抽出される 3-hydroxy-4-phenylazo-2-naphthoic acid を確認した。口紅試料を Fig. 1 の系統的な色素の確認試験により行なうとき，Red 219 が有機溶媒ベンゼン，クロロホルム，トルエンに不溶であるにもかかわらず，3-hydroxy-4-phenylazo-2-naphthoic acid がトルエン抽出液から検出された。これは他の油溶性色素との分離確認を困難にする可能性があった。

総 括

- 口紅には Tetrabromofluorescein, Lake Red C, Permanent Orange, Brilliant Lake Red R, Lithol Rubin B 等が常用される。
- 油溶性色素とともに基剤としてワックス，パラフィンが抽出されるが，石油エーテルで脱脂を行なう

ことにより精製された。

3. 市販の Dibromofluorescein は顕著に附随色素を含み、口紅中に検出される例があった。

4. 市販の Brilliant Lake Red Rは附随色素を含み、系統的な口紅試験法による色素の確認を妨げる可能性があった。

2) 衛生試験法：衛生化学, 13, 92 (1967)

3) 厚生省令第30号“医薬品等に使用することができるタール色素を定める省令”(昭和41年8月31日)

4) 藤井清次, 神蔵美枝子: 食品衛生学雑誌, 4, 135 (1963)

文 献

1) 厚生省薬務局発第506号 (昭和35年11月5日)

昭和44, 45年度日本産あへんのモルヒネ含量について

持田研秀・金田吉男・野口 衛・中村恵三

Morphine Content of Japanese Opium Collected in 1969 and 1970

Kenshu MOCHIDA, Yoshio KANEDA, Mamoru NOGUCHI and Keizo NAKAMURA

Morphine content in Japanese opium harvested in 1969 and 1970 was determined.

Results were as follows:

1. More than 15 percent of morphine was contained in the most of the Japanese opium collected in Okayama.

2. The morphine content decreased with the successive lancements of the poppy capsules, and increased when the plants were screened with vinyl sheets, even in the presence of herbicide.

3. It was found that the morphine content in the first lancing was the highest.

(Received May 31, 1971)

あへん法32条により、昭和44, 45年度に収納された「あへん」99検体中のモルヒネ含量について報告する。

局方「アヘン末」定量法に従ってモルヒネの定量を行った。

実験結果および考察

実験材料および方法

和歌山県および岡山県のけし耕作者から収納されたあへん、および岡山県甲種研究栽培者が研究用に栽培したけしより得られたあへんを用い、第七改正日本薬

収納あへんのモルヒネ含量については Table 1, 2に示す。

岡山県産のあへんの大部分は、15%以上のモルヒネを含有している。

Table 1. Morphine content of Japanese opium

Crop season	Province	No. of sample	Average of morphine content (%)	Range of morphine content (%)
1969	Wakayama	24	13.27	8.54~16.23
	Okayama	15	12.39	9.97~16.36
	Okayama*	17	9.15	3.25~12.37
1970	Wakayama	19	13.95	10.19~16.66
	Okayama	15	15.08	10.80~20.51
	Okayama*	9	10.36	4.59~18.12

* samples collected only for study and experiments

Table 2. Classification of Japanese opium samples according to morphine percentage (Harvested in 1970)

Province	Morphine content and number of samples								Total
	10	11	12	13	14	15	16	17~%	
Wakayama	1	2	3	3	3	4	3	...	19
Okayama	1	2	1	2	1	2	2	4	15
Total	2	4	4	5	4	6	5	4	34

Table 3. Morphine content of Japanese opium from successive lancements (%) (Harvested in 1970)

Sample	lancements			Average
	1 st	2 nd	3 rd	
A	17.90%	10.21%	7.04%	11.72%
B	18.12	11.55	4.61	11.43
C	12.61	4.59	6.56	7.92

A : screened with vinyl sheet, no herbicide spray

B : screened with vinyl sheet, herbicide spray

C : pesticide spray

また、岡山県甲種研究栽培者の採取したあへんにつ

いて、切傷回数¹⁾とモルヒネ含量との関係を比較し、Table 3 に示す。

Table 3 に示したように、切傷回数の増加に伴いモルヒネ含量は減少し、殺虫剤使用の有無にかかわらず、ビニル日隠いをを用いた栽培品の含量は増加した。

Table 3 の結果は、一番切りあへんのみを収納した検体のモルヒネ含量が著しく多い²⁾という事実とよく一致する。

文 献

- 1) 川谷豊彦, 藤田早苗之助: 衛生試験, 76, 119 (1958)
- 2) 中川雄三, 伊阪博: 衛生試験, 82, 87 (1964)

伊豆におけるミシマサイコの栽培試験（第1報）

異なる温度条件のもとでの種子の発芽

宮崎 幸男・杉山 英彦

*Experimental Cultivation of Bupleurum falcatum L. at Izu. I**The Germination of the Seed under Different Temperature Conditions*

Yukio MIYAZAKI and Hidehiko SUGIYAMA

1) With the seeds collected in November, 1967, germination tests were conducted in the 3 places of different temperature conditions, in the hot-house of high temperature, vinylhouse slightly warmed, and that without heating, respectively.

2) The significant differences were not recognized among the 3 places concerning the total germination percentage. However, the germination tended not only to begin earlier, but also to be more regular with the rise of temperature.

(Received May 31, 1971)

ミシマサイコの乾燥した根すなわち生薬のサイコ（柴胡）は解熱，解毒，鎮痛，鎮静などの作用があり，古来重要な漢薬原料として広く用いられている。近年良質の国産品が不足し原料の多くを中国産にたよらね

ばならない状態にあり，栽培による増産が強く要望されているが，栽培に関する基礎的研究はまだきわめて少ない。一方ミシマサイコは当静岡県特産の薬用植物ともいふべきもので現在でも自生のほか若干の栽培も

ある。このような点から著者らは本植物の栽培研究の必要を感じ、とくに暖地栽培の立場から問題を取り上げることとし1967年より研究を始めた。まず種子の発芽について研究を開始したが、本報では1967～1968年に行なわれた表題の研究の結果を報告する。

実験 1

温度条件の異なる場所として温室と無加温ビニルハウスの2区のもとで発芽試験を行ない、発芽の比較を行なった。

材料 静岡県駿東郡小山町の川口清作氏の栽培は場で1967年11月7日に採取した種子をまず紙袋に入れ、さらに木箱に入れて密封することなく室内（無暖房）においたものを供試した。

温度条件 温室は年間を通じ 25～30° を目標に温度調節を行なっているが、実験期間中の平均温度は Fig. 1 にみられるように約 27～28° となっている。無加温ビニルハウスの温度は戸外の温度に伴ない時期的に変化することになるが、Fig. 1 にみられるように戸外の温度より大体 2～5° 高いとみてよい。

播種床 長さ、幅、深さそれぞれ 42, 31, 12 cm の木箱に焼いた川砂を八分目に入れたものを播種床とし、4 mm の深さに播種した。

播種粒数 1 箱当り 100 粒

反復数 3

播種年月日 1967年11月28日

発芽締切年月日 温室では1968年3月12日（播種後15週）、無加温ビニルハウスでは同年7月2日（播種後31週）。少なくとも発芽がみられなくなってから2週間後とした。

実験結果

温室および無加温ビニルハウスでの毎日調査した発芽を1週間ごとにまとめて累計発芽率として Fig. 1 に示した。

温室では播種後3週間のうちに発芽が始まり、第3～4週にかけて発芽が最も盛んである。その後は急激に低下し第5週あたりで大体終わる。その後もごく少数の発芽がみられるが第8～9週で完了するとみてよい。この場合総発芽率は48.0%で比較的低い。

無加温ビニルハウスでは第14週の3月上旬に発芽が始まっているが第16週の3月中旬までは発芽率はせいぜい1%にすぎない。実質的には第17週の3月下旬ころ発芽開始とみてよいが、このころのビニルハウス内の温度は12～13° 前後である。そしてその後約2週間すなわち3月下旬～4月上旬にかけて発芽が最も盛んであるが、このころのビニルハウス内の温度は15～20°

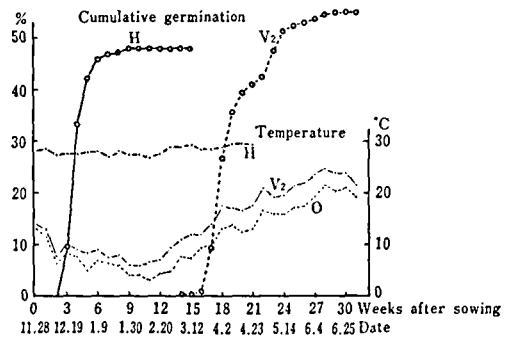


Fig. 1. Cumulative germination percentage of the seed of *Bupleurum falcatum* L. sown in November under different temperature conditions

H : Hot-house, V₂ : Vinyl-house without heating, O : Open air

前後である。その後もごく少数の発芽が続く第30週ころすなわち6月中旬ころ発芽が完了するとみてよい。この場合の総発芽率は55.0%で温室の場合よりわずかに高いが、両者間に有意差は認められない。なお供試種子の100粒重は温室区0.1318g、無加温ビニルハウス区0.1279gで両者間に有意差は認められなかった。

実験 2

温度条件として実験1における温室、無加温ビニルハウスのほかに両者の中間区としてわずかに加温したビニルハウスを加えた3区のもとで、かつ播種期を実験1の年内播種に対し翌年播種にかえて発芽試験を行ない、異なる温度条件のもとでの発芽の比較を行なっ

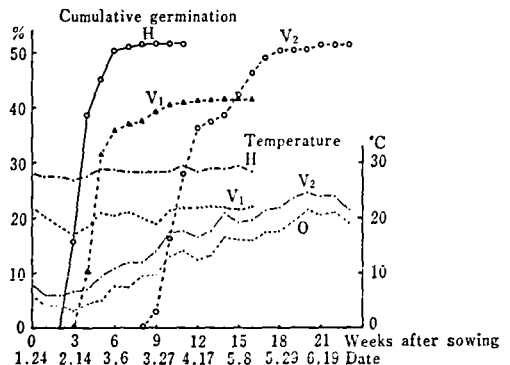


Fig. 2. Cumulative germination percentage of the seed of *Bupleurum falcatum* L. sown in January under different temperature conditions

H : Hot-house, V₁ : Vinyl-house slightly warmed, V₂ : Vinyl-house without heating, O : Open air

た。

材料 実験1の場合と同じ。

温度条件 温室、加温ビニルハウス、無加温ビニルハウスの平均温度とともに戸外の平均温度の変化をFig. 2に示した。温室内の温度は実験1の場合とほとんど同じで27~29°、加温ビニルハウスはかなり温度の変化があるが大体17~22°の範囲にあり、無加温ビニルハウスについては実験1の場合と大体同じことがいえるわけで戸外の温度に伴ない時期的に著しく変化する。

播種年月日 1968年1月24日

発芽締切年月日 温室では1968年4月10日（播種後11週）、加温ビニルハウスでは同年5月15日（播種後16週）、無加温ビニルハウスでは同年6月26日（播種後22週）。

その他すべて実験1に準じた。

実験結果

実験1の場合と同じく1週間単位にまとめた累計発芽率をFig. 2に示した。

温室では播種後第3週に発芽が始まり第3~4週にかけて発芽は最も盛んで、第8週には発芽は完了している。このような発芽の状態は実験1の場合とほとんど同様であり、総発芽率も51.7%で実験1の場合と大差ない。

加温ビニルハウスでは発芽は温室の場合よりも約1週間遅れ第3~4週にかけて始まり、第4~5週に最も盛んな発芽がみられる。そして第10週ころすなわち3月下旬~4月上旬ころ実質的に発芽が完了し、総発芽率41.7%がえられている。

無加温ビニルハウスでは第8~9週すなわち3月中~下旬に発芽が始まり、第10~12週すなわち4月上~

中旬にかけて発芽は最も盛んであるが、これらのころの温度は実験1の場合と大体同じくそれぞれ12~13°および15~20°前後である。そして第20週ころすなわち6月中~下旬ころ発芽が完了する。したがって発芽完了の時期は実験1の場合とほとんど同じとみてよい。この場合の総発芽率は51.3%である。

このように総発芽率においては高温の温室と低温の無加温ビニルハウスとの差がほとんどなく、中間の加温ビニルハウスではこれらに比べてやや低くなっているが、これら3区間に有意差は認められない。なお供試種子の100粒重は温室区0.1312g、加温ビニルハウス区0.1325g、無加温ビニルハウス区0.1342gで3区間に有意差はなかった。

以上の結果からミシマサイコの種子の発芽には最低約12~13°の温度が必要のようである。つぎに15~28°前後のかなり広い範囲の温度のもとで発芽の良好なことが認められたが、本実験でとられた温度の区別はきわめて大ざっぱなものであるので厳密な発芽適温を推定することは困難である。ただ本研究では27~28°前後のかなり高温のもとで発芽開始が最も早く、かつ最もそろった発芽がみられたことから、本植物は種子の発芽に関する限りかなり高温に適するように思われ、このことは暖地栽培の立場から注目される。

摘 要

1) 1967年11月採取の種子を供試し高温の温室、わずかに加温したビニルハウス、無加温ビニルハウスの3段階の温度条件の異なる場所で発芽試験を行なった。

2) 総発芽率に関しては3区間に有意差は認められなかったが、温度の高い場合ほど発芽開始が早く、かつ発芽のそろう傾向が認められた。

Rauwolfia 属植物とくにインドジャボク (*R. serpentina* BENTH.)
の種子の発芽に関する研究 (第 6 報)

インドジャボク種子の貯蔵と発芽との関係

宮崎幸男・五太子小太郎*・大野 清

*The Germination of the Seeds of Rauwolfias, especially
of R. serpentina* BENTH. VI

*Relation between the Storage and the Germination
of the Seeds of R. serpentina* BENTH.

Yukio MIYAZAKI, Kotarō GODAISHI and Kiyoshi ŌNO

The seeds of *Rauwolfia serpentina* BENTH. collected in 1962 were stored in the wooden box and the desicator, respectively, over 7 years, and the germination test was carried out in the greenhouse every year.

The germinating power decreased with the duration of storage, and the rate of decrease was found to be significantly affected by the method of storage. Most of seeds stored in the wooden box lost their viability after 3 years storage, though those stored in the desicator showed about 30% of germination seen at the fresh stage even after 7 years storage.

Therefore, the seeds of this plant should be stored under dry codition.

(Received May 31, 1971)

既報^{1,2)} のように外国より導入したインドジャボク種子は国内産の新しい種子に比べて発芽率が著しく劣る傾向がみられているが、これの原因としてまず種子の令の差が当然考えられる。ところで本植物種子の寿命ないし種子の新旧と発芽との関係については諸外国でもほとんど研究がなされていないようである。著者らはこれらの点を明らかにするために1962~1969年に若干の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

I. 材料

1962年11月伊豆および種子島の両試験場で採取した種子を供試した。これら種子の親植物はいずれももともとインドより導入した同一起源の種子より栽培を続けてきたものである。

II. 方法

1) 貯蔵方法 100粒ずつ紙袋に入れ1963年の第1回播種まではこれら供試種子を全部一般室内(冷, 暖房なし)で木箱に入れ密封することなく貯蔵したが, 第1回の播種後両試験場の種子とも上記の木箱とデンケーターとに分けて貯蔵し, 1964年からはこの両貯蔵

区の別に発芽試験を行なった。

2) 貯蔵期間 Table 2 に示したように採種した1962年11月より伊豆産種子は1969年2月末まで, 種子島産種子は同年5月末まで, とともに足掛け7年の貯蔵期間を設けた。

3) 播種 発芽試験は毎年1回ずつ行ない伊豆産種子は毎年3月1日, 種子島産種子は6月1日に播種した。

播種床は長さ, 幅, 深さ各 42, 30, 13 cm の木箱に焼いた川砂を入れ, 5 mm の深さに插いた。なお種子はつねに播種前リオゲン1000倍液で1時間の消毒を行なった。

播種粒数は1箱当り100粒, 反複数は3とした。

播種箱は 25~30° の温室内で常に一定の場所におき, 灌水その他の管理もつとめて同じくするようにした。

4) 発芽調査 子葉が完全に地上に出たときを発芽とみなし, 播種後毎日発芽調査を行ない, 発芽締切日は常に伊豆産種子は5月31日, 種子島産種子は8月31日とした。

5) 未発芽種子の調査 発芽締切後残りの未発芽種子をとり出し, 堅い種子は種皮を割って内容を肉眼で調べ, 内容が完全に腐敗しているものと外見上異常な

* 元職員

Table 1. Relationship between the storage and the germination of seeds of *Rauwolfia serpentina* BENTH.

Sources of seeds	Period of storage (years)	Containers of seeds	Weight of 100 grains (g)	Date of sowing	Cumulative germination percentage													Nongerminated seeds	
					Weeks after sowing													Apparently healthy (%)	Deteriorated (%)
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Izu	0.5	Wooden box	3.8505	March 1, 1963	0	0	0.6	3.0	8.3	20.0	23.3	25.3	25.7	26.3	26.7	26.7	27.0	69.3	4.7
	1.5	"	3.8937	March 1, 1964	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	44.7	55.3
	"	Desicator	3.9174	"	0	0	0	0	0	1.7	2.0	2.3	2.3	2.3	2.3	3.0	3.0	51.7	45.3
	2.5	Wooden box	3.9608	March 1, 1965	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	"	Desicator	3.9112	"	0	0	0	1.0	2.0	2.7	4.0	5.7	7.0	9.0	10.3	12.3	12.7	39.3	48.0
	3.5	Wooden box	3.9376	March 1, 1966	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	3.8804	"	0	0	0.3	1.0	1.7	4.7	5.3	6.3	6.3	7.7	7.7	7.7	7.7	43.3	49.0
	4.5	Wooden box	3.8873	March 1, 1967	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	3.9197	"	0	0	0	0.3	1.3	3.7	4.7	5.0	5.7	5.7	6.0	6.3	6.3	44.4	49.3
	5.5	Wooden box	3.9236	March 1, 1968	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	3.9046	"	0	0	0	0.3	0.7	0.7	1.7	3.0	3.3	4.7	5.0	5.0	5.3	40.0	54.7
	6.5	Wooden box	3.8929	March 1, 1969	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100
	"	Desicator	3.9201	"	0	0	0	0	0.3	0.3	0.7	2.3	2.7	4.3	4.3	4.3	4.3	39.0	56.7
	0.5	Wooden box	4.1998	June 1, 1963	0	0	26.0	59.0	77.0	83.7	88.0	89.3	90.0	90.7	90.7	90.7	90.7	7.3	2.0
	1.5	"	4.1998	June 1, 1964	0	0	0.7	4.3	15.0	29.3	40.3	44.3	45.7	47.0	47.3	47.7	48.3	17.7	34.0
Tanega- shima	"	Desicator	4.1792	"	0	0	0.3	10.7	34.7	51.7	59.7	63.7	66.0	66.7	67.0	67.0	67.0	18.7	14.3
	2.5	Wooden box	4.2057	June 1, 1965	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	99.7
	"	Desicator	4.2045	"	0	0	0	1.0	2.0	2.7	4.0	5.7	7.0	9.0	10.3	12.3	12.7	69.3	18.0
	3.5	Wooden box	4.2159	June 1, 1966	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.3	98.7
	"	Desicator	4.1969	"	0	1.3	5.7	11.0	23.7	36.7	40.3	44.0	46.0	47.0	48.0	48.0	48.0	30.0	20.0
	4.5	Wooden box	3.8873	June 1, 1967	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	3.9197	"	0	1.0	21.0	41.7	50.7	54.0	58.0	60.0	61.3	62.7	64.0	64.0	64.3	19.0	16.7
	5.5	Wooden box	4.2318	June 1, 1968	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	4.2014	"	0	1.0	6.3	12.3	20.0	29.7	34.7	37.0	38.0	38.3	39.0	39.7	40.0	40.3	19.7
	6.5	Wooden box	4.2342	June 1, 1969	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	"	Desicator	4.2262	"	0	0.7	1.0	2.7	4.0	8.7	11.3	15.7	20.7	23.7	25.3	27.3	27.7	37.7	34.7

く健全と思われるものとの 2 種に区別した。

実験結果および考察

毎日行なった発芽調査の結果を 1 週間ごとの累計発芽率としてまとめ、未発芽種子の調査結果とともに Table 1 に示した。

まず伊豆産種子と種子島産種子では毎年の発芽率にきわめて大きな差異のあることが注目される。伊豆産種子では最初の 0.5 年貯蔵において発芽率は 27.0% であるのに対し、種子島産種子では 90.7% で、前者では異常に低いのに対し後者では逆にとくに高い値がえられている。その後も伊豆産種子の発芽は著しく悪いのに対し、種子島産種子では全般的にきわめて高い発芽率が得られている。このような両試験場産種子の発芽率の差異の原因について考えてみるに、種子の性質としては両種子とも第 1 回の播種の直前に全供試種子の 100 粒重を測定したにすぎないが、Table 1 にみられるように伊豆産種子は種子島産種子に比べて 100 粒重がやや低い。しかしこの程度の種子重の差が上記のような発芽率の差異と直接関連があるとは考えられない。これはおそらく親植物の生育環境とくに結実期における気象条件による種子の成熟度の相違によるものではないかと想像される。

つぎに貯蔵方法の相違は貯蔵期間に伴う発芽率に著しい影響を及ぼすことが注目される。すなわち伊豆産種子、種子島産種子ともに木箱内貯蔵では貯蔵期間の経過とともに発芽は急激に低下し、2.5 年の貯蔵で発芽力はほとんど完全に失われている。これに対しデシケーター内貯蔵では貯蔵期間の経過とともに発芽力の低下は認められるがその速度は比較的緩く、またかなり長年月にわたって発芽力を保持することがわかった。すなわち伊豆産種子と種子島産種子では貯蔵期間による発芽率の変化の状態はかなり異なるが、いずれの種子でも本実験での最長貯蔵期間である 6.5 年において発芽力は依然保持されており、とくに種子島産種子では 27.7% と最初の発芽率の 3 割近い発芽力を保持し、さらに貯蔵 4.5 年では 64.3%、5.5 年で 40.0% と本植物種子としてはかなり高い発芽率を示していることは注目に値する。

なお本実験で得られた発芽率は貯蔵期間の経過と

ともに一方的に低下しているのではなく、貯蔵期間の短かい場合に長い場合よりも逆に発芽率の低い例がみられるが、これについては既報¹⁻³⁾のように本植物種子は発芽が不そろいで、かつ発芽に長期間を要するので、本実験での 91 日の調査期間内では発芽能力のある種子が全部発芽するに至っていないことによるものであらう。このことは貯蔵期間 2.5 年あるいは 3.5 年のように前～中期にかなり低い発芽率のえられた場合、未発芽種子中の外見上健全種子の割合が相対的に高くなっていることによって説明できる。なおこのような年度による発芽率の差異については、温室内の温度条件やかん水その他の管理も厳密には毎年同一とはいえないので、これらのことも若干原因になっていることが考えられる。しかし実質的には本植物種子の発芽能力は貯蔵期間の経過とともに低下し、かつその低下速度は密封しない木箱などに入れる一般貯蔵に比べ、デシケーターのような乾燥貯蔵でははるかにゆるやかであるとしてよい。従ってまた本植物種子の貯蔵は後者のような乾燥条件のもとで行なわれるべきことは当然である。

摘 要

1) 1962 年に採取したインドジャボクの種子を木箱およびデシケーターに 7 年間にわたり貯蔵し、毎年温室内で発芽試験を行なった。

2) 種子の発芽力は貯蔵期間の経過とともに低下するが、その低下率は貯蔵方法により著しく影響をうけることがわかった。木箱貯蔵では 3 年後には種子の寿命はほとんどなくなるが、デシケーター貯蔵では 7 年後でも初期の発芽率の約 30% の値がみられた。

3) 従って本植物の種子は乾燥条件のもとで貯蔵しなければならない。

文 献

- 1) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試験, 77, 527 (1959)
- 2) 宮崎幸男, 五太子小太郎: 衛生試験, 79, 267 (1961)
- 3) 川谷豊彦, 宮崎幸男: 熱帯農業, 3, 92 (1960)

業 務 報 告

Annual Reports of Departments

昭和 45 年度における当所の概況

所 長 川 城 巖

昭和45年度には国立衛生試験所の歴史をつづっていく上で、ゴシック体活字で書き入れなければならないような事象がいろいろと生じた。

まずこの年度には、組織の改正と2回の大幅人事異動があった。前々所長時代から当所の生物学系部門の強化が当所の使命を遂行するための現代の最重要要素であるとの見地から、その方向に施策の重点が指向されてきたことは衆知のとおりであるが、石館所長もこの思想を保持され、決定した45年予算をふまえて45年7月には調査管理部を廃して、新たに薬品病理部を設置し、その部長に小田嶋成和氏が就任、また調査管理部にあった動物管理室は毒性部に、調査室は附属図書館を近代化する目的をもって同館に移された。なお調査管理部長は部制廃止とともに附属図書館長専任となった。また大阪支所については、細菌薬理部を薬理微生物部と改称した。

ところが45年11月に至り、日薬会長逝去による後任問題が当所にも波及し、ついに石館所長は関係面の衆望もだし難く、同会会長就任のため当所を去られるという事態が発生した。このことは当所各局面に種々の変動をもたらしたことは当然であって、人事的には当時の副所長が所長を継ぎ、薬務局参事官が副所長、大阪支所長が薬務局参事官、附属図書館長が大阪支所長、医化学部長が上記館長、医化学部第一室長が同部長にとそれぞれ異動が発令された。

このような情況の下にありながらも、所の業務面は各方面について発展し、まず動物庁舎運営に不可欠な動物焼却炉（予算約800万円）が年度末に完成し、動物関係施設としては一応整備が終了した。

また、試験検査および研究面についての45年度実績は後掲各部長による業務報告によってその概要を知る

ことができるが、概括すれば試験検査業務においては、前年度で国家検定品目の一部指定削除、かぜ薬特別客査試験の地方移譲および製品検査品目の大幅地方移譲があったため、その影響で扱件数は前年度に比し多少減少の傾向を示したとみられる。しかし、一方とくに薬品部門各部は相協力して第8改正日本薬局方編算の難事業を完成した。また特別行政試験は逆に増加の傾向にあったといえる。この種の試験は多分に研究的要素を含んだものであるだけに、単年度で解答できるものはむしろ少ない。たとえば残留農薬問題は行政上の重要課題として取り上げられてすでに7～8年を経過しているが、なおますますその根深さを露呈してきている。45年度には新しい問題点として母乳および産婦血液中の残留農薬が問題となり、これは前年度来継続の牛乳中のBHC（とくに β -BHC）調査とその慢性毒性についての試験研究にさらに問題を累積した格好となった。またわが国は水銀による環境汚染のなほだしい点では世界の1～2位を占めるものであることが暴露して以来、海水魚類中の水銀量およびメチル水銀量の調査が要請され、WHOよりの委託研究補助費も提供されて、国内他機関の協力のもとに、日本人の頭髮および日常摂取食品中の水銀量の実態調査とメチル水銀の慢性毒性試験とを関係各部で行うことになった。なおカドミウムについても類似の問題があり、カドミウム汚染米に端を発したこの重金属についての毒性研究も当所が担当するに至った。また別にスモンにおけるキノホルム病因説を判定するためのキノホルム毒性研究も当所の重要な課題となった。

次に、45年度で初めて認められた3年計画の特別研究課題「食品に関係ある諸物質の安全性に関する研究」については、初年度において化学を主とする関係

部がこれを分担し相当の成果を収め、この研究をさらに持続するための予算要求の有力な基盤を作った。

さて定員削減については、前年度に引き続き同率を実施せざるをえなかった。しかしながら、一方においては46年1月18日行政管理庁から農業の危害防止についての勧告が厚生、農林両省に発せられ、厚生省に対しては残留分析、毒性などの研究面が著しく弱体であることを強く指摘された。このことは単に農業の問題に限らず、最近の科学技術行政が人間の福祉増進に指向されている現況からしても、まさにこの分野に技術的的使命と責任を持つ所としては、きわめて切迫した事実であって、定員削減と全く別個の観点から必要な定員増などの要求は強く行なうべきであると確信する。

さて、検定検査業務の整理については、厚生省内局側も当所の意向をよく理解し、きわめて協力的態度で促進に努力してくれている。しかし品目削除ならばとにかくとして、地方移譲となると受入れ側に対するいろいろな細い措置配慮も必要であるし、またその能力設備の程度も吟味しなければならないので、一朝一夕には行かないものがあるが、漸進的に推し進める意味で、道府県中可能ところから逐次移譲措置を取ることとも考慮中である。終わりに、官房政策会議の中の一つの議題として取り上げられた「試験研究体制の将来構想」に取り組むプロジェクトチームの作業は、省内人事異動やその他の理由で、45年度中には述べる程の進展がなかった。

合成化学研究部

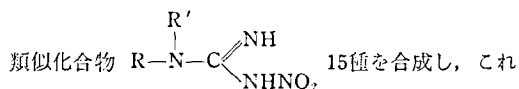
部長 鈴木 郁 生

研究業績

1) 発がん化学構造に関する研究

i) アルキルニトロソグアニジン類の突然変異誘発作用およびプロフェージ誘発作用についての研究

前年に引き続きマウスに特異的に腺がんを作る 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG) に関連する発がん化学構造に関する研究を続けているが、たとえば Mitomycin C のような化合物はバクテリアに対し突然変異誘発作用あるいはプロフェージ誘発作用をもつと同時に、動物に対し発がん作用あるいは制がん作用をもつことが知られている。化学構造とこれらの作用との関連性を知る目的で、前記 MNNG



についてその作用を検討した(衛生微生物部と共同研究)。その結果として R' にニトロソ基のない化合物は突然変異誘発作用およびプロフェージ誘発作用ともないこと。R' が β -クロロエチル基の場合が最もその作用が強く、MNNG がこれに次ぐ。プロフェージ誘発作用はアルキル基中、*n*-プロピルおよび *n*-ブチル基が最強で、標準とした MNNG より強い。またアルキル基は C₉ の長さより効果は低下する。

さらにブチル基では、直鎖のものが、枝分れしたアルキル基より作用が強いことがわかった。一方動物による制がん作用は、MNNG より β -クロロエチル体のほうが強いことが知られているので、制がん作用と突然変異誘発作用またはプロフェージ誘発作用と何らかの関係が存在することが想像される。

ii) シンノリンおよびピリダジンのニトロ化合物の突然変異誘発作用についての研究

数種のシンノリンニトロ化合物およびピリダジン化合物を合成し、発がん性物質である 4-ニトロキノリン 1-オキシド (4NQO) を対照とし、突然変異誘発作用を検討した。その結果 4-nitrocinnoline 1-oxide では 4NQO に比し変異菌出現頻度が 1/2~1/5 の値を示した。また、4-nitropyridazine 1-oxide, 3-nitrocinnoline 1-oxide, 3-nitrocinnoline でも弱い突然変異誘発作用を示し、一方 5-nitrocinnoline 2-oxide, 8-nitrocinnoline 2-oxide などの 2-オキシド類ではその作用を示さないことがわかった。

iii) MNNG 誘導体のポーラログラフ的挙動を検討し、これら化合物の物理化学的性質と生理活性との関係を追求する目的で研究を行なった。その結果、1-*n*-butyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (BNNG) が広い pH の範囲で MNNG より安定な性質を有することが判明した。この事実は *in vivo* における BNNG の生理活性と何らかの関係が予想されるので、BNNG について目下研究を進行中である。

以上の研究の費用の一部は厚生科学研究費、文部省科学研究費によった。

2) 降圧作用物質に関する研究

窒素複素環化合物の合成化学的研究において作られた数種の化合物についてその生理活性を検討したが、ある種のものに血圧降下作用が認められたので、引き続き研究中である(生物化学部と共同研究)。

3) 合成化学的研究

i) 窒素複素環化合物の ring-chain tautomerism の研究は、かなりの成果をあげてまとめることができたが、なお展開しつつある。またこの研究中で合成された特異な構造をもつ化合物については、前述のよう

にその生理活性について検討中である。

ii) ピリダジンまたはシンノリンのように窒素原子が隣り合って並んだ化合物の N-オキシドに関する研究はあまり例をみない。ピリダジン誘導体の 1,2-dioxide を合成し、この化合物の化学的性質について広く研究中であり、いくつかの成果を得た。

iii) シンノリン N-オキシドに関する研究は、他の分野の研究に比してきわめて不満足な状況にある。これはシンノリン 1-オキシドと、シンノリン 2-オキシドの分離に問題があるので、両者を分離、単離する経路を避け、直接的にシンノリン 1-オキシドあるいはシンノリン 2-オキシドを合成する方法を考案し、ほぼその目的を達したが、さらに収率の増加等を検討中である。

iv) 前述のようにシンノリン 1-オキシドは合成的に得られ難い化合物であり、これから誘導される 4-nitrocinnoline 1-oxide (4 NCO) はある種の生理活性をもつ(前述)にもかかわらず、化学的性質については検討されていないので、iii) の研究と合わせ、4 NCO の化学的研究を行なっている。

薬 品 部

部 長 井 上 哲 男

概 要 近年、検定検査業務が多少減少の傾向にあるが、これは国家検定品目の一部指定削除、かぜ薬の特別審査試験の地方移譲などによるものと思される。

本年度の当部の主力は、第 8 改正日本薬局方の各条および一般試験法の原案作成作業に向けられ、当部の職員の約半数がこれに対し精力的に取り組んだことは特記すべきことである。

業務成績

業務の内容は、国家検定、国家検査、特行試験、一斉取締試験および特別審査試験などであり、その成績はつぎに示すとおりである。

国家検定については、ブドウ糖注射液が前年に引続いて最も多い件数を示し、全体の約 40% を占め、ついでエタンプトール錠、エタンプトール、避妊薬、リンゲル液の順となっている。

総件数については、昨年度に比し約 10% の減少となっている。

特別審査試験は、昭和 45 年 11 月 1 日から、かぜ薬の承認事務が都道府県知事に委任されることになったため(昭和 45 年 10 月 24 日薬発第 953 号、各都道府県知事あて厚生省業務局長通知「薬事法施行令の一部改正等

について」)、鎮痛解熱剤に関係する件数は約 40% 程度減少しており、新医薬品に関係する件数は横這い状態である。

特行試験については、時代の要請もあって漸増の傾向にあり、昨年度に比し約 20% の件数増が認められている。このうち特記すべきものは加鉛ガソリン中のアルキル鉛の定量法に関するものであろう。

一斉取締試験で取り上げた品目は、日局生理食塩液および日局塩化カルシウム注射液である。

その他臨床診断用医薬品基準および殺虫剤基準に関する基礎データの作成のための作業も行なっている。

研究業績

業務の内容は、医薬品規格および試験法作成に関する研究、分析法に関する研究、医薬品混合製剤の安定性に関する研究、麻薬の試験法に関する研究、麻薬および習慣性薬品の鑑定に関する研究などであるが、本年度は第 8 改正日本薬局方の原案作成のための試験研究がその主軸となっている。

本年度行なった研究の主なものは、下記のとおりである。

1) 規格および試験法作成に関する研究

- i) 医薬品中のフッ素の定性反応に関する研究
- ii) 日局第 2 部製剤の試験法に関する研究
- iii) 非水滴定法によるスルフィソキサゾールの定量
- iv) 日局収載バルビツール酸類の確認試験
- v) 日局収載プリン類の確認試験
- vi) 総合感冒剤の定量

[メチレンジサリチル酸プロメタジンおよびカフェインの定量法ならびにアセチルサリチル酸アルミニウムの定量(改定)]

- vii) α -クロルアセトフェノンの純度試験
- viii) ガソリン中の鉛の定量

2) 分析法に関する研究

- i) 比色法による dl-塩酸メチルエフェドリンの定量
- ii) けい光法によるサリチル酸類の定量法
- iii) エトキシベンズアミドの定量法
- iv) ホウ酸錯塩のけい光に関する研究
- v) 1-ヒドロキシアントラキノン類の定量
- vi) ガスクロマトグラフィーによるアセチルサリチル酸配合剤の定量法
- vii) ガスクロマトグラフィーによるアセチルサリチル酸アルミニウム配合剤の定量法
- viii) 電量滴定法による医薬品の分析(第 3 報)(スルファフェナゾール、スルファメチルチアゾールおよびスルファメトキシピリダジンの電量滴定)

- ix) 液体クロマトグラフィーによる解熱鎮痛剤の分離分析
- x) 混合製剤の分析に関する研究 (第19報) (比色法による *dl*-塩酸メチルエフェドリンの定量)
- xi) 混合製剤の分析に関する研究 (第20報) (薄層クロマトグラフィーによる感冒剤中の解熱鎮痛剤、鎮咳剤、祛痰剤および抗ヒスタミン剤の確認)
- xii) 混合製剤の分析に関する研究 (第21報) (*p*-ジエチルアミノエチル-2-ナフチルアミンシュウ酸塩によるエトキシベンズアミドの定量)
- xiii) 混合製剤の分析に関する研究 (第22報) (*p*-ジメチルアミノシンナムアルデヒドによる総合感冒剤中のエトキシベンズアミドの比色定量)
- xiv) 混合製剤の分析に関する研究 (第23報) (混合製剤中のグアヤコールスルホン酸カリウムの比色定量)
- 3) 医薬品の安定性に関する研究
 - i) 複方ヨードグリセリンの安定性に関する研究 (複方ヨード・グリセリン中の遊離ヨウ素の安定性と、グリセリン、フェノールまたはメントールとの相互関係の解明) (本研究は厚生科学研究による)
- 4) 麻薬に関する研究
 - i) 非麻薬あへんアルカロイド中に混在するモルヒネの確認試験に関する研究
 - ii) あへん散、ドーフル散の定量法に関する研究
 - iii) あへん中のコデイン、テバインの定量法に関する研究
 - iv) 合成麻薬に関する研究 (フェンタニルの鑑定法)

生物化学部

部長 下村 孟

概 要 昭和45年度国家検定件数を44年度のそれと比較するとき、脳下垂体後葉製剤関係ではほとんど変わらないが、インシュリン製剤関係では約 23% の減少をみた。インシュリン製剤の場合、年度ごとの件数は統計的に約 3 ~ 4 年の波動周期を示すため、45年度の減少が将来に向っての漸減の傾向を示すものとは断じがたい。45年度においては、全製剤を通じて不合格件数は皆無であった。

別に、昭和45年度医薬品等一斉取締試験の対象品目

として、消炎酵素製剤中のキモトリプシン、トリプシンの定量を施行した。市販酵素製剤の開発が進展するに伴い、酵素分類別による表示単位の統一と、力価検定規格の確立とをねらいとする一端を反映したものでいえる。

なお、標準品についてはアスコルビン酸ほか15品目を製造した。45年度も医薬品用標準品の全売払個数に対して、ビタミン類標準品のそれは依然として約70%の多きを占めている。

研究業績については便宜上6項目に分類してまとめた。これらのうちのあるものは本文ならびに誌上発表、学会発表の項に掲載してある。

業務成績

- 1 国家検定業務：インシュリン製剤 (8品目約 100件)、脳下垂体後葉製剤 (7品目 60件) についての国家検定を行なった。それらの品目名、件数等は巻末の国家検定実績表を参照されたい。
- 2 特別審査試験：ホルモン関係 15件、酵素関係 17件
- 3 一般依頼試験：ホルモン関係 2件
- 4 特別行政試験：製剤中のレンチンの定量 1件
- 5 一斉取締試験：昭和45年度に実施した消炎酵素製剤中のキモトリプシン、トリプシンの定量成績は昭和46年2月3日付をもって厚生省薬務局長宛に報告した。
- 6 第8改正日本薬局方のホルモン部会関係品目の追試、検討：インシュリン注射液の亜鉛定量法など、従来の試験法の一部を改正した。
- 7 第8改正日本薬局方に新たに収載された標準品のための準備、検討：これに該当する葉酸ほか8品目の標準品を新規に製造するため、その規格作成および原料の吟味を行なった。葉酸、酢酸プレドニゾロン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸レチノール、パルミチン酸レチノールについては原料の選定を終わったが、プレドニゾロンおよび強心配糖体については国際標準品と比較検討中である。

標準品の製造品目および製造数量などについては、巻末の出納状況表を参照されたい。

研究業績

- 1 スteroid系ホルモンに関する研究
- 1・1 副腎皮質ホルモンの新定量試薬の開発のため、一連のテトラゾリウム塩新化合物6種を選び、従来米局に用いられているブルーテトラゾリウム試薬と比較検討した結果、2,3-diphenyl-5-(*p*-diphenyl)-tetrazolium chloride (DDT) 1種のみに実用化し得る可能性が期待された。

1・2 種々の副腎皮質ホルモン製剤のうち、ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾンを成分とする場合は水溶性のヒドラゾンを形成させて分離定量する方法を見出したが、典型的に化学構造を異にする、たとえばプレドニゾン、デキサメサゾンなどについては満足すべき結果が得られなかった。

1・3 南米産の植物中に含まれる stevioside は、甘味剤であると同時に現地では経口避妊薬として使用されている。したがって、その女性ホルモン作用を探索したが明らかな証査を得るに至らなかった。

2 ペプチド系ホルモンに関する研究

2・1 下垂体後葉ホルモンの存在様式を解明するため、セファデックスで分離精製したホルモン・たん白質複合体に対して、さらにアセトン分画、食塩濃度分画を行なった。分別された4～5分画についてセパラックス電気泳動を試み、各分画に含まれる Neurophysin I, II の量とオキシトシン、バソプレシンの量との相関的な量比関係を検べた結果、それらの結合様式は初めに予期したよりもはるかに複雑な結合形式で存在するものと推定された。

2・2 インシュリンの放射免疫化学的定量法に関する研究では、 ^{125}I 標識ブタ・インシュリンの精製法を検討し、これを用いてインシュリン抗体の抗体価を測定するとともに、放射活性測定の見易化を図りつつある。

2・3 イワシクジラ・インシュリンをA、B両鎖に分離し、各鎖についてアミノ酸分析を行なった結果、両鎖は対照としたマッコウクジラ・インシュリンのそれとよく一致した。ついでA鎖に直接的にEdman分解法を逐次適用したが、目的とするN-末端から8, 9, 10位のアミノ酸決定にまで到達しなかった。

3 酵素に関する研究

3・1 キモトリプシンおよびトリプシンについて、合成基質を用いるNF XIIIに準じて暫定的規格試験法を作成した。剤型あるいは混合酵素成分に応じて、抽出法、分離法、失活剤などを工夫しながら試料液を調製し、これらの試験法の適用範囲の拡張を検討しつつある。

3・2 わが国での市販ブロメライン製剤には、ハワイ産、台湾産の2系統の原末が用いられている。両者の灰化物の重金属成分を比較分析した結果、前者にマンガン含有量が有意に高いことを認めた。

4 多糖類に関する研究

4・1 生物種または器官などを異にするヘパリンの種特異性を明らかにするため、数種のヘパリン標品を選び、アセチル基含量およびセファデックスイオン交換体による物理化学的挙動を比較した。さらに、ヘパリ

ンおよび類縁ムコ多糖体の分析への自動液体クロマトグラフの応用と、セルロースアセテート膜を用いる電気泳動法を検討した。

5 標準品製造に関する研究

5・1 ビタミン類、コルチコイド、強心配糖体について、薄層クロマトグラフ法、けい光光度法による微量分析法の研究を行なった。

5・2 安定性に関して問題のあったビタミンA油標準品の経時変化について検討した。

5・3 前立腺重量増加法による胎盤性性腺刺激ホルモン標準品の力価検定法を、使用ラットの系統別による比較を行ない、その生物学的検定法の種々の要素を検討している。

5・4 標準品の純度試験に対する物理学的手段として phase solubility analysis を導入し、ステロイドおよび配糖体標準品について従来の化学的定量値と比較したところ、よく一致することを確認した。

6 生体微量成分の分析法に関する研究

6・1 Voges-Proskauer 反応の呈色機構と、それを応用した二、三のグアニジノ化合物の定量法に関して若干の知見を得た。

前生物化学部長長沢佳熊博士は本年4月15日付をもって退官された。同氏は在職中に薬局方、標準品、生物学的検定法、放射能分析等に精力的な活動を続けられた。同氏の偉業を讃えるとともに、今後の御健闘を祈って止まない。

放射線化学部

部長 浦久保 五郎

業務成績

1. 放射性医薬品の特別審査試験

1-マーキュリー 2-ハイドロキシプロパン (^{203}Hg) 注射液、セレンメチオニン (^{75}Se) 注射液、テトラヨードサイロニン (^{125}I) キット、チロキシン (^{125}I) 液、テクネチウム ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) ジェネレーター、ヨウ化インシュリン (^{131}I) 液などについて必要な化学試験と書類上の審査を行なった。

2. 依頼試験

天然放射性核種を含む“精製ラドン水”と称する2品目の蒸発残渣および水可溶の放射性物質の量を測定した。

研究業績

1. 放射性医薬品の品質基準に関する研究

a) ^{203}Hg 含有医薬品の比放射能測定

クロロメロドリン, MHP など水銀含有医薬品の比放射能を比色分析と放射能測定により計算する方法を確立した。

b) クロム酸ナトリウム (^{51}Cr) 注射液の比放射能

370 $\text{m}\mu$ における定量法は感度が低い。改良法に、ジフェニルカルバジット試薬で発色させ、550 $\text{m}\mu$ の吸光度による定量条件を設定した。従来よりも 5 倍感度が上がり、再現性についても満足な結果を得た。

2. 放射性医薬品の開発に関する研究

a) 前立腺シンチグラムの基礎研究

放射性医薬品の開発研究の一つとして、前立腺のシンチグラムを得る目的で、 ^{65}Zn の生体内分布について研究を行なった。 ^{65}Zn の前立腺沈着の割合は、他の臓器に比較してかなり大きく、シンチグラムを得るためにむしろ低エネルギーの γ 線を放出する ^{69}mZn を使用すれば、前立腺のシンチグラムを得ることができると予想された。

b) N-(4-iodophenyl)-N'-(3-chloromercuri-2-methoxypropyl)-urea

腎親和性の診断薬として ^{125}I , ^{131}I , ^{203}Hg でそれぞれ標識した本化合物を合成し、代謝、排泄、シンチカメラ像などを白ねずみや家兎を用いて検討した結果、有望と思われる成績をえたので、さらに本化合物の異性体についても動物実験を継続中である。

c) アントラニル酸誘導体

利尿剤である Furosemide の誘導体を ^{131}I で標識し、レノグラムの作成や糸球体ろ過速度を測定して、新しい腎診断薬としての可否を調べている。

以上の研究の目的は患者の被ばく線量軽減のため、現在使用中の腎診断薬に代わりうる新薬を製造することにある。

3. ベンジルアルコールの放射線分解

前報に継続して、ベンジルアルコールの放射線分解について検討した。窒素飽和水溶液の照射からは Bi-benzyl, Benzylphenylcarbinol, Hydroxy benzoin および m/e 180 に親ピークを持つ物質を、酸素飽和水溶液の照射からはベンズアルデヒドが主生成物で、他に o,p -Hydroxy benzylalcohol を微量得た。水溶液中に酸素が溶存しているか否かによってベンジルアルコールの放射線分解過程に差違を見出した。一方、ベンジルアルコールの保存効果を未照射、照射した水溶液について検討を行なったが、抗菌性には全く変化が認められなかった。

4. 有害金属に関する研究

a) 点眼薬中に含まれるチメロサールの動物体内吸

収分布について

点眼薬に防腐剤として配合されているチメロサールの体内吸収分布を知るために、 ^{203}Hg で標識したチメロサールを合成し、ホウ酸塩緩衝液に溶かした液をウサギおよびラットに点眼および結膜下注射により投与して吸収分布を調べた。

結果として臓器内分布はウサギに対する結膜下投与および点眼、ラットに対する点眼もほぼ同様の様相を示し、腎臓と肝臓に多く取り込まれ、4 日間連続投与の糞、尿の結果から、吸収されたチメロサールの代謝、排泄はかなりおそいことを知った。

b) 粉乳中に混入したヒ素のラット脳内への取り込みについて

$^{74}\text{As}-\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ をリン酸ナトリウムと共に粉乳に混入し、ラットに経口投与した。投与は 1 回および 11 日間連続投与を行ない、投与 24 時間後に解剖して、放射能測定により脳内への取り込みを調べた。その結果、血中濃度は非常に高いが脳内への取り込みは少ないことがわかった。

c) カドミウムの生体内運命に関する研究

薬理部と協力して研究を行なった。

d) セレン化合物の生体内残留、排泄

^{75}Se で標識した亜セレン酸ナトリウム、L-セレノシスチンの生理食塩溶液をラットに、経口、皮下、静脈投与し、連日 whole body および糞尿の放射能を測定し、セレンの体内残留率および排泄率を長期間にわたり観察した。

その結果、各化合物の各投与方法共に指数函数的に減少していることが見られ、それぞれの生物学的半減期を求めた。

5. ジブチルニトロソアミンの代謝

ジブチルニトロソアミンは特異的にぼう腫がんを発生させることが知られているので、ブチル基の α -位に ^{14}C -標識した表記の化合物を新しく合成し、白ねずみによる代謝を検討した。尿中排泄物質としては原物質が完全に代謝されて消失し、グルクロン酸抱合体と考えられる代謝物が認められ、 α -位の炭素も炭酸ガスにまで酸化され呼吸中に出現することがわかった。

6. 化学分析による ^{59}Fe 分析法の確立に関する研究

原子力施設に由来する海産食品の放射能汚染モニタリング方法の研究の一環として、海産食品中の ^{59}Fe 分析法を検討した。

試料溶液をイオン交換または MIBK による溶媒抽出で分離したのち $\text{Fe}-\text{BPA}$ キレート、ついで水酸化物として Fe を分離し、最終的に Cu 板に電着させて放射能測定と Fe^{3+} 担体の重量法による回収率測定を

『同時に行なう方法を確立した。また魚、貝に ^{59}Fe を取り込ませた試料についてこの方法を応用し、これら生物中の ^{59}Fe による汚染の状態を観察した。

以上の結果、本法は全操作を通じて Fe^{3+} 担体の回収率は約85%で、汚染分析法として用いられ得る方法といえる。魚は内臓、肝、ヒレ、エラに、貝は中腸腺、エラに ^{59}Fe が濃縮されており、汚染のメルクマルとしてはこれらの臓器を分析することが適当と考える。

7. 環境における放射性物質の動態と公衆衛生学的対応に関する研究(厚生科学研究)

分担研究者として表題の研究に参加し、文献調査を行なった。その結果、現状分析、過去の歴史および厚生省当局に対する勧告を含めた報告書を作成した。

生 薬 部

部 長 名 取 信 策

概 要 生薬の規格試験法はその特殊性から多くの問題があるが、その基礎となる局方については8局の原案作成の作業を本年度中に完了した。引き続きこの問題については、研究継続中である。

コロポ計画によるタイ国薬用植物資源の開発援助については、専門家の派遣、器材供与、研修生の受け入れが引き続いて行なわれ、Department of Medical Science, Bangkok の本研究部門の充実に協力してきた。

医薬的利用を目標とした植物成分の研究については、トリテルペンの反応の研究を一応終了し、カキ属植物のナフトキノン系化合物の研究が発展して終了に近付いたが、生物活性については見るべきものはないようである。茯苓その他担子菌類のステロイド・トリテルペンの研究は継続中である。

植物成分中の有害物質、とくに発がん性物質の研究は今後の重要課題の一つと考えられるので、当部の一中心課題として重点を置くこととし、共同研究として従来から行なってきたマイコトキシンの研究のほか、ワラビの発がん性物質の化学的検索を開始した。

薬用植物栽培試験場の研究への協力、その将来計画についても努力した。

業務成績

1) 第8改正日本薬局方医薬品各条(第1部・第2部)中、生薬関係品目の原案作成・追試・整理その他最終年度として、多くの修正・整理を行なった。

2) 特行試験、特別審査、試験法依頼等

研究業績

1) 生薬および生薬製剤の規格試験法の研究

上記1)と関連し、ベルベリンの定量法(アセトンベルベリン法と分光光度法の比較その他)などの化学的方法と形態学的方法による研究を併せて行なった。

2) 東洋薬物の基原・形態に関する研究

東洋薬物、とくに上記のタイ薬用植物の研究の技術協力と関連して、タイ薬の基原形態について研究した。

3) 資源植物調査

本邦各地(和歌山県古座、北海道名寄、その他)の資源植物調査、標本作成、保存、薬用植物情報の発行等

4) 医薬的利用を目標とした植物成分の化学的研究

i) 担子菌サルノコシカケ類の4環性トリテルペンの研究

漢薬茯苓の成分研究の発展としてサルノコシカケ類の4環性トリテルペン・ステロイドの分布を検索し、リグリン溶解菌とセルローズ溶解菌に明確な差があること、マンネンハリタケの新化合物の構造などを明らかにした。

ii) $47,9(11)$ -トリテルペンの芳香化反応

lanostane, tirucallane, fernane, arborane, bauerane 系トリテルペンの7,9(11)-dieneのB環の芳香環形成反応を明らかにした。

iii) カキ科植物のナフトキノン類

天然キノン類の化学的生化学的研究の一環として、カキ属植物6種よりえられたナフトキノン誘導体約20種のうち、構造未知の新化合物についてさらに研究し、6化合物の構造を明らかにした。

5) 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの化学的研究

Chaetomium globosum の多核分裂促進物質について研究を継続したほか、*Penicillium* 属、*Phoma* 属等約10種の毒性を示した菌類の代謝物の検索を行なった(真菌室・食品部・東大医科研と共同研究)。

ii) 発がん性物質の検索を目標としたワラビの成分研究

すでに発がん性が明らかにされているワラビの抽出、分離によってえられた各種のフラクションについて、培養細胞・動物に対する毒性試験を行ない、また純粋な物質としてえられたものについては構造を検討して、6種の新1-indanone誘導体の構造を明らかにした(東大医科研と共同研究)。

6) 栽培薬用植物の成分分析

栽培試験場の研究に協力した。

療 品 部

部 長 大 場 琢 磨

概 要 当部が主となって基準作成の検討を行ってきた「人工血管」,「医療用接着剤」,「コンタクトレンズ」,「ディスポーザブル採血用器具」,「ディスポーザブル輸血セットおよび輸液セット」,「視力補正用コンタクトレンズ」,「月経処理用タンポン」の 6 品目の基準が昭和45年10月10日付官報に, また同12月28日付官報にも「ディスポーザブル注射筒」,「ディスポーザブル注射針」,「プラスチック製縫合糸」の 3 品目の基準が告示された。

このうちディスポーザブル注射筒ならびに同注射針の基準にはコバルト60より放射されるガンマ線による滅菌, いわゆる放射線滅菌による製造が認められたことは特筆すべきことで, 今後これによるディスポーザブル医療用具の発展が予想されるので, それに対する研究が重要課題となった。

業務成績

1) 基準作成

44年度より検討を行っていたディスポーザブル人工心肺セットの基準は, その細部についての仕上げが完了し, 46年 4 月に医療用具特別部会で審議され, 5 月の常任部会を経て近く告示されることになった。

45年度のテーマ人工心臓弁に関しては, 化学的溶出物およびその生物学的検討のほか, 特殊な試験機を用いて10倍の速度で市販品 5 種の開閉運動を行ない, その後の消耗度を測定している。問題点はその間の機械的な破損とプラスチックによる血液の凝固作用, すなわち凝固した血液が弁に付着し, 弁に間隙が生ずることである。

なお46年度は心臓のペースメーカーについて行なう。

2) 一斉取締試験

昭和45年度には国内向け腸線縫合糸について行なった結果, 国内メーカー 6 社, 33検体のうち不適となったものは 1 社の 2 品目であった。

3) 輸出検査

腸線縫合糸38件のうち不適は 2 件であった。抜取り方法の改正は進行していない。

4) 国家検査 なし

5) 依頼試験 医療用の器具器械16件, 歯科材料 2 件, 衛生用品 6 件である。

6) 特行試験

輸液用プラスチック容器 (特審) 2 件

トイレット用洗滌剤のプラスチック容器21件。

7) 理化学試験室の業務

核磁気共鳴スペクトル (NMR) および赤外吸収スペクトル (IR) の所内外の依頼測定を行ない, IR の所外の依頼は17件であった。

共通機器として昭和45年度に購入され管理することになったものはプロトンのスピンドカップリング装置, 炭素13核磁気共鳴装置 (日本電子製), 原子吸光分析装置 (日立パーキンエルマー403形), 自記分光光度計 (島津ダブル40R形) の 3 種である。

46年度には自記旋光分散計, 二波長分光光度計および低温灰化装置が予定されている。

研究業績

1) 療品室

i) 塩化ビニル樹脂より溶出される重金属のポーログラフおよびジチゾン法による定量分析的研究

ii) 腸線縫合糸およびその保存液中の水銀の定性定量分析

腸線縫合糸およびその保存液中には殺菌のために有機水銀化合物が加えられていたが一昨年より禁止されたので, 現在の製品中の水銀の検出, 定量法をジチゾン法および原子吸光分析法により検討する。

iii) 腸線縫合糸の放射線滅菌に関する研究

原子力予算によるこの研究は昨年度に引続いて行なわれ, 照射前後の検体を用い, 体液による吸収速度を *in vitro* に観察する方法として, 人工胃液, 人工唾液に浸漬したときの強度変化を研究している。

iv) 埋没材の示差熱分析 (歯科材料)

v) 無水けい酸の IR による分析 (同上)

vi) 医用電気機器調査会が昭和45年12月 1 日より中央薬事審議会に設置され, 13委員の中に療品部長が参加することになった。さし当り ME 学会より出された「医用電気機器暫定安全基準」について検討を行ない, 国としての安全基準を作るための研究を行なうことになった。

vii) C-13 NMR の化学シフトの図表化 昨年度より東京大学などとの共同研究テーマであり, すでに 1 ~ 4 報を発表している。

viii) 界面活性剤のアルキル長鎖の炭素数の決定とそれを主成分とする殺菌剤の定量分析への応用

ix) 赤外吸収スペクトルおよび示差熱分析による医薬品の結晶多形に関する研究

① ブロムジエチル尿素とホモスルファミンの熱的変態について

② 石英とクリストバライトの定量

環境衛生化学部

部 長 外 村 正 治

業務成績

1) 一斉取締試験：口紅の使用色素50について161件行なったが、2製造業者5件の不適があった。

2) 特行試験：化粧品（クリーム、シャンプー、ヘアスプレー）について12件行なった。

3) 依頼試験：化粧品用顔料について2件行なった。

4) 調査業務

4)-1：大気汚染の調査業務として、東京都内の霞が関、板橋および世田谷区大原町の3地点において、自動測定記録計によって、昭和39年から一酸化炭素、窒素酸化物、二酸化いおう、浮遊ふんじん等について連続測定を行なっている。

4)-2：全国のカドミウム排出工場、鉱山排水、河川水、魚介、土壌等59件について、カドミウム含有量を測定調査した。

4)-3：都下府中市の農業用水汚染にともなって、同市の河川水、底質、水田土壌、米等28件についてカドミウムの測定調査を行なった。

4)-4：有機水銀汚染調査の目的で、魚介類（漁場、漁獲年月日等の明かなもの）、原乳、工場排水、底質等のアルキル水銀ならびに総水銀について、28件の測定調査を行なった。

4)-5：富山県イタイイタイ病要観察地域住民の尿中カドミウム15件について測定を行なった。

5) 測定方法の作成

窒素酸化物の環境基準制定に当って、測定方法の原案を作成した。

研究業績

1) 水道用塩素剤に関する研究

〔目的〕 水道水用原水の汚染が増えたので水処理に用いる塩素剤の使用量が増加してきている。そのため水道水の遊離塩素の使用量の上限設定の必要がある。

〔実績〕 次亜塩素酸が人赤血球の各種凝集素による凝集反応、溶血反応また人白血球の生存能力、細胞分裂促進因子としての反応に対する影響等の検討を行なった（厚生科学研究）。

2) 有害性金属の生体運命に関する研究

〔目的〕 水道水等飲料に供する水も自然水域の汚染で、有害性金属による水道水の汚染も考慮しなければ

ならない。カドミウム、セレン等の生体吸収、分布、代謝、排泄等を究明し、水道水の水質基準作成の資とする。

〔実績〕 前年度の $^{115}\text{mCdCl}_2$ に引続き、 CdCl_2 の急性毒性の検討を行なった。セレンについても同様に行なっている。

3) 水道水の有機酸汚染に関する研究

〔目的〕 カシンバック病の病因物質として、パラオキシ桂皮酸系化合物による原水の汚染を指摘した報告がある。これらの化合物が次亜塩素酸によって変化することを研究し、塩素剤による水道水の無害化を証明する。

〔実績〕 パラヒドロキシ桂皮酸およびフェルラル酸がほぼ同量程度の塩素注入により分解することを確認した。

4) 陸水浄化に関する研究

〔目的〕 前年度に引続き、皇居外苑沼の水質浄化法の指標を得るため、水質成分と水中生物の関係等を検討する。

〔実績〕 本年度は、新たに日射量の測定を加えた。溶存酸素量が盛夏8月には注射量と相関していた。藻水は富栄養化現象を示すが、経年的に汚染の進行は見られなかった。

5) 化粧品用原料色素中の副成分の研究

〔目的〕 法定色素中には有機性不純物が混在するが、その限度を制定するための資とする。

〔実績〕 16品目の法定色素を選定して行なったが、ロットによりナフトール類の多いものが見られた。

6) 大気汚染の光化学的研究

前年に引続いて本年は、芳香族炭化水素と二酸化窒素の混合ガスに光照射を行ない、生成物の分析を行なった。

7) カドミウムの分析法に関する研究

イタイイタイ病またはカドミウム中毒症患者の臨床診断における尿中カドミウムの標準試験法ならびに米、土壌中のカドミウムの測定法を確立するとともに、カドミウム標準米を設定した。

8) 空気中の浮遊ふんじんに関する研究

低温灰化装置を用いて検体の灰化を行ない、鉛、亜鉛、カドミウム等についてポーラログラフ法、原子吸光法による定量法を設立した。

9) 環境汚染物質測定機器の自動化に関する研究

オキシダントの吸光度測定方式による自動測定機器を開発した。

10) 水銀の迅速定量分析法に関する研究

前年度に引続いて、白金内張り酸素ポンプによる燃

焼、疎開液をジチゾンで抽出し、ジチゾン層を分離しこれを燃焼させ、水銀蒸気検出計を用いて測定する方法を確立した。本方法は、ジチゾンによる比色測定法と併用できる利点がある。

食 品 部

部 長 田 辺 弘 也

概 要 昭和45年6月、宮島第三室長が退官し伊勢丹百貨店食品検査室に迎えられ、昭和46年2月、後任に天野主任研究官が新室長に発令された。

従来、社会的、政治的圧力のため当部の業務内容が人員のわりにあまりにも多岐にわたり、かつルーチンの業務が過重であったので、これを整理し業務内容の質的向上をはかることに努め、従来からも輸入食品検体中簡易な試験を港駐在官に移官していたが、さらにその促進をはかり、また検体処理の多い残留農薬試験についても、従来同一食品を2年間にわたって当部および大阪支所で検査していたものを、食品化学課の協力のもとに最初の年は試験法の設定を主目的として当所で行なうが、2年目からはいくつかの生産県に委任する方策に切り換える方向に進め、46年度より実施することになった。

このような努力にもかかわらず、食品衛生化学上の重要問題の山積、重大事件の頻発により必ずしも基礎的研究のための時間的余裕を作ることに成功したとはいえない。

重要問題としては、農作物の残留農薬および食品のかび毒汚染の両実態調査ならびに照射食品の衛生化学的研究等のほか、44年度から引き続いて行なわれた乳肉食品中の有機塩素剤残留試験、牛乳容器を初めとする食品用プラスチック容器包装、および石油たん白等の規格の設定、米等新許容量設定に伴う残留農薬試験法の改正等がある。重要事件としては、母乳中ならびに産婦血液中等の残留農薬、米国におけるかん詰まぐろの水銀規制に伴う海水魚中の総水銀およびメチル水銀量の問題化、ピーナツならびに同製品中のアフラトキシンの問題が相ついで起こり、応接にいとまのない状態にある。

業務成績

1) 輸入食品検査：総検体数は減少しているが処理困難な検体が多く、所要時間、労力は必ずしも減少していない。チーズ中の安息香酸のように外交問題にま

で発展し当部での実態調査の後、ついに日本側で規格を改変するようなこともあった(昭和45年1月～同12月の総検体数261, 試験項目数270)。

2) 特行試験：許容量設定のための残留農薬実態調査検体として45年度は、レタス、かき、小豆、大豆、みかん、そらまめ、さつまいも、とうもろこし、小麦約250検体。

農薬の種類としては、有機塩素剤および有機リン剤の試験依頼があったが、乳肉食品ならびに母乳血液等の試験との関連上、操作を異にするリン剤の試験は全く不可能の状態にあるため、もっぱら有機塩素剤の試験を行なった。

農薬関係の特行試験として、このほか島根県神西湖における変死魚(ボラ)中の農薬分析の依頼があった。

3) 依頼試験：本来当部においては、依頼試験は輸出のための証明を除いては全く受け付けていないが、牛乳用ポリエチレン容器の承認に当たり、乳肉衛生課のあっせんによる依頼試験として、材料ポリエチレンおよび同製品について食品添加物部および食品衛生研究所の協力を得て総計約300件の試験を行なった。

4) 規格の作製：残留農薬検体食品中、45年度のそらまめ、さつまいも、とうもろこし、小麦が初めての食品であるので、これらについて有機塩素剤の試験法を設定した。

また、前述のように輸入チーズ中の自然生成安息香酸について多数国の多数製品について実態調査を行ない、その結果に基づいてチーズ中の安息香酸の許容量が100 ppmと決められた。さらに米および大根ならびに有機リン剤もPNの許容量の設定に伴い、これらの公定試験法を設定すると同時に、従来の公定試験法の改正を行なった。

ピーナツおよびその製品からアフラトキシンが発見されるに及び、米国AOAC記載法を参考としながらもこれを改良し、日本特有のこれら製品にも適用できる方法を確立し、さらに検出法設定後その確認法についても検討し、これを確立した。

石油酵母については、昨年度より安全性の確認法について検討されてきたが、45年度において試験法の具体化をはかり、参考資料としてはあるが当部において、原料のn-パラフィン製品を飼糧とした家畜よりの食品中の多環芳香族化合物試験法培養液、菌体等中の金属(As, Pbその他)およびマイコトキシン(アフラトキシン……その他6種)試験法ならびに未知有害物質の一般的抽出法、試験法を立案した。

研究業績

1) 残留農薬に関する研究

諸種食品中の諸農薬残留試験法の設定、これを用いた汚染実態調査ならびに食品の諸種処理による農薬残留量の変動調査等を行なった。

i) 特行試験における新種農作物の残留農薬試験法に関する研究

そらまめ、さつまいも、とうもろこし、および小麦について試験法を確立した。

ii) カルバメート剤の分析法に関する研究

三フッ化酢化体の ECD ガスクロマトグラフィーによる分析法について検討した。

iii) 果実、根菜類の諸種処理による農薬残留量の変動に関する研究

リンゴ、柿、梨、馬鈴薯、さつまいもおよび大根等について、洗浄および皮をむいたときの有機塩素剤残留量の減少について検討した。

iv) 乳肉食品中の残留農薬に関する研究

市販牛乳および鶏卵について有機塩素剤残留量を調査検討した。

2) マイコトキシンの衛生化学的研究

食品中のマイコトキシンの微量試験法について検討し、一部実態調査も行なった。本研究の i) および ii) の一部は厚生省がん研究助成金によって、また iii) は厚生省調査研究委託費によって行なった。

i) パツリンおよびペニシリン酸の痕跡分析法に関する研究

三フッ化酢化体の ECD ガスクロマトグラフィーによる分析法について検討を行なった (学会発表参照)。

ii) 醗酵食品中のグリセオフルビンの検出法に関する研究

米に対し設定された試験法を改良し、味噌、醤油中のグリセオフルビン試験法を確立し数検体について実態調査を行なった。

iii) 主食類 (玄米、白米、大麦、小麦粉) のマイコトキン汚染に関する研究

許容量設定の目的をもってこれら食品中のアフラトキシン、パツリン、ペニシリン酸、ステリグマトスチン類の試験法の設定、実態調査を行なった。

3) 食品照射による玉ねぎおよび米の衛生化学的研究

照射、未照射両検体の抽出成分を種々の分離分析法を用いて比較し、照射による異常物質生成の有無を検討した。

4) 食品試験におけるけい光分析の応用

亜硝酸ナトリウムを用いるズルチンの新けい光分析法を開発し、芳香族アミンの分析への応用を企画して、その反応機構の解明を検討した。

5) 食品害虫に関する研究

ダニ類について生態学的ならびに衛生学的研究を行なった。

i) コナダニ類の内部構造について

病理組織の手法により、コナダニ類の内部形態および組織化学について検討した。

ii) 加圧ガスによる殺ダニについて

加圧炭酸ガスによる殺ダニ条件を検討した。

iii) 食品中のダニ汚染と微生物汚染との相関性について

ダニ体内における病原菌の導入、定着、排泄等について検討した。

iv) コナダニ類の趨光性について

近紫外から近赤外までの光に対するコナダニ類の行動を波長別に検討した。

食品添加物部

部長 谷 村 顕 雄

食品添加物はそれ自体の安全性が確認されたもので、食品中で、または生体内で毒性の強い物質を生成することが考えられる。昭和45年度はこの観点から亜硝酸塩と過酸化水素について検討を行なった。

新鮮な肉の赤色はミオグロビンを主体としたものであるが、空気中で速かに酸化されて灰褐色になる。しかしこの色素にニトロソ基を導入し、加熱すればニトロソヘモクロモゲンとなり安定な淡紅色を呈するようになる。このため食肉製品などに亜硝酸塩が発色剤として添加されている。しかし食品に第2級アミンが存在すると亜硝酸との反応によりニトロソ化合物の生成が考えられる。

ジメチルアミンと亜硝酸のモデル系水溶液 (各 5 mM) 中でのジメチルニトロソアミンの生成率は pH 3.4 で最も高く、35° で2週間後に約 5 ppm に達することが明らかとなった。ニトロソアミンの分解は生成に比較してきわめて遅い。一方、第2級アミンは一般に魚体に広く分布しており、加工品ではたらこ、煮干、さけかん詰などに多く、それぞれ 2.60, 8.75, 3.90 $\mu\text{mole/g}$ 程度含まれていることを認めた。したがって食品中でのニトロソアミンの生成は水産食品を中心にその調理中の変化も含めて研究中である。生体内におけるニトロソアミンの生成についてはジメチルアミン、亜硝酸ナトリウム各 100 mg 投与後30分のウ

サギの胃内に約 0.1 mg のジメチルニトロソアミンの生成を認めた。食品添加物としての亜硝酸塩の使用は現段階ではとくに問題はないと思われるが、亜硝酸塩の摂取量はできるだけ低く抑えることがのぞましい。当部では食品により摂取される亜硝酸塩量を明らかにするために、各種食品中の亜硝酸塩の分布についての調査を継続している。

食品色素の分析法に関する研究は引続き行なわれており、45年度は色素分解成績体の同定に基づく色素の確認について検討を進める一方、食品からの色素の定量法については色素水溶液を用い、従来の毛糸染色法のほか、ポリアミド末、キノリンを用いての抽出法を検討し、これらの方法による色素の回収率を調べた。天然色素に関しては薄層クロマトグラフィー、ろ紙クロマトグラフィーおよび呈色反応による分離同定法および定量法について検討した。色素標準品の製造はオレンジⅡ標準品（だいたい色205号）1g入、250箱について行なった。合成着色料の製品検査（昭和45年1～12月）は検査件数1,027、合格1,027不合格0であった。

食品中の添加物の検出および定量法に関しては、モニアウィリアムス法による漂白料の残留亜硝酸根の定量の際に、種々のイオウ含量食品においては定量値に疑問がもたれたので検討した結果、当該食品について盲検値の高いことを認めた。さらに対策について検討中である。人工甘味料製剤中のサッカリンナトリウムの定量法に関しては、試料水溶液から塩酸酸性でクロロホルム・エタノール混液により抽出後溶媒を除き、残留物をエタノールに溶かし、 α -ナフチルアミンで呈色させ、ピリジン添加後吸光度を測定した。グリチルリチンが共存する場合には DEAE セルロースで分離した後定量し好結果を得た。

食品成分に対する過酸化水素の影響に関しては、グリシンに過酸化水素を作用させることによって得られた異常成分（酸化成績体）が *Escherichia coli* K-12 の発育抑制効果を有することを認めた。バイオオートグラフィーによって抑制物質を分離し、その物理・化学的性質について追求した結果、本品は 3,5-ジアセチル-1,4-シヒドロルチジンであることを認めた。また *E. coli* K-12 株の発育を阻害するロイシンの過酸化水素による酸化成績体に関してはイソバレルアルデヒドであることを明らかにした。

鉱物油（ホワイトミネラル油）はベーカーリー製品などに分割剤または離形剤として使用されてきたが、45年11月20日に使用基準が定められ、食パン類にのみ 0.1% までの使用が認められた。このためパン類以外

の食品に対しては TLC 法による検出法を、パン類には、*n*-ヘキサンによるソクスレー抽出法とカラムクロマトグラフィーによる油脂類との分別法を組合せた定量法を確立した。鉱物油を構成する炭化水素は天然からも由来するので、その最大リミットを 0.02% として不正使用を規制することにした。食パンに対する使用量は現在かなり少なくなっているのでサンプリング上の理由から微量定量法を検討中である。なお、鉱物油と同時に用いられていたペトロラタムについて検討した結果、衛生上好ましくないので禁止された。

食品中に使用することが禁止されている化学的合成品の検出に関する研究については、従来、ジュースなどの香料に比重調整剤として使用されていた臭素化油が使用禁止になったので、その検出法などについて検討した。試料の *n*-ヘキサン抽出物を濃縮後、酸素燃焼フラスコで分解し、生成する臭素を水酸化ナトリウム溶液に吸収させ、氷酢酸、過酸化水素およびフルオレセインを加えて水浴上で蒸発乾固するときに、臭素の存在でエオシンを生成することにより定性した。

食品添加物の規格に関する研究はアンモニアの規格の設定（性状、確認試験；イオウ化合物と易酸化物に関する純度試験）、二酸化炭素の規格の設定（性状、確認試験；遊離酸、二酸化イオウ、リン化水素と一酸化炭素に関する確認試験、および定量法）、ヘキサンの規格の全面改訂（性状；比重、屈折率、液性、イオウ化合物、硫酸呈色物とベンゼンに関する純度試験、*dl*- α -トコフェロールの規格の設定（含量規定、性状、確認試験；比重、屈折率、溶状、比吸光度、ヒ素と重金属に関する純度試験、定量法および確認試験）、クエン酸の純度試験に硫酸呈色物およびイソクエン酸の項目を追加する件（結晶、無水物共通）、以上の5品目について実施した。

動物飼料または家畜の疾病の治療に由来する抗生物質の食品中の残留に関しては、動物用抗生物質の総生産中約11%を占め、とくに乳房炎の注入剤として繁用されているペニシリンの牛乳中の残留の検出に関しては、芽胞形菌 *Bacillus stearothermophilus* var. *B. calido lactis* C 953 株を使用して高温（55°）で 2.5～5 時間培養することによって 0.001 I.U./ml 以上のペニシリンGの存在を検出する方法を確立した。

おもちゃに関する研究成果は当所調査月報第4巻第4号に報告した。

衛生微生物部

部 長 岩 原 繁 雄

概 要 検査業務としては国家検定・輸出検査・輸入食品検査・特行試験・依頼試験などを行なっている。

主要な研究としては医薬品・医療用具などの滅菌法の研究、微生物による医薬品・化粧品の汚染に関する研究、食品中の微生物の検出法に関する研究、細菌を用いる発がん物質スクリーニング法の研究、腸内細菌による薬物の代謝、食品の真菌フローラの研究、マイコトキシン産生菌の研究などがある。

真菌については海外も含む広い地域について採集・培養を行ない、菌株の保存・交換を行なっている。

業務成績

国家検定

ブドウ糖注・リンゲル注・インシュリン注など16品目の無菌試験……………529件

避妊薬の殺精子試験……………123件

輸出検査

腸線の無菌試験……………38件

輸入食品検査

主として冷凍食品（肉、魚、卵など）の微生物試験……………2,420件

特行試験……………20件

一般依頼試験……………58件

研究業績

1) 医療用具の放射線滅菌

抵抗性の高い菌について、高圧蒸気滅菌などの殺菌効果をうるための線量を決定する。

2) 滅菌の確認に用いられるマーカー菌の研究

エチレンオキシド・高圧蒸気・乾熱・放射線など各種の滅菌法のそれぞれに好適なマーカー菌を探索中。

3) ソルビン酸の放射線分解

高線量の照射によって抗菌作用が強まるという結果がえられたが、この本体を追及中である。

4) 各種化合物の細菌に対する突然変異誘発作用・プロファージ誘発作用の研究

細菌に対する“mutagen”と発がん物質との関連性を明らかにするための研究。

5) 医薬品・化粧品の微生物汚染の研究

細菌・真菌による汚染の実態を調査し、あわせて試験法を検討する。

6) 防腐剤の抗菌スペクトルの研究

医薬品・化粧品などの変敗防止の目的に使用されている各種抗菌剤の8種の微生物に対する抗菌スペクトルを求める。

7) 加工食品の保存性と合成殺菌料

ウイナソーセージをモデルとして殺菌料の効果と保存性との関連について検討する。

8) 食品中サルモネラの分離法の改良

主として食肉について検討を行ない、国際法設定の基礎資料を作成する。

9) サルモネラのファージタイピング

当所で分離されたサルモネラについてファージタイピングを行ない、汚染経路の追及に役立てる。*Salmonella good*については独自の型別法を確立するための研究を行なっている。

10) 食品中の *Salmonella* の殺菌法の研究

種々の殺菌剤について殺菌効果を検討中。

11) 食品の微生物試験の迅速化の研究

色素還元法による菌数測定法を各種食品に試験的に適用し、その利用価値を検討中。

12) *enterococcus* の検出法

水の糞便汚染の指標菌としての *enterococcus* を検出するための試験法を確立する。

13) サイクラミン酸塩の細菌による代謝

実験動物の体内において細菌の作用によるシクロヘキシラミン産生の研究。

14) 食品中の有毒糸状菌

市販食品、特定地域住民の常用食品などにおける有毒真菌の分布を調査する。

15) 国内産主要食品のアフラトキシン汚染の調査

アフラトキシン産生菌の分布を調査。

16) ヒト体表および臓器における真菌分布

皮膚および臓器における真菌症発症の機作を究明するため、正常人における真菌の分布を調査する。

17) 真菌の分類・同定に関する研究

子のう菌類・不完全菌類の分類。

薬 理 部

部 長 大 森 義 仁

業務成績

1) 国家検定

ブドウ糖注射液349件、リンゲル液26件の発熱性物質試験を行なったが、不適と判定されたものはなかった。

2) 特行試験

輸液用プラスチック容器の材質確保のため、ポリエチレン製容器 2 件につき、材質の抽出液を用いる生物学的試験につき検討した。

3) 一斉取締試験

日本薬局方生理食塩液 7 件につき発熱性物質試験を行なったが異常を認めた例はなかった。

研究業績

1) 医薬品の効力検定に関する研究

従来その中枢抑制作用や消化管運動抑制効果に充分な基礎的検討がみられなかった塩酸ピペサネートの行動薬理、麻酔強化作用、摘出腸管薬理試験から、本剤の弱い中枢作用とアトロピン様の末梢性副交感神経抑制効果を認めた。

2) 麻薬の薬理学的研究

モルヒネ連続投与によって現われる副腎皮質の肥大と身体的ならびに精神的依存性の関連性について検討を加えたが、モルヒネ連用による副腎の ACTH 感受性の低下は、ナロルフィンの 1 回注射によって速やかに消失し、コルチコステロンの生合成、分泌とも再び増加し、アスコルビン酸の臓器中濃度は著明に減少することを認めた。

LSD は $1 \sim 2 \mu\text{g}/\text{kg}$ をウサギに静注するとき著明な発熱を現わすことを確認するとともに、この発熱は Fever Index により検討すると用量-反応回帰が得られることを認め、この反応が、リセルグ酸、エルゴタミン等ではほとんど現われないか著しく現われ難いことを認めたので、発熱試験が LSD の生物検定法の一つとして用い得ることを示唆するものとする。

3) 医薬品、食品添加物の次世代に及ぼす影響に関する研究

妊娠ラットの分娩前母体に男性ホルモン作用を有するステロイドを投与するとき、 F_1 世代のメス動物では男性化が起こるとともに成熟後持続発情が現われることを確認したが、この発情は交尾あるいはフェノバルビタール投与によって中断あるいは消失を来すと考えられる成績を得ている。

サッカリンナトリウムを、妊娠ラットの胎仔分化期に 7 日間にわたり $3.8 \text{ g}/\text{kg}$ 以下の量を連続投与したが、胎仔に対する催奇形作用は認められず、また、食用赤色 104 号を妊娠期間中飼餌に混入してラットを飼育する方法で投与したが、 1.0% 以下の濃度を与えた場合に、胎仔の器官形成、新生仔の育成に影響を及ぼすと考えられる知見は得られなかった。

4) 医薬品、食品添加物等の生体内運命に関する研究

小腸における薬物の吸収に影響を及ぼす経口投与薬

の胃からの移行 (Gastric Emptying Rate) について検討したところ、消炎鎮痛薬の数種のもは、この移行を遅らせ、腸管からの吸収の遅延、血中濃度と臓器内分布の低下を起こし、その結果、同時に投与した他の薬物の薬効発現を減じることが認められた。

アゾ色素系食品添加物は、主として腸内細菌により分解されて、代謝物は吸収され尿中に排泄されることを認め、ボンソー R の代謝によって生ずる 2,4-メタキシリジンが肝毒性に関係すると考えられる知見を得た。

カドミウムの連続投与による生体内分布についても検討を加え、吸収は少なく、生物学的半減期は著しく長いことを裏付ける成績が得られている。

5) 薬物の効力、毒性発現と代謝に関する研究

動物において得られる薬効や毒性からヒトへの影響を推定することの可能性や問題点を追及するため、実験動物各種を用いた場合の薬物代謝と種差、性差、系統差などの関係を、正常動物や非生理の状態にある動物において検討を加えた。

今年度においては、薬物代謝における肝薬物代謝酵素活性の変動に薬物と P-450 の結合能が一要因として指標となりうることを、薬効や毒性発現に影響を与える薬物代謝酵素の活性が、絶食、実験的糖尿や副腎機能不全や甲状腺機能不全、胆がんだの非生理状態において大きく変動し、その変動要因としては動物の日令も関与することを認めた。また、*in vitro*, *in vivo* 実験において、プロゲステロンの中枢抑制作用の性差の発現が、その肝代謝に由来することを明らかにした。

6) がんに関する研究

実験的に胃がんを発生させ、薬物の抗腫瘍効果を判定する試験法を確立する目的で、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NMNG) を経口投与し、そのラット腺胃での発がんを促進する方法をまず探索した。ラットを固定し、水浴中に一夜浸漬することによって生ずるストレス潰瘍を NMNG 投与と組合せたところ、NMNG $30, 90 \text{ mg}/\text{l}$ の水溶液投与のみによって現われる腺胃部での腫瘍発現の時期が、対照群よりも若干速やかになると考えられる成績が得られ、さらにストレスの負荷回数、NMNG 水溶液の濃度、薬物投与期間などについて検討を加えている。

NMNG のメチル、ブチル、ヘキシル誘導体を合成化学研究部より提供され、その生体に及ぼす影響についても研究を開始した。

アフラトキシン B_1 の脂質代謝に対する影響に検討を加えたが、コレステロールの肝での生合成を著しく抑制するとともに、肝臓での各種代謝酵素の誘導形成

にも、若干の差を見出すことを認めた。

4 NQO がラット前胃粘膜に特異的に多く分布するが、ボンソーRでは肝に対して必ずしもこのような傾向はみられず、むしろ、その代謝産物であるメタキシリジンが肝に著しく蓄積する傾向を認めた。

Walker 256 腫瘍接種ラットでの肝におけるステロイドホルモンの水酸化能は著しく阻害されると考えられる成績を得た。

7) 毒物、劇物指定に関する研究

農薬、その他薬物の経口投与による急性毒性に関する検討を行なった。

8) 薬物と生体膜の結合に関する研究

薬物の生体作用発現機構に関する研究の一環として、テストステロン、プロゲステロンの肝ミクロソーム P-450 との結合とその水酸化活性の相関に関する研究を行ない、これらステロイドと P-450 の結合能はアンドロゲン依存のもので、甲状腺機能上昇時のステロイド代謝の低下にはこの結合能が関与し、甲状腺機能低下時の代謝低下には、肝ミクロソームにおける電子伝達系の活性低下が原因と考えられる知見を得た。

毒 性 部

部 長 池 田 良 雄

概 要 当部における研究には長期を要するものが多いので前年度からの継続のものがかかなりあるが、新規に行なったものとしては幻覚剤STP(2,5-dimethoxy-4-methyl-amphetamine)の依存性、農薬PCB-Baおよびカスガマイシンの亜急性毒性、2,4-Dの催奇形性、 β -BHC のラットにおける亜急性毒性および人体脂肪中における定量、サルにおけるメチル水銀の慢性毒性、キノホルムの神経毒性などに関する研究がある。

昭和45年9月に薬品病理部の発足とともに、従前名称だけで実質の伴わなかった当部動物管理室に、生物化学部を除く関係部の動物飼育要因が配置され、毒性、薬理、医化学、薬品病理、衛生微生物の5部の使用動物を集中管理する態勢に入った。

業務成績

セットローションの一次局所刺激試験

特行試験

昭和46年3月、資生堂セットローションによって皮膚障害が生じたという事件に関連して、厚生省薬務局の依頼により、事故品および同ロットの製品についてウサギの皮膚および眼に対する一次刺激試験を行ない

試験続行中である。

研究業績

1) STP の依存性に関する研究

医療助成研究

幻覚剤 STP をウサギに連続皮下注射したところ、その体温上昇作用に耐性が生ずるが身体的依存性を生ぜしめないことを認めた。

2) 造影剤用フェライトの毒性に関する研究

医療助成研究

3) 毒物、劇物指定に関する研究

薬務局委託研究

4) 毒劇物の経皮毒性に関する研究

厚生科学研究

5) 食品添加物の長期慢性毒性に関する研究

厚生省がん研究

厚生省行政研究

前年度に引続き、ラットにおけるサリチル酸、デヒドロ酢酸およびサイクラミン酸塩、ラットおよびマウスにおけるサッカリンの発がん性を含む長期慢性毒性を研究している。

6) 照射食品の安全性に関する研究

原子力研究

a) ラットにおける照射玉ねぎの長期毒性研究

b) マウスにおける照射玉ねぎの次世代試験

c) ラットにおける照射米の長期毒性研究

d) ラットにおける照射小麦の試食試験

7) PCP-Ba およびカスガマイシンの亜急性毒性に関する研究

厚生省行政研究

両剤の残留許容量を決めるために不可欠な長期毒性研究の前段階として、両剤のラットにおける急性および短期(1月)毒性研究を行ない、長期毒性研究実施のための基礎資料を得た。

8) 2,4-D の催奇形性に関する研究

除草剤 2,4,5-T が米国における研究により催奇形性を有することが明らかになったので、保健衛生上わが国においてはより重要と考えられ、類縁化合物として検討を要する 2,4-D を取り上げ、まず、そのブチルエステルについてマウスにおける催奇形性を検討し、現在続行中である。

9) β -BHC の毒性に関する研究

厚生省環境衛生局委託研究

1 昨年来保健衛生上きわめて重大な問題として関心を集めている β -BHC による牛乳汚染問題に関連して、まだ十分研究されていない β -BHC の毒性を明らかにし、本剤の牛乳中残留許容量の設定のための資料

を提供するため、昭和45年1月から以下のような研究を行なっている。

a) サルにおける β -BHC の亜急性毒性

b) マウスにおける β -BHC の慢性毒性

サルでは3月、マウスでは約1年の投与による実験ではほとんど完了した。両動物における β -BHC の無作用量が得られているので、ごく近い時期に両実験の結果を基に牛乳中 β -BHC の暫定許容量が設定される予定になっている。なお、これらの実験では通常の検査項目のほかに脂肪その他の臓器中 β -BHC の定量を行なっているが、本実験における、脂肪中の β -BHC 蓄積量と中毒現象との関連は、ヒトにおける本剤による障害の有無を推定するうえにきわめて有用であると考えられる。

c) ラットにおける β -BHC の亜急性毒性

d) 人体脂肪中の β -BHC の定量

β -BHC による牛乳汚染に関連して母乳中の有機塩素剤残留の実態を把握する必要を認めた厚生省は、昭和45年末、都道府県衛生研究所を実施機関とする研究班を組織し一斉調査を開始した。この研究班では、これと同時に女性および乳幼児の脂肪中の β -BHC の定量を行なうことを計画しているが、当部はこれを分担し、研究班に属する東京都内の大学産婦人科教室あるいは産院より送付される人体脂肪組織について β -BHC の定量を行なっている。

10) カドミウムの毒性に関する研究

厚生省環境衛生局委託研究

昭和45年夏に米に対するカドミウムの暫定許容基準が定められたが、従来、食品衛生の立場から行なわれたカドミウムの毒性研究は乏しいので、この観点から、塩化カドミウムを検体として、まずラットおよびマウスにおける急性毒性を検討し、ついでマウスにおける長期慢性毒性の研究を開始した。現在研究続行中である。

11) サルにおけるメチル水銀の慢性毒性研究

WHO 委託研究

自然界における無機水銀のメチル水銀への転換ということが近年明らかにされつつあるが、この事実は、わが国における水俣病に鑑み、水銀による環境汚染に対する各国の関心を強めてきている。メチル水銀による人体障害を予防するためこの物質の人体許容量を定める必要を認めた WHO は、本剤のサルにおける毒性研究を当部に依頼してきた。

本実験は少なくとも2年間の投与を予定しているものであり、このような長期間かなりの数のサルに検体を強制経口投与することは事実上不可能に近いし、また

可能としても実験の目的に対して最適の法ではない。一方、メチル水銀は強い悪臭を持ち、これを混合した飼料をサルが忌避するという困った事態が生じた。このことから、本実験を始めるまえに予備実験として検体の経口投与方法に関する研究が必要となり、約半年を費して種々検討した結果、動物が忌避せず、しかもメチル水銀が自然食品に存在すると同様な形を保持していると考えられる飼料を作ることができた。このような投与方法のもとに、1群5匹、総数25匹のサルにメチル水銀の4段階の量を含む飼料を与える本実験をごく最近開始した。結論を得るまで少くとも今後3年間を要すると考えられる。

12) スモンの病因に関する研究

スモン調査研究協議会

スモン調査研究協議会における疫学的研究により、その病因としてキノホルム中毒説が提唱され、スモン病因に対する諸説の中で最も有力視されていることから、その裏付としてキノホルムの神経毒性を中心とする動物実験が同協議会の重要な課題となった。当部ではニワトリとモルモットにおける亜急性毒性研究を分担したが、キノホルムの連続投与によりニワトリの後肢に運動および知覚障害が生じ、末梢神経および脊髄に病変を認めたが、神経病変についてはまだスモンの病変に近似のものを得ておらず、この点についてさらに研究を要するとともに、雌雄および年齢によるキノホルムの毒性差について検討を加える予定である。

医 化 学 部

部 長 山 羽 力

概 要 昭和45年11月17日付で朝比奈正人前部長の後をうけて、医化学第一室長山羽力が新部長に昇任したが、部の方針は従前どおり、医薬品、食品添加物などの代謝、吸収、排泄および体内分布について研究を行なうほか、試験業務として医薬品としてのビタミン剤の試験を担当している。

業務成績

1) 特行試験：薬務局監視課からの依頼で不良品の疑いのあるビタミン剤19検体について、ビタミン B₁、B₂ および C (またはその一部) の試験を行なった。内訳は錠剤3、顆粒剤1、ドリンク剤15検体であった。ドリンク剤は昭和45年度医薬品等一斉取締り試験で、地方衛生研究所において不適と判定されたもので、この検体について試験を行なった結果、表示量に対する

含量不足が8検体, 含量過多が2検体あった。また錠剤のうち1検体は, 溶解時に破裂するような不良品であった。ドリンク剤中のビタミンの安定性がしばしば問題になるので, 薬務局製薬課からの依頼で, ドリンク剤9検体について40°, 25°, 5°に保存して経時的にB₁およびCの含量変化を調べた。

2) 特別審査試験: 新薬12件, 解熱鎮痛薬56件, 計68件で, いずれもビタミンの試験法および規格に関する審査である。新薬はメチルコバラミン10件, メナキノン42件で, 解熱鎮痛薬中のビタミンはチアミンシスルフィド22件, B₁, B₂, Cなど55件であり, いずれも可であった。

以上の各試験は45年度に当部が報告を提出したものを対象とした。

研究業績

1) サイクラミン酸の代謝に関する研究:

サイクラミン酸塩は, FDAのラットによる発がん性のデータおよび体内でシクロヘキシルアミン(CHA)に変化するとの理由から, 一昨年11月にわが国においてその使用が禁止されたが, それが体内のどこで変化するかを明らかにするため, 昨年に引き続き研究を行った。

i) モルモットにサイクラミン酸ナトリウム(CHS-Na)の経口投与を続けると, 尿中へのCHAの排泄が次第に増加するが, 抗生物質を同時に与えたり, あるいは腹腔内投与するとその排泄は抑えられる。また糞や盲腸内容物をCHS-Naとインキュベートすると, CHAを尿中に排泄しているモルモットの場合に著しいCHAの蓄積がみられるが, 抗生物質併用, 腹腔内投与あるいはCHS-Naを投与しないモルモットの場合にはあまりその蓄積が認められなかった。一方, 肝臓などの組織とのインキュベート実験ではCHS-Naの投与するしないにかかわらず, CHAの生成は認められなかった。

ii) CHAの尿中排泄に腸管内の微生物が関与するかどうかを明らかにするため, CHS-Na資化菌の分離を試み, モルモット糞由来の11種15株を分離した。これらの多くは*Pseudomonas*および*Corynebacterium*に属すると思われる。分離株のすべてはCHS-Naを唯一のC源, N源として生育し, 少量のCHAおよびシクロヘキサノン(CHNone)を蓄積した。また分離株のK株(*Pseudomonas*)および混合菌は栄養物(普通ブイヨンまたは盲腸内容物)の存在下でも, CHS-Naを代謝し, とくに半嫌気的条件下でCHAを蓄積した。モルモットにCHS-Naと同時にK株の生菌を連続5日間投与して, CHS-Naのみを投与した対照と

比較すると, 対照に比べて早期に尿中にCHAを排泄した。乾燥菌のcell-free系によってCHS-Naは嫌気的条件下では主にCHAを, また好気的条件下では主にCHNoneを生成したので, CHS-NaからCHAの生成はおそらく加水分解酵素により, CHAからCHNoneの生成は分子状の酸素依存性のアミノキシダーゼによることが推察された。

以上の研究からモルモットにCHS-Naを経口投与したとき, CHAが尿中に排泄される原因として腸管内微生物の働きが考えられる。

2) サッカリンの代謝に関する研究:

³⁵Sで標識したサッカリンを合成し, その代謝を検討した。ラットおよびモルモットいずれの場合もサッカリンの代謝物はほとんど未変化物で, 他の代謝物は認められなかった。ラットにおける排泄は約70%が尿中に, 残りは糞中に認められ, モルモットでは約95%が尿中に, 残りは糞中に認められた。ラットとモルモットに見られるサッカリンの尿中排泄の差は胃からの吸収の違いによるものと考えられる(サッカリンのpKa=2.2, ラットの胃液pH=4.2, モルモットの胃液pH=1.4)。あらかじめ0.1%サッカリンを飲料水として4~6週間与えたラットでもその排泄には差は認められず, サイクラミン酸の代謝にみられたような適応現象も認められず, 腸管内微生物によって資化されないことがわかった。サッカリン関連化合物として, ³⁵Sで標識したo-, p-トルエンスルホンアミドおよびo-, p-スルファモイルを合成し, それらの代謝についてもラットを用いて検討した。

3) 内因性発がん物質としてのトリプトファン代謝産物の研究:

発がん性が報告されているトリプトファン代謝産物3-ヒドロキシキヌレニン, 3-ヒドロキシアントラニル酸およびそのグルクロナイドと硫酸エステルヒトおよび実験動物における尿中排泄量の測定を昨年に引き続き行ない, ヒトでは遊離型, モルモットではグルクロナイド, ラットでは硫酸エステルの排泄比率が多く, トリプトファン負荷によりヒトでは遊離型, ラットでは硫酸エステルが主に増加することを認めた。また3-ヒドロキシアントラニル酸抱合体の尿中酵素による加水分解の程度を検索し, グルクロナイドは多少分解されるが, 硫酸エステルは抵抗性があることを観察した。

なおこの研究は45年度文部省科学研究費で行なった。

4) 動物のNAD生合成に対する医薬品の影響に関する研究:

ニコチン酸アミド投与によるマウスの肝臓中の NAD 量の変化に対して、抗甲状腺剤（メチマゾール、プロピルチオウラシルなど）は増加の方向に、チロキシンは減少の方向に影響を及ぼすことを確認した。また若干の向精神薬を投与した実験で、trifluoperazine がレセルピン様の効果を示した。

薬品病理部

部長 小田嶋 成 和

概 要 当部は昭和45年9月より部長1、室長2、研究員1で発足した。動物実験を中心に医薬品、食品添加物など化学物質の実験用小動物に与える変化の病理組織学的研究を光学レベル、電子顕微鏡レベルで行なう予定である。研究はさらに分類すると以下の3群に大別される。

- 1) 実験動物の自然発生腫瘍に関する研究
- 2) 化学物質の癌原性と標的臓器との相関に関する研究
- 3) 癌原性化学物質のスクリーニング法開発に関する研究

なお、本年度、電子顕微鏡（日立 HU 12 型）を購入整備中である。

研究業績

- 1) 実験動物の自然発生腫瘍に関する研究（文部省科学研究費）
 - i) 腫瘍発生と栄養 食餌中に含まれるたん白質が腫瘍発生に及ぼす影響を、自然発生腫瘍が好発する動物を使い検討中である。
 - ii) 去勢の内分泌系腫瘍発生に及ぼす影響 去勢して内分泌系のアンバランスを起こさせ、内分泌系腫瘍発生の機構解明を目的に、生後8週以内に去勢した動物について経過観察中である。
- 2) 化学物質の癌原性と標的臓器との相関に関する研究（文部省科学研究費）
 - i) 白血病発生機序に関する研究 ラットに癌原性物質を投与し、白血病の発生過程を経時的に追求中である。
 - ii) 標識アゾ色素の体内分布 標識アゾ色素投与後一定時間内に動物を屠殺し、オートラジオグラフィにより組織内分布を観察中である。
 - iii) ニトロソグアニジンの癌原性に関する研究 胃癌を発生させる目的で、動物に毎日一定量の癌原性物質を飲料水として投与中である。さらに同系動物に発生腫瘍を移植することにより

可移植系胃癌を確立する予定である。

- iv) アミノアゾベンゼンメトキシル誘導体の癌原性とその標的臓器の病理学的研究 各種アミノアゾベンゼンメトキシル誘導体をラットに飼与し、標的臓器を病理組織学的に検索した。
- 3) 癌原性化学物質のスクリーニング法開発に関する研究（文部省科学研究費、厚生省科学研究費）
 - i) 新生児動物を使った実験
 - a) 年齢要因の検索 新生児マウスの生後一定期間内に癌原性物質を投与し、臓器別に腫瘍発生を検索中である。
 - b) 投与回数 一定量の癌原性物質を分割投与し、腫瘍発生に及ぼす影響を研究中である。
 - c) ニトロソ尿素誘導体による白血病発生実験 新生児ラットにニトロソ尿素誘導体を一回注射し、白血病の発生過程を病理組織学的に検索中である。
 - d) ニトロソグアニジン誘導体の癌原性に関する研究 新生児マウスにニトロソグアニジン誘導体を一回注射し、腫瘍発生頻度を検索中である（合成化学部と共同実験）。
 - ii) 経胎盤法 癌原性物質の胎児に及ぼす影響を知る目的で、ニトロソ尿素誘導体を妊娠ラットに投与し、仔に及ぼす影響を腫瘍発生を中心に検索中である。
 - iii) 経授乳法 分娩直後の母親に癌原性物質を投与し、授乳された仔の腫瘍発生に及ぼす影響をニトロソ尿素誘導体について検索中である。

附属図書館

館長 朝比奈 正 人

概 要 昭和45年7月1日、機構の一部改正により今までの調査管理部はなくなり、その中の調査室は附属図書館に編入された。そして元調査管理部長の朝比奈晴世氏が館長となった。その後11月17日人事異動があり、同氏が大阪支所長となられたので、そのあと朝比奈正人が館長となった。

附属図書館の新しい機構は管理閲覧係、情報係および調査室の2係1室である。組織細則にはそれぞれの業務が明示されているが、人員の不足や従来からの慣習などのために、実際は多少異なっている。しかし大きく分けて図書関係の業務、衛生試験所報告に関する業務および調査室の業務に分けることができる。

現在図書館で継続して購入している雑誌は外国93種

類、国内33種類、計131種類であるが、その他調査室で外国36種類、国内6種類、また各部場（大阪支所を除く）で外国36種類、国内6種類を購入している。したがって、大阪支所を除き衛生試験所として購入している雑誌は外国170種類、国内45種類、計215種類ということになる。

また昨年度の購入図書は図書館で外国43冊、国内5冊、計48冊、その他各部場で外国60冊、国内43冊を購入しているから、大阪支所を除き衛生試験所として合計151冊を購入している。

そのほか図書館として寄贈をうけている定期刊行物（衛生試験所報告との交換を含む）は外国4種類、国内341種類、計345種類である。また寄贈された図書も若干ある。

以上の書籍または雑誌についてはその性格からみて分類しにくいものもあるので、上述の数字は概数を示すにとどまらざるをえないものもあるが、現状を示す参考値として記録しておくことにする。

なお図書館で保管している図書（雑誌は製本後）の数は現在2万冊を越えている。

新着外国雑誌については従来部長回覧が行なわれていたが、図書管理の面から好ましくないのを廃止し、新たに希望する雑誌の目次を複写して各部長に差し上げるサービスを昭和46年2月から開始した。

つぎに衛生試験報告第88号が昭和45年12月5日付で発行された。報文13、実験ノート12、資料22、計47で、また誌上発表80、学会発表84であった。また88号から新しく各部場の前年度の業務報告がまとめて掲載されることになった。

調査室では医薬品、食品添加物、その他衛生上問題となる物質の毒性、副作用に関する文献や情報、および各国のそれらに対する安全対策の情報を収集し、衛生試験所の業務の遂行に貢献できるような態勢を準備している。上述のように約40種の雑誌類を購入しているが、これらは必要な文献を検索できるような二次文献に重点がおかれている。そのほかFDA、WHO、FAO、イギリス政府などからも必要な資料を有償または無償で入手している。

調査室として毎月1回調査月報を刊行しているが、会社、研究所、病院等、外部からの希望が次第に増加し、従来の350部では不足する状態になってきた。この情勢に対処してその内容について再検討を加えなければならない時期に来ているように思われる。

また関連する外部の機関との連けいを密にする必要を感じ、調査室と厚生省製薬課および日本医薬情報センターの三者で毎月1回連絡会を開き、情報や意見の

交換を行なうことになり、昭和46年2月2日第1回会合を開き、以後引続き行なっており、有益な結果を得ている。

しかし最も大切なことは調査室が当試験所の業務に大きく役立たねばならないということで、このためにはまず調査室と各部との連けいを密にする必要がある。その一環として所内の部長、室長などにも調査月報を通じて意見や解説や報告を發表していただくことをはじめた。今後は人手の許す限り、各部の業務に協力し、情報の提供、文献の検索等に努力してゆく方針である。

大阪支所

薬 品 部

部 長 吉 村 淳

概 要 当部は昭和24年支所が大阪分室として発足して以来、検定・検査業務の比重が大大、以後20余年間、その性格に強く影響を受けて来たが、その間であっても少なからぬ人々が恵まれぬ条件を克服して立派な業績を残し、現在も各方面で活躍されている状況は銘記されなければならない。そのことと大阪支所の将来構想とに関連してつぎのような基本方針を立てた。

(1) 予算面で検定業務の減少を十分補うに足りる業務をとり入れてゆく。

(2) 規格、基準設定の業務ならびに試験法の研究などには積極的に取り組み、なおも研究面のレベルを高め、その結果、規格、基準の設定にも資するという姿勢を目指す。

(3) 医薬品ならびに化粧品の正当な評価ということが当面重要な問題であると考えられるが、そのことに関連して、安全性確保につながる問題を取り上げる。

なお、当部は従来薬品第一室で国家検定、ビタミン・麻薬以外の医薬品および衛生材料などを担当し、薬品第二室でビタミン、麻薬および化粧品などを担当して来たが、時代の要請にこたえるには柔軟な姿勢で対処する必要があると考える。

人事に関しては、年度初めに前部長河内数朝が退官し、前薬品第一室長吉村淳が部長となり、前主任研究官伊阪博が薬品第一室長となった。

業務成績

1) 国家検定

ブドウ糖注射液843件とリンゲル液57件の理化学試験および2-プロピル-チオイソニコチナミド錠23件の試験を行ない、ブドウ糖注射液1件を異物試験で不適

とした。なお、ブドウ糖注射液は前年度より 119 件増加した。

2) 一斉取締試験

i) 生理食塩液 6 件、塩化カルシウム注射液 2 件の局方試験（理化学試験）を行ない、生理食塩液 1 件を異物試験で不適とした。

ii) 口紅（ピンク、ローズおよびオレンジ系統色のもの）56 件について、「口紅中のタール色素の証明方法（昭和 35 年、薬発第 506 号）」による試験を行ない、第三表に属する色素（R-404）の 1 件を不適とし、さらにキサンテン系色素中の副色素の夾雑を報告した。

3) 特行試験

収納あへん 43 件（内訳、和歌山県 19 件、岡山県 24 件）の含量試験を行なった。そのうち、岡山県からの 9 件は、モルヒネ含量と化学肥料との関係を検討したものである。

4) 一般依頼試験

ビタミン関係 2 件を行なった。

5) 局方調査業務

関西に関係のある有機無機部会、製剤部会、ビタミン酵素等部会および生薬部会の審議を終了した。

研究業績

概要のところで記した基本方針にのっとり、1)～10) の研究を行なったが、1)～3) は本年度より始めたもの、4)～6) は前年度より継続のもの、7)～10) は 44 年度にはば実験を終了し、45 年度に報告または誌上発表したものである。なお、1) は本所との緊密な連絡のもとに実施している。

1) 生薬中に残留する有機塩素系殺虫剤に関する研究

i) 生薬中の残留農薬試験法

目的：市販生薬中の有機塩素系殺虫剤とその代謝物を調べるために、系統的な分析法を確立する。

実績：生薬は果菜と異なり、ガスクロマトグラフィーによる殺虫剤検出の際、妨害する物質を含むので、ベンゼンあるいはアセトニトリル・水混液（65：35）で抽出したのち、cleanup 法として、フロリジル以外にシリカゲルおよびマグネシウム・セライトカラムを用いた、本法により市販生薬 22 種類（葉、根茎、種子）について、有機塩素系殺虫剤の種類と残留量を調べ、汚染状態について考察した。

ii) 市販人参中の残留有機塩素系殺虫剤

目的：人参中の cyclodiene 系殺虫剤の種類および残留量を明らかにし、栽培から加工に至る過程で除去し得る可能性を検討する。

実績：市販人参について、産地別、部位別（主根、側根、表皮）、加工法別（白参、紅参、湯通し、エキ

ス）について調査したが、aldrin および heptachlor の代謝物、dieldrin、heptachlor epoxide の残留量は大きく、側根＞表皮＞主根の順に減少する。また、主根に残留する殺虫剤は、蒸気処理（紅参）、湯通しの加工過程で溶出除去されている。

本研究は下村副所長、名取生薬部長をはじめその他関係者の指導、べんたつを得て行なった。

2) シイタケから検出されるホルムアルデヒド

目的：衛生試験法によるホルムアルデヒド定量法の問題点を検討し、試験操作中に生成するホルムアルデヒドの由来を解明する。

実績：試験操作中に生成するホルムアルデヒドは熱分解または酵素作用によるものであることを確かめ、それらの影響を排除する方法を考案した。

3) ベメグリドの定量法：電位差法による非水滴定

目的：弱酸性を示す医薬品について、ガラス電極を用いる非水滴定法を行ない、局方改正の資料とする。

実績：ピリジン溶媒中でテトラブチルアンモニウムヒドロキシドで滴定することにより、精度は $100.8 \pm 0.5\%$ ($n=6$) となり、従来のケルダール法に比べ優れていた。

4) ヒマシ毒たん白質リシンの研究

目的：ヒマ種子 (*Ricinus communis*) に含まれる致死毒性を有するたん白質を精製し、その構造と毒作用の関係を解明する。

実績：精製したたん白質 (FIIa) の理化学的および生物学的性状は (1) 沈降常数 ($S_{20,w}$) 4.7, (2) 分子量 $ca\ 74,000$, (3) 等電点 7.3, (4) 最少致死量 ($\mu g\ protein/g\ mouse$) 0.05, (5) 血球凝集性 ($\mu g\ protein$) 125 以上, (6) 発熱量 FI-5 ($0.05\ \mu g/kg\ rabbit$) 17, たん白質溶解酵素活性 (trypsin activity, %) 1 以下。

5) キサンテン系色素の分離および定量

目的：化粧品用色素の試験において、キサンテン系色素と夾雑する副色素とを分離する方法および微量定量法を作成する。

実績：夾雑する副色素を TLC により分離し、ternary complex 形成に基づくけい光消光法を用いて定量を行なったところ、従来の色酸法（重量法）より精度も優れ、選択的な微量定量が可能であることがわかった。

6) メチレンブルーとサイクラミン酸の塩形成反応を利用する吸光度定量法

目的：ドリンク製剤中のサイクラミン酸ナトリウムの分離と比色定量法の検討。

実績：ドリンク製剤中のサイクラミン酸は、0.01 N 塩酸を用いる QAE イオン交換セファデックスクロマ

トグラフィーにより分別可能で、定量を妨害するサッカリン、グリシン、タウリンなどを除去することができた。

- 7) 混合ビタミン錠剤中の α -Lipoamide の定量
- 8) ピラズロン類の光分解
- 9) アルカロイドの酸化縮合反応に関する研究
- 10) 地骨皮成分に関する研究

食 品 部

部 長 寺 島 敏 雄

概 要 当部の検定、検査業務としては輸入食品検査と製品検査があり、特行試験業務としては食品中の残留農薬調査があるが、輸入食品検査件数および残留農薬調査件数は昨年度と大差なく、製品検査件数は本年度よりサッカリンナトリウムが削除されたので、多少件数が減少した。しかしながら、当部の人員の構成からみて、依然検査業務の負担は過重であると思われるが、最近の食品部の業務の重要性を部員一同がよく認識し、本年度も大過なく業務を遂行し得たものと考えている。

当部としては、検査業務の過重にもかかわらず、人員の増加は望めないものと思われるので、今後ますます研究活動が要求される状況にあることを考慮して、まず検査業務のうち、輸入食品については港の駐在官との協力のもとに、検査対象品目および項目についての再検討を行なっている。また製品検査についても、昨年度に引きつづき簡易化のための研究を行ない、同時に検査実施上の問題点について検討を加えているが、検査の簡素化と同時に、今後に望まれることは、老朽化した施設の整備、測定機器の充実による業務の迅速化をはかることであって、このことは当部だけの問題ではなくて、支所全体としても要望される重要な問題であろう。

なお本年度の特別な行事として、大阪で万国博が開催されたため、万国博用輸入食品の安全のため、会場内に食品監視センターが設けられたが、当部の永田室長が随時出向して検査上の指導を行ない、安全対策に協力したことを附記する。検査総件数43件で、不良品は9件であった。

業務成績

1) 製品検査

食用色素1,760件（内、アルミニウムレーキ127件）で不合格件数は13件であった。

2) 輸入食品検査

総件数452件で、不良品は105件であった。不良品は食品添加物の違反、鮮度不良の冷凍水産物、青酸配糖体を含んだアーモンド、けい光染料を溶出する容器、包装などが主なものであった。

3) 特行試験

i) 食品中の残留農薬実態調査

精米、大豆、ピーマンなど110検体について、ヒ素、鉛、有機塩素剤の測定を行ない、結果は食品化学課に報告した。

ii) 母乳中の有機塩素系農薬実態調査

茨城県下の農婦10名、非農婦10名の母乳について、有機塩素系農薬の測定を行なった。結果は「母乳および血液中の有機塩素剤の残留と肝機能障害に関する調査研究班」より一括発表される予定である。

iii) 配給用玄米の重金属分析

食品衛生課の依頼で配給用玄米8検体の水分、カドミウム、亜鉛、鉛、水銀、ヒ素の分析を行なった。

iv) 和歌山市の河川、泥土の重金属分析

公害課の依頼で和歌山市の河川、泥土各3検体について、カドミウム、鉛、水銀の分析を行なった。

v) 鉾山、製錬所周辺地域のカドミウム環境汚染調査

カドミウム環境汚染の考えられる24道、県、48地域につき、関係道、県では公害課の委託により、大気、水、底質、米、土壌、魚介類などのカドミウム汚染の実態を調査したが、当部ではそのうち125件のクロスチェックを担当した。総合的な結果は公害課より発表される予定である。

4) 規格、試験法の作成

i) 海水中および魚介類中のカドミウムの分析法

カドミウム環境汚染調査に必要な試験法を作成する目的で、海水中および魚介類中のカドミウムのAPDC-MIBK抽出法を利用した原子吸光分析法を作成し、公害課を通じて、関係道、県試験機関に配布した。

ii) 第二版食品添加物公定書の改訂

食品化学課の依頼により第二版食品添加物公定書の改訂が行なわれることとなり、関西で担当する品目につき、食品添加物協会技術委員会の協力のもとに、規格、試験法の検討を行なった。

5) 研修会、技術指導の実施

i) 食品化学課の依頼により、6月より11月まで、滋賀県、鳥取県衛生研究所など12の試験機関の研修生について、1カ月に2名ずつ、ガスクロマトグラフ操作法、残留農薬試験法などについての研修を実施した。

ii) 香川県三菱金属直島製錬所周辺産米のカドミウムの分析法を指導した。

iii) 奈良県の配給米のカドミウムの分析法を指導した。

iv) 広島県三菱電機福山工場周辺産米のカドミウムの分析法を指導した。

研究業績

1) 色素中のクロムの定量に関する問題点

食用色素中のクロムの定量は、現行の食品添加物公定書による試料の乾式灰化法では測定値のバラツキが大きいため、その原因を検索する目的で検討を行なったところ、試料を乾式灰化する際にはクロムの一部が損失することがわかったので、試料の湿式分解法との比較検討を行ない、湿式分解法の方が添加回収率が定量的で、分解時間も短かく、適当であることを認めた。

2) タール色素の製品検査について

食用色素の品質の実体を把握する目的で、昨年度に引きつづき、昭和45年度に提出された製品検査の全検体について試験を行ない、その結果から、タール色素およびそのアルミニウムレーキの品質を分析した。

3) 食品中のサイクラミン酸塩の比色定量法

昨年に引きつづき、サイクラミン酸塩と過量の亜硝酸から生成するシクロヘキサノール亜硝酸エステルとの比色定量法につき、糖類、サッカリン、クエン酸、グルタミン酸ナトリウム、ビタミンCなどの妨害について検討したところ、妨害を認めなかったため、ジュースについて添加実験を行ない、満足な結果を得た。

4) シイタケより検出されるホルムアルデヒドについて

薬品部との共同研究として、シイタケより検出されるホルムアルデヒドの由来および定量について研究し、当部ではガスクロマトグラフィーによるホルムアルデヒドの測定を担当した。

薬 理 微 生 物 部

部 長 加 納 晴三郎

概 要 すでに当部の主要業務の一つであるブドウ糖およびリンゲル注射液の発熱試験ならびに無菌試験が早晚地方衛研に移譲される予定であることから、当部のみならず支所全体の性格づけと再編成が重大な問題となっている。

われわれはすでに数年前よりこの事態を予測し、対策に腐心して来たのであるが、結論的には今後より強力に研究所としての性格を打ち出すべきであり、ま

た、とくに生物系研究部門を拡大強化することによる支所の再編成を計るべきであると考えている。したがって、その重要な核としての当部のあり方が基本となるであろう。

当部は発足以来8年間に及ぶ国家検定業務の上に積上げた発熱物質に関する研究実績は、試験所における将来研究計画に記載された主要な研究テーマの一つとなっている。さらに最近に至って公害問題の一環としての薬物の毒性問題は支所においてもすでに着手され、関西地区における学問的ならびに風土地盤の上に立った一層強力でかつ特異的な研究体制の確立をめざして努力を傾倒しつつある。現在毒性問題の一部は解決されており、さらに催奇形実験も開始されているが、これらの毒性に関するルーチンワークから次第に研究への展開が行なわれ、それらの成果が期待されるであろう。

業務成績

ブドウ糖液およびリンゲル注射液の年間国家検定実績はブドウ糖液843件、リンゲル液57件であって月平均約76件となる。しかしながら、不合格件数が皆無であったことは専門メーカーとしての成長と技術水準の向上によるものと考えられた。

また、輸入食品の検定実績は肉類10件、ミルク13件、バター2件、アイスクリーム14件、コエビ41件、ホヤ6件、ジュース、ウニ、ハマグリ、カキそれぞれ1件、カエル6件、およびフグ10件であり、総計106件を数えた。そのうち不合格件数は9件を数え、とくにコエビ7件が目立った。フグは動物実験による毒性試験であるが、2件を不適とした。なおこの実験は基礎実験から行なったが、これに関して二、三の知見をえたので別に報告される。

特行試験

(1) 農業スミチオンの一カ年にわたる各種濃度の慢性毒性実験を終り、目下その結果を集積中であり、近く公表される。

(2) 新農薬フォスベルについては2カ年にわたる慢性毒性実験を実施中である。

(3) 同上の品目について催奇形実験を昨年度秋より開始し、その大要を終り目下結果を集積中である。

研究業績

発熱物質に関する研究は開始以来8年間で発表論文数は20編以上に及び、学位取得者は4名となった。発熱物質試験が地方庁に移譲されるとはいえ、研究の重要性は少しも変るものでなく、かえってその比重を増しつつあり、一層その発展が関係方面より期待されている。すなわち、白血球性発熱物質に関する研究は発

熱と炎症反応との相関性を明らかにするために、細胞内粒子系の変化を中心に検討したが、昨年度において、白血球性発熱物質(LP)中に末梢血管透過性促進因子(PF)が混在することを当部で開発された特殊カラムで分離し、それらの性状を明らかにした。さらに、白血球内の粒子系の動態を検討した結果、発熱物質は最初に microsome に作用して LP を遊離せしめ、さらに、lysosome には二次的に作用して PF を遊離せしめるものであるという成績をえた。一方、ウイルス性発熱物質は家兎に対して内毒素様作用を示すことを明らかにし、さらに、ウイルスによる LP が発熱物質によるものと同一か否かについての検討が進められている。また、発熱物質の末梢作用については mitochondria に対する作用を中心に検討が行なわれており、詳細な発熱物質の末梢作用が近く公表される。

一方、薬物の慢性毒性に関する問題は方式のルーチンワーク化が確立された暁には、できる限り早急に研究面への展開が計られるべきである。このことは研究員の志気に大に関係するところである。われわれの主要な研究目標は薬物の耐性化とは何かという命題であって、生化学的ならびに薬理学的アプローチがなされつつある。また、催奇形実験に関しては、発熱物質との連関性を考えるべきであり、発熱と奇形の関係を発熱物質投与による影響を検討したところ、胎児の著しい体重減少または abortion をみとめた。このことは子宮内薬物移行性の問題であり、膜透過性の問題に帰することを確認した。さらに応用面として、ワクチン類とくに Rubella の催奇形に関する問題にも発展せしめたい意向である。以上が研究業務の概要であるが、一般に研究は高度の技術と精神力を必要とし、また、よきチームワークが必要である。このためには、たゆまざる訓練による研究者の養成をはからねばならないと同時に、人事の交流刷新が急務と考えられる。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 本 間 尚治郎

概 要 栽培試験としては、ゲンチアナ・ルテア、シャクヤク、ダイオウ、ペニバナ、ボタン、カノコソウ、ケシ、ムラサキ、センキュウおよびセネグについて行なった。試作を行なったものは、オウレン、カンゾウ、エゾエンゴサク、エゾウコギ、ハナトリカブト、ホッカイトウキである。標本園栽培については、現在整備中で、科別の植替を行ない本年大体終了した。

また種子交換で外国より入手したシャクヤク、ダイオウの苗を養成したもの 26 種 71 株を標本園に定植した。北海道内で採集したレブンサイコほか 97 種の野生植物の植付を行なった。薬用資源開発のため北海道に自生している薬用植物、有用植物および未利用植物の調査をすると共に、種子を国内外の交換に供しているが、本年は名寄周辺のピアシリ岳、天塩岳、スプロマッポロ（間寒別）その他にて植物採集を行ない腊葉標本作製し、266 点につき台帳に記載して保存した。種子は名寄周辺のほか、美幌、弟子屈方面で採集した。そのうち 115 種を '71 年用種苗交換リストにのせ、約 400 部を国内外の関係方面に送付した。45 年の種苗交換の実績は、入手したもの 49 箇所 231 種、発送したもの 78 箇所 739 種である。また、本年は 144 点の生薬標本作製して保存した。

北海道には、センキュウ、トウキの栽培農家が多く、近年作付転換の影響で薬用植物を栽培したいという希望者が多くなりつつある現状で、品質の向上、収量の増大を目的として、講習会、現地指導、来場者案内等の栽培指導を行なっている。本年は名寄に北・北海道生薬公社が設立され、名寄市および附近町村で薬用植物栽培の奨励をはじめたので、これらに対して各種薬用植物の栽培法の手引、生薬資料の作成等の技術援助を行なった。

研究業績

1) 栽培試験

i) ゲンチアナ・ルテア

生薬ゲンチアナ根の国内栽培を目的として生育試験その他の試験を行なった。生育については、6 年生株（定植後 4 年経過）について調査したところ、1 株当たり生根重 619g、乾根重は 132g であった。ゲンチアナは 4 年生以降になるとそう生ずる性質があり、これを芽かき 1 本立にすると開花率は高くなるが、根の収量は激減する。品質は北大生薬学教室で研究の結果、メルクの標品と定性的には相違ないことが判明した。野生化栽培を目的として、'69 年に林地および牧草地、放牧地に播種したものについて発芽調査したところ、陽地、陰地ともに発芽した。発生後の生育は苗床にくらべて明らかに劣っていた。管理手間ははぶくため、除草剤について予備試験を行なったところ、ニップ、エプタムが有望のようである。ゲンチアナの栽培にあたっては、苗の養成に問題があるが、種子の低温処理によって発芽を容易にできることが判明した。またこれによって苗養成の期間を 1 カ年短縮できる可能性があり、次年度試験する予定である。

ii) シャクヤク

栽培法の改良を目的として、毎年摘花したものと摘花しないものと 5 年生株について堀上調査した結果、摘花したものは、草丈、茎数、根重いずれもすぐれていることがわかった。真芍、生干しの調製方法について、品質の向上と調製法の規格化をはかるため、水洗い、湯通法(温度と時間)乾燥の方法について試験を行なった。また、薬用シャクヤクの優良種を育成する目的で選抜したシャクヤクの管理、調査を実施した。

iii) ダイオウ

現在輸入している生薬ダイオウの国内栽培の確立を目的として、'64 年より試験を実施しているが、調製法に見通しがついたので、本年より増殖方法の研究を開始した。株分けによって大量の苗をつくる試験を試みたが、有効な結果は得られなかった。ダイオウは自家不和合性のため、純系の種子をうることができないので、その原因を知るために染色体の調査を行ない、 $2n=22$ を得たが、確認することはできなかった。調製方法については前年につづいて実施した。

iv) ベニバナ

ベニ原料であるベニバナの生育収量を知るために生育収量試験を行なった。採花時期は、8 月 3 日より 15 日までの 13 日間で、10 a 当たりの乾花の収量は、5.7 kg で前年の約半分であった。採花すると種子の収量は著しく劣り、不採花の約 60%, 58 kg であった。

v) ボタン

北海道におけるボタンの栽培法を確立するため、'69 年より試験を開始した。本年は定植 1 年目の地上部の生育を調査した。活着率は高く、地上部の生育もかなり大きい。地上部の形態は株張型と直立型がみられ、開花率は全体でおよそ 22% であった。

vi) カノコソウ

カノコソウの優良種であるケッソウの栽培法を改良する目的で、本年は収穫適期を知るために、収穫時期と含油率との関係を試験した。収穫適期は、10 月上旬・中旬、地上部の莖葉が黄変した頃がよい。

vii) ケシ

種子ならびに技術保存のために、標準栽培を行ない生育収量を調査した。種子の発芽能力を知るために、一貫種を用いて調査したところ、'64 年産種子は発芽せず、採種後 5 年経過したものは実用に適さないが、4 年以内のものは使用できる。

viii) ムラサキ

ムラサキの栽培法の改良のため、圃場における発芽を調査した。2 年間で秋播は 21%, 春播は 30% であったが、北海道では秋播した方がよいようである。当場産 2 年生根の有効成分の含量は、武田研究所で調査の

結果、市場品 2.4% に対し 0.5% であった。

ix) センキュウ

栽培法の改良の目的で、本年は肥料、収穫時期について試験を行なった。センキュウは多肥栽培にたえ、標準の 10 倍量施用区はいずれも収量がまさっている。当地方では 6 月中旬の追肥が効果あり、硫安がよい結果を示した。堀上収穫時期は 9 月 25 日から 5 日おきに調査したが、10 月 26 日堀上のものが最も収量が多かった。収穫時期と有効成分の含量との関係については次年度調査する予定である。

x) セネガ

北海道におけるセネガの栽培法の改良を目的として、2 年生セネガについて追肥、除草剤の試験を行なった。追肥は鶏糞の方が油粕より良い結果が得られた。除草剤については、ゲザミル、トレファノサイドが使用可能と思われたが、なお試験を続行する予定である。2 年生株のセネガより、掃取法により 10 a 当たり砂まじり 22 kg の種子が得られた。

2) 試作栽培

i) オオレン

当地方におけるオオレンの栽培適否を知るために '69 年秋に播種した。本年発芽・生育状況を観察した。発芽は良好で生育も可能と思われた。日覆は 60% 遮光の寒冷紗を使用した方が、生育に支障はないようである。

ii) カンゾウ

カンゾウの国内栽培を確立するために、走出茎を用いて増殖を試みたところ、glabra よりも uralensis の方が活着が良かった。どちらも萌芽期は 5 月下旬から 6 月上旬で、当地方では生育期間が短いようである。

iii) ハナトリカブトおよびその他

'67 年植付したハナトリカブトは病害のためか欠株が多かったが、本年植付時に PCNB 剤を使用した結果、欠株少なく生育良好であった。その他、エゾエンゴサク、エゾウコギ、ハマボウフウを播種し、生育状態を観察した。

春日部薬用植物栽培試験場

場 長 川 谷 豊 彦

概 要 栽培試験としては *Astragalus* 属植物、ペラドンナ、ケシ、キハダ、マオウ、ミシマサイコ、オウレン、サジオモダカ、サンシュユ、*Solanum aviculare* および *S. laciniatum* について行なった。試作を行なったものは *Crataegus* 属植物、ダマセナ・ローズ、

Libanotis transcaucasica, オニサルビア, *Pelargonium* 属植物, *Rhaponiticum carthamoides* である。なお系統保存栽培として *Ammi majus*, *Ammi visnaga*, ヒゴタイ属植物, ムラサキ, *Withania somnifera* について, 展示栽培としてジギタリス, クラムヨモギ, セネガについて行なった。そのほかウコギ属植物3種の染色体数を観察決定した。

種子交換事業としては入手180件, 延べ約1,500種, 配布は142件, 延べ2,373種であった。また種子交換用の野生植物の採種と調査を埼玉, 千葉, 栃木, 東京, 群馬の各都県下9か所で行ない, 約300種の種子を保管中である。

研究業績

栽培試験

1) *Astragalus* 属植物の栽培試験

目的 生薬(黄耆)の国産化をはかる。

内容 1969年春 *Astragalus membranaceus* をは場に播種育成したものについて, 1970年7月30日~10月1日に摘花を行ない調査した。同年1月11~19日に根の収穫調査を実施し, その結果は整理検討中である。

2) ベラドンナの栽培試験

目的 病害の原因を究明する。

内容 病害の観察ならびに生態調査を行なった。4月上旬にはう芽が始まり, 5月中旬から開花を始め, 7月下旬にはほぼ開花終りとなった。病斑の発生は5月上旬に認められ, 7月上旬には病害はほとんど進み病株は枯死状態となった。

3) ケシの栽培試験

目的 オニゲシをテバイン含有植物として検討し, 麻薬対策上の資料とする。

内容 1970年収穫の根部, および果実より採取した乳液の乾燥物について薬品部麻薬室においてテバイン含有について分析実施中である。

4) キハダの栽培試験

目的 苦味性健胃薬原料植物としての栽培上の基礎的問題を究明する。

内容

i) 初期生育に関する試験

(1) 水耕試験 水耕液の比較試験を5種の水耕液について行なった。春日井氏およびクノッ普氏の水耕液が他の水耕液に比し生育において多少良好であった。

(2) シベレリンの葉面散布試験 5ppm, 10ppm, 50ppm の溶液を葉面散布した。低濃度より順次高濃度になるに従い, 対照区に比し伸長成長は顕著に増大する傾向を示した。また最先端の本葉の展開度および腋芽の発生も増大した。

(3) 整枝試験 整枝により第1次枝高の増大は顕著となり, 葉柄長の増加がかなり認められた。

(4) 発芽試験 材料の種子検定の結果, 開花期や樹令, 樹種等により種子の形態は相異しているようである。発芽については調査中である。

ii) 開花時の特性調査

(1) 開花調査 1970年5月12~29日当時, 東京都薬用植物園, 埼玉県坂戸の3地区の48個体について調査した。地区別には春日部, 東京, 坂戸の順に開花するようであった。

(2) 雌雄性の追究 雌花は雄花に比し開花は多少遅れるようで, 花序数, 花蕾数も少ないようである。雌雄の性比は約3:1であったがさらに検討を要するものと思われる。

iii) 系統別の染色体観察

1969年度未確認の分を併せ一応 $2n=80$ を確認した。

iv) 成分(ベルベリン)含量の分析

ベルベリン含有率は根頭部を中心として高くなり, 主幹の先端や枝になるに従い低くなる傾向を示した。根系では必ずしも一定しなかった。地下部では雄樹は雌樹より高く, 地上部では雌雄の差は僅少であった。

v) 自生地調査

京都, 福井, 富山, 新潟の各府県に所在する営林署, 薬用植物園を訪ね自生地調査を行なった。

vi) キハダとオウレンの親和性について

自生地について両種生育の土壌のpHは共にpH 5.5~6.5程度で相違はなかった。

5) マオウの栽培試験

目的 マオウの国産化をはかる一策として自生化適応試験を行なう。

内容 日下委託試験等を考慮中である。

6) ミシマサイコの栽培試験

目的 優良種を育成し栽培法を確立する。

内容 採種後3か月ごろまでは発芽力は低いが, 4か月ごろから発芽率を増し, 8か月ごろまで発芽力を保ち, その後急激に発芽力を低下させるようである。

7) オウレンの栽培試験

目的 栽培上の基礎条件を究明する。

内容 肥料3要素試験を続行中である。

8) サジオモダカの栽培試験

目的 外国種を導入し優良系統の選抜を行なう。

内容 *Alisma* 属34点を1970年5月15日播種し, 発芽後1回仮植し管理育成中である。

9) サンシュユの開花結実に関する研究

目的 調製法の省力化を目的とする。

内容 シベレリンを開花後 1 週間に散布し種子無のものの発生を期待した。処理の効果は確認されなかったが、濃度、処理法、処理時期等が問題と思われる。

10) *Solanum aviculare* および *S. laciniatum* の栽培試験

目的 コルチゾン原料植物として栽培法を確立する。

内容 *S. laciniatum* を 1 年生作物として栽培した場合 12 月 2 日の調査で、1 株当り草丈 128.1 cm、風乾葉重 132.6 g であった。

試作栽培

1) *Crataegus* 属植物

目的 強心薬原料植物として試作を行なう。

内容 特性調査の結果、葉形、新葉の色沢、刺数において、種間に相異のあることが確認された。

2) ダマセナ・ローズ (*Rosa damascena*)

目的 バラ油原料として導入をはかる。

内容 接木は 111 本中 61 本が活着した。枝条伏込は 27 本中 7 本がはう芽した。

3) *Libanotis transeucasica*

目的 ゲラニオール原料植物として導入をはかる。

内容 3 年株の収果量は 1 株当り 14.0~21.4 g であった。

4) オニサルビア (*Salvia sclarea*)

目的 リナロール原料として導入をはかる。

内容 1 株当り生花重は 20.2~135.0 g で生花 200 g から 0.08~0.10 ml、陰乾した花 40 g から 0.10~0.15 ml の精油を得た。

5) *Pclargonium* 属植物

目的 ゲラニオール、シトロネラール原料植物として導入をはかる。

内容 7 種につき増殖中である。

6) *Rhaponticum carthamoides*

目的 強壯薬原料植物として本邦に導入をはかる。

内容 生育 2 年目の春に少数の株に着蕾が認められた。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 宮 崎 幸 男

概要 本年度の主な業務は従来と同じく栽培研究、温室およびほ場における見本植物の保存、育成、薬用植物栽培の実態調査、野生植物の採集調査、種苗交換などである。

栽培研究についてはウコン、ミシマサイコ、サンピロート、レモングラス、コカ、*Fibraulea chloroleuca* を対象とした。その結果の概要は研究業績の項でのべる。

薬用植物栽培の実態調査については香川、徳島両県におけるミシマサイコを主目標に現地調査を行なったが、とくに土質と植物の生育、根茎の色、病害との関係について参考資料がえられた。

野生植物の採集調査は主として伊豆中、南部で行ない 33 種の植物を採集した。また交換用種子 53 種を採集し春日部試験場に送附した。

種苗交換については受入は国内 32 件、延 99 種、国外 17 件、延 171 種、分譲は国内 64 件、延 378 種、国外 4 件、延 4 種であった。

研究業績

1) ウコンの栽培に関する研究

i) 温度条件と植物の生育、収量との関係

目的 栽培上の基礎的問題を明らかにする。

実績 温度条件として戸外と温室 (25~35°) の 2 区のもとでポット試験を行なったが、温室区では原因不明の病害が甚だしく生育が著しく阻害されたため、正常な結果がえられなかった。

ii) 光線の強さと植物の生育、収量との関係

目的 栽培上の基礎的問題を明らかにする。

実績 光線の強さについて無しゃ光 (100%)、寒冷紗一重しゃ光 (68%)、寒冷紗二重しゃ光 (60%) の 3 区を設け、温室内 (25~35°) でポット試験を行なった。すべての区で i) の場合と同じ病害のため生育が著しく阻害され、えられた結果は正常なものとはみなしがたいが、しゃ光度の加わるにつれて根茎の収量は著しく低下する傾向があるようである。

2) ミシマサイコの栽培に関する研究

i) 温度条件と植物の生育、収量との関係

目的 暖地栽培の立場から栽培上の基礎的問題を明らかにする。

実績 温度条件として戸外と無加温ビニルハウスの 2 区を設けポット試験を行なった。戸外区では生育中の枯死率がやや高く、かつ生育、収量がビニルハウス区に比べてやや劣る傾向がみられた。

ii) 土性と植物の生育、収量との関係

目的 暖地栽培の立場から栽培上の基礎的問題を明らかにする。

実績 土性の区別として土壌粒子の大きさにより大粒区 (直径 1.0~1.5 mm)、中粒区 (直径 0.5~1.0 mm)、小粒区 (直径 0.5 mm 以下) の 3 区を設け、無加温ビニルハウス内でポット試験を行なった。小粒

区では生育中の枯死率が他区に比べてやや高く、また根茎の収量は大粒区で最も高く、中粒区、小粒区の順に低下し、とくに小粒区での低下が顕著であった。

3) サンビロートの栽培に関する研究

目的 苦味健胃薬資源開発の立場から栽培法の確立をはかる。

実績 は場栽培で播種期、播種量を異にした9区を設け、生育、収量の比較を行なった。播種期は4月中～下旬、播種量は20×400 cmの播床の場合3,000～5,000粒が適当と思われた。

4) レモングラスの栽培に関する研究

目的 優良系統の育成、栽培、蓄留、油の貯蔵に関する基礎的問題を明らかにする。

実績 主な4系統について油を空気にさらして貯蔵した場合のシトラール含量の変化について研究中である。どの系統でも貯蔵期間の経過とともにシトラール含量は低下するが、低下の状態についての系統間差異はいままでのところほとんどみられない。

5) コカの栽培に関する研究

目的 優良系統の育成、栽培、調製、貯蔵に関する基礎的問題を明らかにする。

実績 コカ葉の乾燥方法として天日乾燥、室内乾燥、電気乾燥(50°)の3区を設け、乾燥方法とコカイン含量との関係について1実験を行なったが、区間の差異はほとんどみられなかった。

6) *Fibraulea chloroleuca* の栽培に関する研究

目的 ヘルペリン資源としての実用価値とともに栽培法の概要を明らかにする。

実績 取木苗を供試し温室内のポット栽培で生育過程を調査中であるが、地上部の生育に関してはいままでに研究したツズラフジ科の *Arcangelisia*, *Tinospora* に比べるとかなり劣る傾向がみられる。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 木 下 孝 三

概要 45年度の気象状況は春期著しく不順不良であり、夏期以後は順調であった。特に1月～3月における異常低温の持続、4月の連続的降雨により当場の主研究であるケシ栽培試験はその影響をうけ、生育は著しく遅延し、一貫種系統は平年に比し約5割減の収量となり、早生系統は寒害をうけ約7割減の収量となった。その他の栽培試験大麻、クラムヨモギ、ヒトツバハギなどは比較的生育よく順調に経過した。

業務成績

栽培試験以外の業務は次のようであった。

1. 薬用植物栽培質疑応答 56件
2. ケシ、薬用植物種苗防護 17件
3. 植物調査採集採種 岐阜県山県郡舟伏山系、和歌山県西牟婁郡大塔地区、和歌山県日高郡猪の谷地区の3地区、計193種採集
4. ケシ作況調査 和歌山県2回
5. ケシ耕作者栽培講習会 和歌山県、岡山県2回
6. あへん法違反ケシ科植物鑑定 3件

研究業績

1. 標本薬用植物栽培

目的 代表的薬用植物を栽培し、一般の展示に供し、種苗を育成保存し、各種試験材料に供用する。

内容 熱帯、亜熱帯産39種、温帯産122種を栽培し、いずれも生育順調である。

2. クラムヨモギに関する試験

目的 サントニン原料植物クラムヨモギの水田裏作法による系統間の比較検討する。

内容 4倍体N系統群は2倍体A系統に比して風乾有用部収量がややすぐれている。

3. ヒトツバハギに関する試験

目的 セクリニン原料植物ヒトツバハギの生育過程を調査し、栽培法を確立する。

内容 和歌山県日高郡由良町衣奈で採種したもので本年生育9年目である。生長度低く、灌木状特性が著しくなってきた。

4. 大麻に関する試験

目的 各地の系統を栽培し、その特性、葉収量などを調査し、栽培上の資料をうる。

内容 葉収量は系統によりかなりの差異がみとめられる。雌雄別にみると雄株先熟であり、草丈は雄株高く、分枝、葉収量は雌株が多い。雌雄性については4型が存在する。

5. ケシに関する試験

目的 ケシ栽培の復活にともない優良品種の育成、栽培法の改善、栽培技術の保存ならびに生育上の基礎的資料をえようとする。

内容 次のII試験を実施した。

i) 品種および系統の保存、特性調査

目的 各地の品種、系統を栽培し、その特性を調査し、これを保存し、品種改良の材料に供用する。

内容 本年は気象状況最悪であったが、全品種採汁採種し、保存することができた。

ii) 系統選抜試験

目的 栽培地より観察により優良な系統を選抜し、その生産力を検討する。

内容 あへん収量はかなり少なかったが、選抜系統は 2~3 系統を除き他は一貫種よりすぐれ、優良な系統群である。観察による選抜効果が著しく認められている。

iii) 一貫種個体選抜系統検定試験

目的 一貫種の個体選抜によりえた系統につきその生育、生産力を検討する。

内容 あへん収量はかなり少なかったが、選抜系統は 3~4 系統を除き他はあへん収量、モルヒネ含量ともすぐれ、優良な系統群である。気象状況が最悪であった本年においてもすぐれた形質をあらわしている。

iv) 巨大蒴果型育成交配系統検定試験

目的 扁平型系統と一貫種との交配によってえた中間型の球状巨大蒴果の系統につき、その生育、生産力を検定する。

内容 選抜系統は草丈高く、蒴果は球形巨大蒴果であり表面に白い胡粉が多い。収量は一貫種よりかなり劣り、実用的系統でないが、その特異の形質が育種的価値が大きく、保存しておくべきである。

v) 早生型育成交配系統選抜検定試験

目的 愛知系統と一貫種との交配によりえた系統につきその分離状況、生産力を検定し、早生にして多収の系統を育成する。

内容 選抜系統は草丈低く、一貫種より 10 日以上早く早生系統である。本年は冷害をうけ、頂芽が開花不能になった個体 0~40% にも及び、あへん収量は激減した。開花期変異の幅はやや広くなり、蒴果は一貫型として固定している。

vi) 耐病性育成交配系統選抜検定試験

目的 トルコ系統と一貫種との交配によりえられた系統につき耐病性、多収の系統を育成する。

内容 選抜系統はいずれも葉面に病斑少なく耐病性を示し、あへん収量は一貫種よりすぐれ、モルヒネ含量は同程度である。開花期は同時期であり、蒴果は一貫型である。

vii) 耐寒性育成交配系統選抜検定試験

目的 トルコ系統と一貫種との交配によりえられた系統につき耐寒性、多収の系統を育成する。

内容 選抜系統はいずれも耐寒性を示し、本年の異常低温にもよくたえ、あへん減収程度少なく、一貫種よりすぐれていた。開花期、蒴果などは一貫種と同様である。

viii) 土壌の種類に関する試験

目的 各種異なる土壌にけしを栽培し、その生育、収量などを調査し、栽培上の資料をえようとする。

内容 腐植土、腐植壤土などがすぐれ、火山灰、粘

質壤土、粘土と最も劣っている、これは土壌の有機質含有量と通気性によるものである。

ix) 採汁時期試験

目的 採汁時期の変化が収量、品質に及ぼす影響を調査し、採汁の適期を判定する。

内容 開花後 12 日~15 日採汁開始区が最高であり、本年のように気象状況が不適のときはやや早期に採汁開始するのがのぞましい。

x) 採汁方法試験

目的 切取法と宵切朝掻法を比較し、労力関係を考慮し、再検討する。

内容 両法とも収量には差異をみとめないが、採汁労力を考えると第 1 回切傷は切取法で、第 2 回以降は宵切朝掻法によるのがよい。作況によっては第 3 回以降打切った方が有利な場合もある。

xi) 多収穫栽培法試験

目的 あへん増収に関連あるあらゆる方法を組入れた栽培法を実施し、その収量、品質などを調査し、栽培上の参考資料にする。

内容 本年は 2~3 月の異常低温と 4 月の連続降雨により、生育はきわめて不良であり、あへん収量は試験開始以来最低の記録となった。

種子島薬用植物栽培試験場

場長 高城正勝

概要 種子島空港拡張工事に伴う試験場用地の一部を提供してほしいという鹿児島県側からの要請を拒否したまま 1970 年に入った。その後、鹿児島県側は移転補償を全面的に受入れるとの正式回答があったので用地の一部提供を認めた。

移転補償は庁舎および宿舍の移築、標本室の移転、宿直室を車庫に建替え、用地造成、土地改良、研究および標本植物の移植、防風林の設置等である。

用地造成 および 土地改良工事は 1971 年 3 月完了した。

業務成績

1. 栽培指導および実態調査 屋久島および種子島におけるガジュツ栽培の技術指導、福岡県内における薬用植物栽培農家の実態調査。

2. 種子交換 昨年に引き続き台北市東方農場と種子交換。

3. 植物採集 島内各地の植物採集。

研究業績

1. 植栽植物リスト作成

標本園その他に植栽している全植物のリストを昨年に引続き編さん中、種類は品種も含めて約 550 種、性状は勿論、栽培法その他詳細説明している。

2. 種子島自生植物分布図作成

種子島の自生植物についてはすでに調査されているが、分布はまだ記録がない。数年前からその作成を急いでいるが、今年は24種を調査し合算 171 種の分布図を作成した。

3. 暖地植物写真集の作成

亜熱帯植物写真集を刊行するため、当场では数年前から計画し完成を急いでいるが、試験研究の余暇を利用しての撮影なので意にまかせず、本年は16種写した。

4. 種子島におけるガジュツ (*Curcuma zedoaria* Rosc.) の栽培試験 (第10報)

除草剤がガジュツの生育ならびに収量に及ぼす影響について

目的 除草剤がガジュツ栽培上どの程度の効力があるか究明するため、数種類の除草剤を用いて下記のような研究を行なったのでその成績を報告する。

試験区は次の 6 区を設けた。

A区シマジン粒剤、B区シマジン水和剤、C区スタム乳剤、D区クサトール水和剤、E区グラムキソン乳剤、F区レグロックス乳剤。

実験材料および方法

除草剤の使用量および稀釈濃度は次に示すとおりで、使用量は 1/10 a 当り 1 回量。

区別	使用量	稀釈濃度
A区	50.0 g	—
B区	1.0 g	0.05%
C区	5.5 ml	0.55%
D区	80.0 g	8.0 %
E区	3.0 ml	0.3 %
F区	4.0 ml	0.4 %

散布回数は 6 月 19 日、7 月 19 日、8 月 19 日の 3 回。
種ガジュツ重量 1 個の平均重量は A 区が 79.3 g、B、C、D、E および F 区は 79.2 g。

植付 1970 年 5 月 8 日

栽植距離 各区とも 60×30 cm の 1 個植え。

試験区の面積 各区 1/10 a

収穫 1971 年 1 月 20～21 日

実験結果

1) 殺草効果

接触型除草剤のうち、グラムキソン乳剤およびレグロックス乳剤が殺草効果が顕著であったが、メシバ、ハマスゲおよびチガヤは枯死しなかった。

2) 地上部の生育

植付後、生育の区間差異は認められなかったが、散布後接触型除草剤各区は薬害が見られた。しかしグラムキソン乳剤区は殺草力が強い割に薬害が軽微だったので順調に生育した。

3) 収量

収穫した根茎重量は E 区が最高で 1 株平均 152.8 g、ついで A 区 89.7 g、B 区 88.1 g、C 区 87.6 g、F 区 78.4 g、D 区が最低で 70.3 g であった。

5. 種子島におけるガジュツ (*Curcuma zedoaria* Rosc.) の栽培試験 (第11報)

種ガジュツの植付の深さに関する研究

目的 植付の深浅がガジュツの生育と収量にいかなる影響を与えるか比較研究し、栽培法を確立するため再度試験したので成績を報告する。

試験区は次の 6 区を設けた。

0 cm 区、5 cm 区、10 cm 区、15 cm 区、20 cm 区、および 30 cm 区。

実験材料および方法

島内に半野生化している根茎を採集し、その後毎年試験栽培を行ない冬期間貯蔵した根茎を用いた。

植付 1970 年 5 月 25～26 日

種ガジュツ重量 1 個の平均は各区とも 60.2 g。

試験区の面積 各区とも 1/10 a

栽植距離 各区とも 60×30 cm 1 個植え。

収穫 1971 年 1 月 27～29 日

実験結果

1) 地上部の生育

生育は順調で区間の著しい差異は認められなかった。草丈は各区とも 10 月下旬から 11 月初旬にかけて最高を示した。

2) 収量

収量は 1 株平均 0 cm 区 173.7 g、5 cm 区 233.2 g、10 cm 区 209.4 g、15 cm 区 275.8 g、20 cm 区 277.4 g、30 cm 区 239.6 g で 20 cm 区が最高を記録した。

摘要

1) 根茎の長さは深植ほど長くなる傾向が顕著に現われ、0 cm 区 5.65 cm、30 cm 区 16.29 cm を測定した。

2) 20 cm 区の 10 a 当り植付量は 325.08 kg、収量は 1,497.96 kg で収率は 468% であった。

3) 20 cm の深さに植込むのが多収が得られ最も望ましいことが認められた。

6. 種子島におけるガジュツ (*Curcuma zedoaria* Rosc.) の栽培試験 (第12報)

時期別収穫試験

目的 労力の配分、後作の関係等で収穫の適期を知
ることは経済栽培上重要なことである。その意味にお
いて本試験を実施したので成績を報告する。

実験材料および方法

種ガジュツ重量 1 個の平均重量は10月15日区
73.7 g, 11月1日区 73.8 g, 11月15日区 73.7 g, 12
月9日区 73.8 g, 12月22日区 73.8 g, 1月5日区
73.5 g, 1月18日区 73.8 g, 2月6日区 74.0 g, 2
月18日区 73.8 g, 3月5日区 73.8 g, 3月15日区
73.8 g であった。

植付 1970年4月30日

試験区の面積 1/20 a

実験結果

1) 地上部の生育

各区とも生育は順調で区間の著しい差異は認められ
なかった。

2) 収量

新根茎重量の最高は1月18日区1株平均 258.7 g,

最低は10月15日区の 192.6 g であった。

摘要

種子島におけるガジュツの収穫は11月中旬以後が望
ましい。

7. クミスクチン(*Orthosiphon stamineus* BENTH.) に関する試験

目的 刈取回数と収量を比較研究する。

実験材料および方法

苗は1969年9月30日に挿木したもの

試験区は次の3区とした

A区1回刈取り, B区2回刈取り, C区3回刈取
り。

定植 1970年5月12日

栽植距離 60×30 cm

実験結果

1) 収量

風乾重の1株平均はA区 32.1 g, B区 29.9 g, D
区 19.9 g であった。

窒素複素環化合物の Prototropic Tautomerism に関する研究 (第3報) Phthalic Hydrazide 環の Lactam-NH を含む Ring-Chain Tautomerism における立体特異性について

中村晃忠, 神谷庄造: 薬誌, 90, 1069 (1970)

1-Hydroxy-2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo [1,2-b]-phthalazine-5,10-dione (Ia) および, その 3-methyl 体 (Ib), 3-phenyl 体 (Ic), 2-methyl 体 (Id) の configuration および conformation を核磁気共鳴スペクトル (NMR) によって決定した。また, NMR スペクトルの解析の補助のために Ia~d の 2-bromo 体 (IVa~d) を合成し, そのスペクトルを測定した。その結果, Id が *cis* 体と *trans* 体の等量混合物として存在しているのに対し, Ib および Ic は主として *cis* 体として存在することがわかった。このような分子内付加の立体特異性の原因についても考察を加えた。

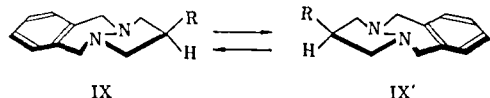
Conformational Changes in Fused Hydrazines, 2,3,5,10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1,2-b]phthalazines

A. NAKAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 1426 (1970)

Conformational changes of 2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo[1,2-b]phthalazines (Va, Vb), which have a 6/5 fused ring system with two bridgehead nitrogen atoms, were studied by means of variable-temperature nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. It is concluded that they exist as the conformer VI with *trans*-fused configuration, converting between the two antipodes (IX, IX') via synchronous inversion of both nitrogens. The activation parameters (E_a , $\log A$, $\Delta F^\ddagger$) for the inversion were also determined as follows.

For Va; $E_a = 16.9$ kcal/mole, $\log A = 16.7$, $\Delta F^\ddagger = 12.4$ kcal/mole.

For Vb; $E_a = 18.7$ kcal/mole, $\log A = 18.3$, $\Delta F^\ddagger = 12.5$ kcal/mole.



Synthesis of 2,3,5,10-Tetrahydro-1H-pyrazolo [1,2-b]phthalazines

A. NAKAMURA and S. KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 1526 (1970)

2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo [1,2-b] phthalazine and its 2-methyl derivative, which have two bridgehead nitrogen atoms in a fused ring system, were synthesized by lithium aluminum hydride reduction of the corresponding 2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo[1,2-b]phthalazines. On the other hand, sodium borohydride reduction of these 5,10-diones gave 2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo[1,2-b]phthalazin-5-one and its 2-methyl derivative. These fused hydrazines afforded the corresponding monomethiodides.

混合製剤の分析に関する研究 (第17報) 比色法によるグリセリルグアヤコールエーテルの定量

井上哲男, 立沢政義, 中込 誠*: 薬剤学, 30, 77 (1970)

比色法による混合製剤中のグリセリルグアヤコールエーテルの定量法を検討し, 選択性があり, かつ高感度の方法を確立した。

グリセリルグアヤコールエーテルは, 過ヨウ素酸酸化するとホルムアルデヒドを生成するから, これにヨウ素の共存で 3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾンを反応させると青色の色素を生成する。これをクロロホルム・ベンゼン混液 (1:1) で抽出し, 680 m μ の測定波長で定量する。

本反応は, アスピリン, スルピリン, アスコルビン酸, フェニレフリン, 糖類の共存で妨害するが, 混合製剤の場合, 酸性およびアルカリ性でクロロホルム抽出することにより除去できる。

* 理研新薬 K. K.

非水溶媒滴定によるスルフィソオキサゾールの定量
井上哲男, 立沢政義: 医薬品研究, 1, 19 (1970)

7 局のスルファミン類の定量は, ジアゾ滴定法が採用されているが, スルフィソオキサゾールはこの方法ではイソオキサゾール環が分解するため, 中和滴定法を採用していた。

この方法の問題点として、メタノール中で滴定を行なうため終点が不明瞭なため、定量値が過大となり、好ましくなかった。

著者は非水滴定法による定量を試みて良好な結果を得た。

本品約 0.5 g を精密に量り、ジメチルホルムアミド 50 ml を加えて溶かし、チモールフタレインを指示薬として液がわずかに青緑色を呈するまで、0.1 N 水酸化カリウムエタノール液で滴定する。同様の方法で空試験を行ない補正する。

第八改正薬局方の改正点

麻薬の改正点

朝比奈晴世, 大野昌子: 薬局, 22, (5), 79 (1971)
家庭麻薬 2 品目を含めると、八局収載麻薬は 28 品目である。これら全品目について、共通した改正点、特定対象に対する試験法の改正をまとめて示し、各条ごとの改正や、新たに定められた試験法を紹介した。

改正点については、いずれも改正理由、従来の試験法などとの比較を行ない、新たに採用されたものは注を付した。

Studies on the Voges-Proskauer Reaction. II. Structure of Pigments Formed in the Diacetyl Reaction of 1,1-Disubstituted Guanidines

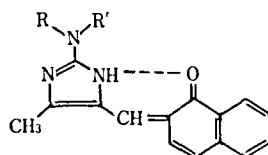
T. NISHIMURA, C. YAMAZAKI, S. TANABE, T. UENO, S. KITASHIMA, K. ISHIGE, T. INOUE, I. KOYAHARA, K. KIJIMA and T. SAKAGUCHI: *Tetrahedron Letters*, 1970, 4815

Pigments that isolated from the reaction mixture of the Voges-Proskauer reaction using 1,1-disubstituted guanidines (benzylmethylamino-, dimethylamino-, piperidino- and morpholinoamidine) were elucidated to structure (I) by NMR, IR and Mass spectroscopy.

The elemental analysis and mass spectroscopy of the pigment obtained by using morpholinoamidine gave the molecular formula of $C_{19}H_{19}O_2N_3$.

The NMR data on the pigment (ppm in δ -value) showed the presence of CH_3 (2.5, s),  (3.62, s), $-CH=$ (6.8, s), naphthalene nucleus (7.07, 7.5, 8.5) and NH (16.35).

The IR spectra of the pigment showed at 1630 cm^{-1} ($C=O$), 1595 and 1580 cm^{-1} (chromatic ring vibration) etc.



(I)

放射能温泉の衛生化学的研究 (第 5 報) 空気中の ^{222}Rn の測定法の検討および三朝, 増富温泉地域における測定結果

池淵秀治, 亀谷勝昭: 衛生化学, 16, 138 (1970)

空気中の ^{222}Rn を測定するための分析方法を研究し、三朝, 増富温泉地域の空気および浴室内の空気中の ^{222}Rn を定量した。分析方法は ^{222}Rn の崩壊によって生ずる ^{214}Pb および ^{214}Bi のうち、 ^{214}Bi のみを分離測定し、その計数率から計算によって ^{222}Rn を求めるもので、この分析操作のうち、 ^{214}Bi を分離する方法についても、クペロン・クロロホルムの溶媒抽出法の検討を行なった。また分析方法の検討のための ^{222}Rn は、 ^{226}Ra 標準溶液中で放射平衡に達した ^{222}Rn を用い、この ^{222}Rn を分離したのち、崩壊生成する ^{214}Bi を分離計数して ^{222}Rn を定量した。本方法による気体中の ^{222}Rn の測定限界は比較的高く、 5×10^{-12} Ci/l であり、一般空気中の ^{222}Rn の測定には適していない。しかし本方法を用いて、三朝温泉地域、増富温泉地域の空気中の ^{222}Rn を測定した結果、これらの地域の屋外では、 ^{222}Rn の濃度を正確に測定することができなかったが、三朝温泉の 3 箇所の浴室内の空気中の平均 ^{222}Rn 濃度は、 42×10^{-12} Ci/l であり、増富温泉の 3 箇所の浴室内の空気中の平均 ^{222}Rn 濃度は 13×10^{-12} Ci/l で、国際放射線防護委員会の勧告する最大許容濃度の 1/30 と比較すると、それぞれ 13 倍および 4 倍高い値を示していることを知った。

放射性診断薬の開発に関する研究

標識ヨードヒスチジンの生体内分布について

亀谷勝昭, 長谷川明: 原子力平和利用研究成果報告書, p. 338 (1970)

アイソトープの医学的利用の一つとして、特定臓器に沈着しやすい放射性核種またはこれらの化合物を生体に投与し、生体外部から放射能を測定して臓器の大きさ、または機能の検査などが調べられている。われわれはアミノ酸の投与が、短かい時間内に脾に集まるということから、放射性のヨードで標識した 2, 5 diiodohistidine を合成し、ラットに投与し、その生体内

分布を調べた。またこれらの実験の基礎資料として、放射性ヨウ化ナトリウム (^{131}I) および L-histidine (ring-2- ^{14}C) 投与についても検討し、つぎの結果を得た。すなわち、2,5-diiodohistidine の静脈内投与後 2 時間および 4 時間で、脾の放射能濃度は肝の濃度にくらべて、3.4 倍および 2.4 倍の値を示し、L-histidine (ring-2- ^{14}C) の投与の場合よりむしろ高い値を示した。しかし 2,5-diiodohistidine のヨードが脱ヨード化され、そのヨードが胃内容物へかなり移行することが明らかになり、ヒスチジンの 2 および 5 位を放射性ヨードでヨード化したものは脾の放射性診断薬として使用することは不適当であり、より強固に結合したヨード化アミノ酸を使用すべきであることを知った。

3,3-Dimethylglutaric acid monomethylester

田中 彰：有機化合物合成法，20，45 (1970)

立体障害をもつ 3,3-ジメチルグルタル酸の半エステルの製造法として、その無水物を対応量の CH_3ONa と反応させてから、酸性でエーテル可溶部を蒸留すると、目的の半エステルが好収量でえられる。この方法はいままで行なわれてきた酸無水物とメタノールによる反応より再現性もよく、副反応による収量低下がほとんど認められない点に特徴をもつ。

放射性医薬品の品質および試験法に関する研究 (第 3 報) 塩化セシウム- ^{137}Cs 無菌溶液，塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液，ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液，クロルメロドリン- ^{197}Hg 注射液，メリソプロール- ^{203}Hg 注射液，ヨウ化大凝集人血清アルブミン- ^{131}I 注射液，および過テクネチウム酸ナトリウム- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 注射液の純度試験について

浦久保五郎，田中 彰，長谷川明，池淵秀治：
Radioisotopes, 20, 180 (1971)

7 種類の放射性医薬品の純度試験にろ紙クロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーおよび電気泳動法を使って、最も適した展開溶媒と電気泳動条件の検討を行なった。その結果、塩化セシウム- ^{137}Cs 無菌溶液と塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液には、アセトン・塩酸・水=4:1:3，メリソプロール- ^{203}Hg 注射液と過テクネチウム酸ナトリウム- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 注射液には 70% メタノール，クロルメロドリン- ^{197}Hg 注射液はジメチルホルムアミド・水・メタノール=5:1:14 の溶媒系を用いるろ紙クロマトグラフィーで良い結果をえた。

ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液は薄層クロマトグラフィーのみが好結果を与え、エタノール・ベンゼ

ン=2:1 の溶媒が最も良い結果を示した。ヨウ化大凝集アルブミン- ^{131}I 注射液はペロナール緩衝液による電気泳動法が適していることがわかった。

放射性医薬品の品質基準に関する検討 (第 1 報) ヨウ化大凝集アルブミン (^{131}I) の粒度試験について
浦久保五郎，長谷川明，東条憲一*：医薬品研究，2，(2)，116 (1971)

ヨウ化大凝集アルブミン (^{131}I) 注射液の粒子の大きさを規定する規格および試験法として、顕微鏡下における直接測定とラットを用いる肺集積試験を検討した。その結果鏡検試験では粒子の大きさの上限のみを規定することが適当であることがわかった。また、粒子の大きさの分布については、うすめた本品をラットに静注し、0.5 時間後解剖して肝と肺の放射能測定を行ない、肺集積率として、肺/(肝+肺) の値を百分率で表現するのが実際の直接的な規格および試験法であることを知った。

* 陸上自衛隊衛生学校

The Crystal Structure of a Colored Complex, $\text{C}_7\text{H}_7\text{OHg} \cdot \text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$, Obtained in the Millon Reaction of p-Cresol

Y. KOBAYASHI*, Y. IITAKA* and Y. KIDO: *Bull. Chem. Soc. Japan*, 43, 3070 (1970)

The crystal structure of the complex of 2-mercuri-4-methylphenol and 2-nitroso-4-methylphenol obtained in the modified Millon reaction was determined using three-dimensional X-ray diffraction data. The complex crystallizes in triclinic system, space group $P\bar{1}$, with a unit cell of dimensions $a=10.26 \text{ \AA}$, $b=22.71 \text{ \AA}$, $c=5.61 \text{ \AA}$, $\alpha=97.2^\circ$, $\beta=93.1^\circ$, $\gamma=91.1^\circ$, containing four complex molecules. Each of the two crystallographically independent complex molecules both having essentially the same structure, forms a dimer with its nearest neighbor related by a center of symmetry through a pair of hydrogen bonds. The mercury atoms adopt a planar four-fold coordination with nitrogen, carbon and two oxygen atoms.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo.

Triterpenoids of the Gramineae

T. OHMOTO*, M. IKUSE* and S. NATORI:
Phytochemistry, 9, 2137 (1970)

イネ科植物56種についてトリテルペンの分布を検索し、これが広く存在すること、同定された28種のトリテルペン中で、arundoin, cylindrin に代表されるトリテルペンメチルエーテルがイネ科においては特徴的であることを明らかにした。その他の chemotaxonomic な問題点について、今までの研究を総括した。

* 東邦大学薬学部

ショウガ科植物の curcuminoids についての二・三の知見

黒柳正典, 名取信策: 薬誌, 90, 1467 (1970)

ショウガ科植物の根茎の色素として知られているクルクミノイド (curcumin (I), *p*-hydroxycinnamoyl-feruloylmethane (II), *p,p'*-dihydroxydicinnamoylmethane (III)) が、生薬として用いられるガジュツ根茎中にも存在することを明らかにし、構造上不明確の点のあった II, III について物理的方法、とくに NMR によって検討を加えた。

Chemical and Cytotoxicity Survey on the Production of Ochratoxins and Penicillic Acid by *Aspergillus ochraceus* WILHELM

Shinsaku NATORI, Setsuko SAKAKI, Hiroshi KURATA, Shun-ichi UDAGAWA, Masakatsu ICHINOE, Mamoru SAITO* and Makoto UMEDA*:
Chem. Pharm. Bull., 18, 2259 (1970)

わが国の食品から分離された 33 株の *Aspergillus ochraceus* について毒性代謝物の検査を行ない、2 株から ochratoxins, 28 株から penicillic acid を T.L.C. で検出し、両者をはじめ、いくつかの代謝物を分離同定した。また HeLa cell に対する毒性のパターンと代謝物の関係を論じた。

* 東京大学医科学研究所

局方オウバク、オウレンのベルベリン定量法について

西本和光, 坂東きみ子, 名取信策: 医薬品研究, 2, 26 (1971)

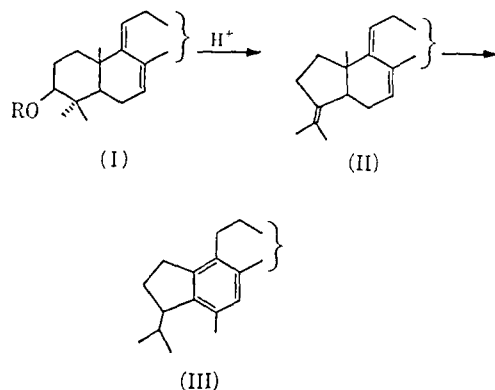
日局 8 に従来通り採用されることになったアセトンベルベリン法の問題点のうち、ベルベリン含量が少ない場合アセトンベルベリン結晶が析出しにくいこと、

ろ液中の溶存ベルベリン量の補正係数について検討を行ない、比較的一定した値がえられるよう改良を行なった。

The Aromatisation Reaction of Ring B of $\Delta^7,9(11)$ -Triterpenoids

M. FUKUOKA and S. NATORI: *Tetrahedron Letters*, 1970, 4867

bauera-7,9(11)-dienyl acetate で報告されている anthrasteroid 転位と同様の B 環の芳香化反応はあやまりで、(I)→(II)→(III)の反応であることを明らかにし、同様の反応を tirucallane, lanostane, fernane, arborane 系トリテルペンの 7,9(10)-diene において試み、同様の芳香化が起こることを明らかにした。



Constituents of Three Thai Medicinal Plants: *Ardisia polycephala* (Myrsinaceae), *Rhabdia lycioides* (Boraginaceae), and *Balanophora polyandra* (Balanophoraceae)

Verapong PODIMUANG*, Stang MONGKOLSUK*, Kunitoshi YOSHIHARA and Shinsaku NATORI:
Chem. Pharm. Bull., 19, 207 (1971)

題記の3種のタイ薬用植物から、それぞれ、rapanone, bauerenol, β -amyrin acetate と coniferin を分離し同定した。

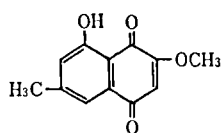
* University of Medical Sciences, Bangkok

Four New Naphthoquinone Derivatives from *Diospyros* spp.

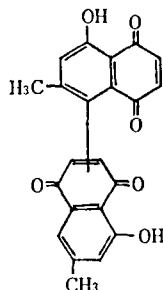
Kunitoshi YOSHIHARA, Michiko TEZUKA, Chikako TAKAHASHI and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 851 (1971)

D. kaki (カキ) からえられた 3-methoxy-7-methyl-

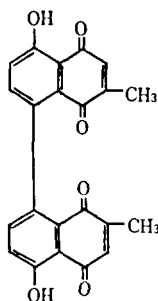
juglone (I), neodiospyrin (II), *D. maritima* (クロボウ) からえられた maritnone (III), *Maba buxifolia* (リュウキュウコクタン) からえられた hydroxyisodiospyrin (IV) の4種の新ナフトキノンの構造について速報した。



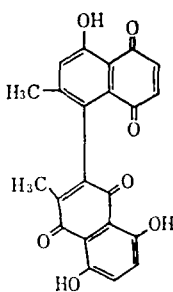
(I)



(II)



(III)



(IV)

蘇葉の研究 (第6報) *Perilla* 属植物の精油成分と品質について

伊東 宏: 薬誌, 90, 7 (1970)

Perilla 属植物 110検体の葉に含まれる精油成分をガスクロマトグラフィーで分析した結果, これらは主要成分として (1) Perillaldehyde と関連化合物, (2) furoylketone 誘導体, (3) phenylpropanoid そして (4) citral の4群に分類することができた。これらの結果から, 古文獻に記載されている臭が良く, アントシアニン色素を有している植物は少なくなっていることが明らかになった。芳香がある citral を含むものはほとんどが野生種であり, 蘇葉の原植物とは考えられず, また不快臭があり, その特有の構造から重合物になりやすい furoylketone 類もまた薬用には適していないと思われる。safrol と近似の構造を有する phenylpropanoid も毒性について問題があるといわれ, これら

を含むシソ類も薬用に適しているとは考えられない。なお, アントシアニン色素について特記すべき薬理効果があるとすれば別考の余地があるが, perillaldehyde と関連化合物を含む含量の高い系統のチリメンアオシソ, カタメンシソ, アオシソも充分薬用に供し得ると思う。

フランスの大気汚染の現状とその対策について

辻 楠雄: 産業公害, 6, 25 (1970)

パリにおける大気汚染, 特に一酸化炭素と二酸化イオウについての測定網の設置の方法, 測定技術, さらにそれらの結果について詳細に紹介した。一酸化炭素は市内317地区での平均値は 24.6 ppm で, 自動車の増加にかかわらず, 規制の効果があがり, その濃度は横ばい状態にある。二酸化イオウは $180 \mu\text{g}/\text{m}^3$ である。降下ばいじんは $786 \text{ g}/100 \text{ m}^2/\text{month}$ で, 年々減少の傾向にあるが, その中に含まれている発がん性物質の一つである3,4-ベンゾパイレンは $5.9 \text{ mg}/100 \text{ m}^2/\text{month}$ で増加の傾向である。

フランス政府は大気汚染防止のために, 1917年にすでに法律で規制が行なわれ, 1961年には罰則が設けられた。

水質および底質の衛生化学的研究 (第1報) 硝酸性窒素測定におけるフェノールジスルホン酸法の分光学的性状

佐谷戸安好, 安藤正典, 松井啓子, 外村正治: 衛生化学, 16, (6), 311 (1970)

最近, 工場排水あるいは都市下水の河川水あるいは湖沼水への混入により硝酸性窒素の測定上, 問題点が多く存在している。そこでフェノールジスルホン酸法について, 測定法として応用範囲を拡大するため種々の検討を行なった。すなわち, 本反応生成物の分光学的性状を調べ反応機構を明らかにすると共に, 本測定法の妨害イオンの除去についても検討した。

反応生成物について IR の吸収をみるに, SO_3H , NO_2 , OH 基が確認でき, また NMR でメタ位に H, UV でオルトニトロフェノールが確認された。これより硝酸性窒素とフェノールジスルホン酸の反応生成物は 6-ニトロ-2,4-フェノールジスルホン酸である。さらに $\text{NH}_3\text{-N}$, Ca^{++} , Mg^{++} , CN^- は本測定法に影響なく, $\text{NO}_2\text{-N}$ に対してはスルファミン酸の添加により, S^{2-} に対しては酢酸鉛の添加によって反応の妨害を除くことができる。

水銀の迅速定量分析法に関する研究

浮田忠之進*, 大沢利昭*, 井村伸正*, 外村正治,
佐谷戸安好, 中室克彦: 衛生化学, 16, 258 (1970)

総水銀定量において, 白金内ばり酸素ポンプを用いた試料を燃焼する際の燃焼条件, 得られた燃焼疎解溶液を原子吸光法 (ジチゾネート加熱分解法および還元気化法) で測定するための測定条件の検討を行なった。

試料疎解に用いたポンプ材質に起因する妨害イオンは認めなかった。また燃焼する際, 含水率の高い試料は五酸化リンによる脱水操作とメタノールを燃焼補助剤として添加することにより, ほぼ満足な燃焼効果を認めた。

原子吸光法はいずれも検量線 $0 \sim 0.5 \mu\text{g}$ の範囲で直線性を示し, 検出限界 $0.005 \mu\text{g}$ で従来法に比してはるかに高感度であった。

試料として血液, 毛髪, 臓器, 穀類, 野菜および底質等すべてにわたり回収率は良好であった。とくに疎解は短時間 (約20分) で終わり, 全測定操作を通じ満足な結果を得た。

* 東京大学薬学部

次亜塩素酸の人血球の機能にあたる影響について

佐谷戸安好, 安藤正典, 外村正治, 大沢利昭¹⁾, 豊島 聡²⁾, 外村 昌²⁾, 昭和 45 年度厚生科学研究報告 (1970), 衛生化学, 投稿中 第18巻13頁 (1972)

現在, 水道水の殺菌剤として液体塩素が一般に使用されている。この遊離塩素が日常生活において経口的あるいは経皮的に接触する機会は極めて多い。今回は生体細胞におよぼす遊離塩素の影響を調べる一つのモデル実験として, 人血球の機能にあたる次亜塩素酸の影響について検討を行なった。

すなわち, 赤血球は 1 ppm 以下の次亜塩素酸で溶血を起こす。また赤血球は *Lens culinaris* PHA あるいは *Lima bean* PHA を使用した場合, 次亜塩素酸によって血球凝集活性を上昇させ, これら PHA が結合する赤血球表面のレセプターを露出あるいはそのようなレセプター自身をこれら PHA の binding site に結合しやすいうように変化させる。さらに次亜塩素酸は人末梢血リンパ球の細胞表面に変化にあたえ PHA の stimulation がかりやすい状態にする。

1) 東京大学薬学部 2) 東京医科歯科大学

海水淡水化の水道利用に関する研究

佐谷戸安好, 松井啓子, 外村正治, 伴与一郎*, 山

口道雄*, 赤枝 宏*, 高橋克己*: 昭和 44 年度厚生科学研究報告 (1970), 衛生化学, 投稿中 17, 412 (1971)

多段フラッシュ法による海水淡水化装置によって生成された淡水を上水道として利用する場合, 水道水水質基準策定の資料をうる目的をもって昭和44年度に研究を行なった。研究対象としたのは長崎県池島M炭鉱の造水プラントで $2,650 \text{ ton/day}$ の造水能力を有する。海水淡水化において多段フラッシュ法による生成水の水質の実態および造水プラントへのスケール附着あるいは人為的汚染による海水を取水する場合の影響について検討した。

海水に硫酸を添加し 386.4 mmHg , 82.1° の条件で低圧蒸留を行ない $\text{pH } 6.5$ に補正した場合 $\text{NH}_3\text{-N}$ は添加量の 88% が留出してくるが, $\text{pH } 4.0$ においては完全にその留出を防止しスケールをも阻止しうる結果を得た。

またプラントにおける実験ではフラッシュ蒸留水の pH 平均 7.3 , Cl^- 1.11 ppm , SO_4^{2-} 2.17 ppm でブライン水がフラッシュ蒸留中にミストとして混入されることがきわめて少い結果を得た。

* 長崎県衛生研究所

食品油脂の変敗に関する研究 (第1報) 即席ラーメン中の油脂の変敗と毒性との関係

伊藤啓志男, 磯部公明, 関田 寛, 大沢誠喜, 武田明治, 田辺弘也, 長尾重之, 桑村 司: 食衛誌, 11, 268 (1970)

市販の即席ラーメンを変敗させて油脂の変敗度合とマウスに対する急性毒性との関係を検討した。

油脂の変敗度合の指標であるヨウ素価, 酸価, 過酸化価, カルボニル価および TBA 値は全般に変敗開始 6 週後から 8 週後にかけて大きな変動を示した。変敗が進行するにつれて, 油脂中のトリグリセリドは減少したが, 逆にシグリセリドは増加し, 変敗 5 週後にモノグリセリドおよび遊離脂肪酸が初めて検出された。

今まで変敗油脂による毒性は油脂の過酸化価と平行するといわれていたが, 著者らの今回の実験結果からは, 過酸化価が最高値を示した 7 週後では毒性は低く (致死率 20%), むしろ過酸化価の低下しはじめた 8 週後およびさらに低下した 14 週後の油脂に高い毒性 (致死率 100%) が認められた。

食品油脂の変敗に関する研究 (第2報) 即席ラーメン中の変敗油脂の脂肪酸組成の分析ならびに脂質分析

関田 寛, 大沢誠喜, 伊藤蒼志男, 田辺弘也: 食衛誌, 11, 275 (1970)

前報(食衛誌, 11, 268 (1970))と同様にして即席ラーメンを変敗させたのちに抽出した油脂についてエステル型および遊離型の脂肪酸に分け, 各々を水素炎イオン化型検出器付ガスクロマトグラフにて分析し, 組成比を求めた。

エステル型脂肪酸においては変敗7週以後, 遊離脂肪酸においては変敗6週以後に不飽和脂肪酸の比率が急激に減少し, 特にリノール酸の減少が著しく, ついでオレイン酸の減少が大きかった。また, ガスクロマトグラム上でステアリン酸のピークの直前に未知のピークが認められたが, これはリノール酸メチルの自動酸化生成物中に認められる8-ホルミルオクタン酸の保持時間と一致した。

さらに前報において, マウスに対して致死率の最も高かった変敗14週後の油脂についてフロリジルカラムによる脂質分画を行ない, 溶出画分のマウスに対する急性毒性を検討した結果, モノグリセリド・遊離脂肪酸混合画分に最も高い毒性が認められた。

塩化ジフェニルの動物組織からの抽出定量法ならびにシロネズミにおける体内分布

関田 寛, 大沢誠喜, 伊藤蒼志男, 田辺弘也: 食衛誌, 11, 361 (1971)

昭和43年の夏から秋にかけて北九州地に発生したカネミ米ぬか油による中毒の原因物質と考えられている塩化ジフェニルの動物組織からの抽出定量法ならびに塩化ジフェニルをシロネズミに投与した後の塩化ジフェニルの排泄量および体内分布を検討した。

塩化ジフェニル 2500 ppm 含有米ぬか油 2 ml を1回経口投与したのちのふんには, 投与量の約10%の塩化ジフェニルが排泄されたが, 尿からはまったく検出されなかった。

また, 塩化ジフェニル 2500 ppm 含有米ぬか油を2 ml ずつ7日間毎日経口投与したのちの塩化ジフェニルの体内分布は, 皮膚に最も多量に認められ, ついで筋肉, 腸, 肝, 脾, 肺にかなり認められたが, 心臓, 生殖器, 脾, 血液および脳からはほとんど検出されなかった。

油脂の変敗に関する研究(第4報) リノール酸メチルハイドロパーオキシライドの分解

天野立爾: 食衛誌, 11, 439 (1970)

自動酸化リノール酸メチルからリノール酸メチルハ

イドロパーオキシライド (ML-HPO) を分離した。この ML-HPO は過酸化物質 (POV) による純度が94%以上であった。

この ML-HPO は空気中あるいは窒素中に 25° で放置すると分解し, 共役ジエン量および POV が減少した。とくに空気中での分解物中には GLC で分析すると8-ホルミルオクタン酸メチル (MFO) が検出された。

ML-HPO およびその還元物であるオキシ共役ジエン酸メチル (HODE) は 45° でどちらも約1モルの酸素を吸収した。この酸化過程において ML-HPO の POV および共役ジエン量は酸素の吸収量に比例して減少した。MFO の生成量は多く, ML-HPO 1 モルから最大量 0.393 モルの MFO が検出された。また HODE の酸化物中からも MFO が検出された。

アセチルアセトンを用いる食品中のホルムアルデヒドのけい光分析

内山貞夫, 岩尾 操, 近藤龍雄, 田辺弘也: 食衛誌, 11, 249 (1970)

アセチルアセトンを用いた Hantzsch 反応による食品中のホルムアルデヒドのけい光定量法を確立した。測定範囲はホルムアルデヒドとして試験溶液中 0.05~0.5 $\mu\text{g/ml}$ であり, 従来法より微量で操作もしやすく, 励起, けい光波長の λ_{max} から同時により正確な同定もできた。この反応におけるほかの物質の影響を詳細に検討し, いくつかの食品中のホルムアルデヒドの定量と同定に応用した。

デンプングリコール酸ナトリウムの生化学的分解に関する研究(第4報) 低分子分解物の二次分解について

林 敏夫: 食衛誌, 11, 264 (1970)

デンプングリコール酸ナトリウムはアミラーゼにより分解され, 種々の重合度を有する分解物を生ずるが, このうち, 分子量のもっとも小さい部分(平均重合度 7.5)を分離し, これに α -アミラーゼ (*B. subtilis*), タカジアスターゼ, パンクレアチン, β -アミラーゼ, ヒト唾液アミラーゼを作用させた。その結果, 上記酵素による分解はほとんど認められなかった。これはおそらくグリコール酸基により分解を阻害されたためと思われる。別に同じ低分子物質について塩酸分解を行なったところ, グルコース残基 1~4 のものが検出された。これらを分画精製したものは, いずれもカルボキシメチル基の存在が確かめられた。またその置換度は 0.71~1.03であった。

清涼飲料水中の臭素化油試験法について

林 敏夫：食品衛生研究，20，1207 (1970)

臭素化油はジュースなどに添加される香料の比重調整剤として用いられ、ジュースなどの中に 60~80 ppm 程度存在していたが、本品の使用禁止が考えられるに至ったので、その定性法を検討した結果、つぎの方法により好結果を得た。

試料から *n*-ヘキサンにより臭素化油を抽出し、*n*-ヘキサン層を集めて濃縮し約 1 ml とする。これを脱脂綿に吸収させ、酸素燃焼フラスコを用いて燃焼させて発生する臭素をあらかじめフラスコ中に入れておいた 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液に吸収させる。この液 3 ml をとり、酢酸で中和した後フルオレッセイン飽和溶液 2 滴、氷酢酸、過酸化水素水混液 (10:1) 1 滴を加え、水浴上で乾固するとき、残留物は臭素の存在により紅色を呈する。

本法による検出限度は試料について臭素として 0.8 ppm (臭素化油として約 2 ppm) であった。

牛乳中の残留抗生物質の検討

慶田雅洋：臨床栄養，38，200 (1971)

農業の機械化、近代化の進展に伴い、酪農業界でも搾乳が手しぼりから機械搾乳に変わりつつある。機械搾乳は能率的であるばかりでなく、器具の殺菌を完全に行なえば衛生的にも優れた方法である。しかしながら、機械搾乳の普及とともに乳牛の乳房炎が増加している。乳房の大きさは一様ではないので、定まった大きさのカップをはめ込むために炎症を起こす場合、画一的に多数の乳房から吸引するために空引きしたり、または逆に多量の残乳を生じて乳房の炎症を生ずることが原因としてあげられる。乳房炎菌は一種の連鎖球菌であり、罹病した牛は乳量が少なく間隔的になり、牛乳の組成がアンバランスとなり加熱、酒精等に対して不安定となる。

しかしながら、ペニシリンを主体とした抗生物質の乳房への直接注入により完全に治癒することができる。このために 1950 年代に酪農先進国における牛乳中の残留抗生物質が問題となり、その国民の健康に及ぼす影響、ことに耐性菌の出現およびアレルギー反応の問題などについて医学的な立場から警告が行なわれ、その残留を零とするためのコントロールシステムが確立された。残留抗生物質の検出法としては、微生物試験法および標識色素法が広く行なわれている。

はちみつ類の化学的検査法について

慶田雅洋：食衛誌，11，486 (1970)

食品としてはちみつの還元糖の定量法、みかけのしよ糖含量の測定法、5-オキシメチルフルフラールの測定による人工転化糖の添加の鑑別法、でん粉およびデキストリンの検出法について示した。

バター脂肪に対する栄養学的評価

慶田雅洋，津郷友吉*：食衛誌，11，334 (1970)

バター脂肪のみを脂肪源としてアテローム性動脈硬化患者に給与した場合に、血液中のコレステリン含量は低下することが実験的に確かめられている。コレステリンは生体内で副腎皮質ホルモン、性ホルモンおよび神経組織の隔離物質などの材料として必要であり、肝臓において食物としての摂取量の数十倍が生産されている。動脈硬化患者のアテロームの成分としてコレステリンが認められることは事実であるが、これは動物脂肪の成分としてのコレステリンの摂取とは関係ないものと推定される。統計的にみると、アテローム性動脈硬化症は炭水化物、とくに砂糖の摂取量と密接な関係のあることが証明されている。

* 東京大学農学部

Bacillus calidolactis を使用したペーパーディスク法による牛乳中のペニシリンの検出法について

慶田雅洋，津郷友吉*：食衛誌，11，389 (1970)

B. stearothermophilus var. *B. calidolactis* C 953 NIZO 株を供試菌株として使用して、ペーパーディスク法により牛乳中のペニシリンを検出する方法について検討した。ペーパーディスクは直径 8 mm のものを使用し、pH 8.0 のトリプトン・グルコース寒天培地を使用して平板上で $55 \pm 1^\circ$ で 2.5~5 時間培養した場合に、0.001 IU/ml 以上のペニシリン濃度において明瞭な阻止門が認められた。9 cm のペトリ皿らを使用した場合には、1 枚で同時に 4 検体の牛乳の試験を行なうことができる。

本法は T.T.C. 試験にくらべて感度が約 10 倍高いのみならず、測定結果が供試牛乳の性質によって影響されないという利点がある。

* 東京大学農学部

乳脂肪のライヘルトマイスル価およびボレンスケ価について

慶田雅洋，長尾昭雄*，津郷友吉*：食衛誌，11，52

(1970)

ライヘルトマイスル価およびポレンスケ価はそれぞれ一定の条件下で留出する水溶性および不溶性揮発性脂肪酸量を測定するものであるから、測定条件によってある程度異なった結果が得られることが考えられる。純乳脂肪を使用して国際酪農連盟 (IDF) 標準法、A.O.A.C. 公定法 および日本薬学会協定法により測定した結果、ライヘルトマイスル価はほぼ一致した値が得られたが、ポレンスケ価では日本薬学会協定法ではやや高い値が得られた。植物油脂についての測定値はやし油の R.M.W. : 6.4, Pol. : 15.1, パーム核油の R.M.W. : 4.3, Pol. : 7.9, パーム油の R.M.W. : 0.6, Pol. : 0.6, カボック油では R.M.W. : 0.2, Pol. : 0.6 であった。

乳脂肪のライヘルトマイスル価の範囲は24.8以上、ポレンスケ価はライヘルトマイスル価にしたがって0.6~3.7以下と定めるのが適当であると考えられる。市販バター38種類について酢酸フィステロール試験の成績と比較した結果、両法で陽性と判定されたもの7検体、酢酸フィステロール試験のみ陽性のもの2検体であった。ライヘルトマイスル価およびポレンスケ価の測定は異種脂肪の検出のための補助的方法として使用することできる。

* 東京大学農学部

文学と食品学

慶田雅洋：興文 (川村短期大学紀要)，第七輯，p 41 (1970)

わが国の文芸作品に取り上げられた食品学および食品衛生学上の問題について比較研究した。

牛乳中のペニシリンの検出法について

慶田雅洋，海老根涼子，谷村顕雄：食品衛生研究，20，382 (1970)

牛乳のペニシリンの検出法に関してこれまでに報告された固形培地法6種，液体培地法3種類について，方法の実用性，感度などについて検討した結果，*Bacillus stearothermophilus* var. *B. calidolactis* C953 株を使用するディスク法がもっとも優れていることを認めた。

ティーパックの衛生学的研究

神蔵美枝子：昭和45年度厚生科学研究報告

ティーパック製品は主として紅茶に限られていたが，近年，緑茶あるいはむぎ茶にまで進出し，これらは団

体給食用として普及しつつある。このようにティーパック製品の利用が高くなると，当然，溶出物に対する衛生的な面での関心がもたれてくる。そこで，ティーパックに使用される原料紙の使用実態ならびにこれら原料紙からの溶出物についての調査研究を行なった。

浸出用溶液として蒸留水，4%酢酸，50%エタノールを用い，浸出温度ならびに時間の検討を行ない，それぞれの浸出液について分析を行なったところ，ホルムアルデヒド，重金属，蒸発残留物，過マンガン酸カリウム消費量についてはいずれも合成樹脂製の器具および容器包装の規格以下であった。しかし，材質中からはわずかながら銅，鉛，亜鉛が検出された。なお，けい光染料はいずれの試料からも検出されなかった。

Japanese Hyphomycete Notes. III

M. ICHINOE: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 10, 110 (1970)

不完全菌，Hyphomycetes に属する本邦未知の菌 *Ceratosporium fuscescens* Schweinitz, *Pleurophragmium* state of *Melanomma subdispersum* (Karst.) Berlese & Voglino, *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) M.B. Ellis, *Stachybotrys cylindrospora* Jensen および *Staphylotrichum coccosporum* Meyer & Nicot について記載，図示し類縁菌について論議した。

Japanese Hyphomycete Notes. IV

Some Helicosporous Hyphomycetes in Japan

M. ICHINOE and H. KUME: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 11, 98 (1970)

不完全菌，Hyphomycetes に属する菌のうちラセン形の特異な孢子形態を有する6種の菌について記載，図示した。*Helicoma intermedium* (Penz. & Sacc.) Linder, *H. monilipes* Ellis & Johnson, *H. olivaceum* (Karst.) Linder, *Helicosporium lumbricoides* Sacc. および *H. ramosum* Talbot のうち *H. lumbricoides* を除いては原著者以来初めての分離例であり，またいずれも本邦未記録の菌である。

ウィンナーソーセージの保存性に関する衛生細菌学的研究

合成殺菌料，保存料添加による保存効果

鈴木 昭，小沼博隆：食衛誌，12，(1)，9 (1971)

ウィンナーソーセージの保存性に対する AF-2 および SOA の添加効果について実験室規模で製造した供試

品について検討した。

1. 供試品のネット発生の有無, 官能試験, 細菌数測定 (30° 値, 10° 値), pH の測定および主要細菌叢の観察結果から AF-2+SOA+pH 低下剤添加品 → AF-2+SOA 添加品 → SOA 添加品, → AF-2 添加品 → 無添加品となるに従い保存性が減弱され, AF-2+SOA+pH 低下剤のものが最もよい効果を示し, その場合の至適 pH は 5.9 であった。

2. AF-2+SOA+pH 低下剤添加品と無添加品とでは明らかに細菌叢が異なり, 前者では *Lactobacillus* が圧倒的に優勢であり, 後者では, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus* が主体をなし, 保存日数の増加とともに *Alcaligenes* が増加した。

Studies on the Regulation of the Activity of Drug Oxidation in Rat Liver Microsomes by Androgen and Estrogen

Ryuichi KATO, Kinichi ONODA: *Biochem. Pharmacol.*, 19, 1649 (1970)

Castration of male rats decreases the activities of aminopyrine N-demethylation and hexobarbital hydroxylation, whereas it increases the apparent K_m values. The administration of testosterone or methyltestosterone to castrated male rats increases the hydroxylating activities of the drugs, whereas it decreases the apparent K_m values. The simultaneous injection of estradiol or diethylstilbestrol counteracts the actions of the androgens. Castration of male rats results in a decrease in the magnitude of spectral changes of P-450, which indicate substrate binding with P-450, induced by aminopyrine and hexobarbital and increases the apparent spectral dissociation constant (K_i) values for aminopyrine and hexobarbital. The administration of testosterone or methyltestosterone to castrated male rats increases the magnitude of substrate-induced spectral changes and decreases the apparent K_i values. The simultaneous injection of estradiol or diethylstilbestrol counteracts the actions of the androgens.

These alterations of the apparent K_i values for aminopyrine and hexobarbital-induced spectral changes are parallel to those of the apparent K_m values for the aminopyrine N-demethylation

and hexobarbital hydroxylation. These results suggest that androgens increase the affinity of P-450 for the binding with substrates and estrogens directly counteract the action of androgen, consequently the alteration of the activities of drug oxidations may occur.

Effect of Morphine Treatment and Starvation on the Substrate Interaction with P-450 in the Oxidation of Drug by Liver Microsomes

Ryuichi KATO, Kinichi ONODA, Michitada SASAJIMA: *Jap. J. Pharmacol.*, 20, 194 (1970)

The administration of morphine to male rats markedly decreased the magnitude of spectral change induced by hexobarbital and aminopyrine in liver microsomes. The decrease in the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital and aminopyrine was assumed to be a responsible factor. With aniline and zoxazolamine the binding capacity of cytochrome P-450 was not significantly affected by the treatment with morphine. In contrast with male rats, the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital and aminopyrine was not affected by the treatment with morphine in female rats. Similar pattern of the alterations in the binding capacity of cytochrome P-450 was observed in microsomes from fasted rats.

In male rats, castration decreased the binding capacity for hexobarbital and aminopyrine and this was restored by treatment with methyltestosterone. The administration of morphine did not cause a further decrease in the binding capacity in castrated rats, while a clear decrease was caused in the methyltestosterone-treated castrated rats.

The K_m value for hexobarbital hydroxylation and the K_i (spectral dissociation constant) value for the hexobarbital-induced spectral change were both increased in microsomes from morphine-treated rats, whereas both values for aniline were not altered.

These results suggest that the decrease in the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital and aminopyrine is due to the decrease

in the oxidation of drugs by liver microsomes from morphine-treated male rats. And, the impairment of the androgen-dependent regulatory mechanism for the binding capacity of cytochrome P-450 seems to be a responsible factor for the decrease in the binding capacity of P-450 for hexobarbital and aminopyrine in morphine-treated male rats.

Effect of Stress on Formation of Stomach Tumor in Rats by N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

Atsushi TAKAHASHI, Kinichi ONODA, Kunio KAWASHIMA, Ryuichi KATO and Yoshihito OMORI: *Gann*, **61**, 295 (1970)

In the present experiments, effect of stomach ulcer on the formation of stomach tumor by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (NG) was investigated in rats by the formation of stomach ulcer through an acute stress. At 46 weeks of NG administration, solid tumors in glandular stomach were observed in all the rat in the groups of stress plus 30 mg/l of NG and stress plus 90 mg/l of NG dosing, but no tumor was found in other groups.

These preliminary experiments indicate that stress may promote the induction of glandular stomach tumor by NG probably through the formation of stomach ulcer.

Decrease in the Substrate Interaction with Cytochrome P-450 in Drug Hydroxylation by Liver Microsomes from Rats Bearing Walker 256 Carcinoma

Ryuichi KATO, Akira TAKANAKA, Atsushi TAKAHASHI: *Gann*, **61**, 359 (1970)

The magnitude of spectral change induced by hexobarbital, aminopyrine, or aniline in liver microsomes from male and female rats bearing Walker 256 carcinoma was investigated. Such a change induced by all three drugs was markedly decreased in tumor-bearing male and female rats. Since the decrease in spectral change is similar to that in the activity of drug oxidation, the decrease in the substrate binding

with cytochrome P-450 is assumed to be a factor responsible for the decrease in the oxidation of drugs in tumor-bearing rats.

The decrease in hexobarbital- or aminopyrine-induced spectral change in tumor-bearing male rats was due to the decrease in the content of P-450 and the binding capacity of P-450 for hexobarbital or aminopyrine. On the other hand, the decrease in hexobarbital- or aminopyrine-induced spectral change in tumor-bearing female rats and that in aniline-induced spectral change in tumor-bearing rats of both sexes were due mainly to the decrease in the content of P-450.

The inability of testosterone treatment to prevent the decrease in the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital suggests that the action of testosterone to increase the binding capacity of P-450 for hexobarbital may be impaired in tumor-bearing rats.

Effect of Morphine Administration on the Hydroxylation of Steroid Hormones by Rats Liver Microsomes

Ryuichi KATO, Atsushi TAKAHASHI, Takao OSHIMA and Eikichi HOSOYA: *J. Pharmacol. Exptl. Ther.*, **174**, 211 (1970)

The effect of morphine administration on progesterone and testosterone hydroxylation by liver microsomes of male and female rats was investigated. The administration of morphine significantly decreased the content of cytochrome P-450 in male rats, but not in female rats. Progesterone and testosterone hydroxylation is markedly decreased in morphine-treated male rats, but not in the females. In agreement with those results, the magnitude of the spectral changes induced by progesterone and testosterone is decreased only in morphine-treated male rats, but not in the females. Castration in male rats decreased the magnitude of spectral changes and hydroxylating activities for progesterone and testosterone, and the administration of testosterone to castrated rats restored these values to the level observed in intact male

rats. The magnitude of spectral change and hydroxylating activity for progesterone and testosterone in castrated male rats was not decreased by morphine treatment, but was markedly decreased in testosterone-treated castrated rats. Therefore, the ratios of the hydroxylating activity for progesterone and testosterone to the magnitude of the spectral changes are not significantly affected in morphine-treated male and female rats. These results indicate that the decrease in the magnitudes of the spectral changes is related to the decrease in the hydroxylation of steroid hormones. The magnitude of spectral change induced by progesterone or testosterone per unit of P-450 content was decreased in morphine-treated male rats, but not in the females. Since the binding capacity of P-450 with progesterone or testosterone is dependent on the action of androgen, an impairment of the action of androgen by morphine is assumed to be a responsible factor.

Substrate-induced Spectral Change of Liver Microsomes in Phenobarbital and Methylcholanthrene-treated Male and Female Rats

Ryuichi KATO, Akira TAKANAKA and Michiko TAKAYANAGI: *J. Biochem.*, 68, 387 (1970)

The effects of administration of phenobarbital and methylcholanthrene to rats on the substrate-induced spectral changes of liver microsomal P-450 were investigated.

The administration of phenobarbital increased the content of P-450 and the magnitudes of hexobarbital, aminopyrine, aniline and zoxazolamine-induced spectral changes and oxidation of the drugs by liver microsomes.

The activities to hydroxylate hexobarbital and aniline and to N-demethylate aminopyrine per the magnitudes of the substrate-induced spectral changes were decreased in microsomes isolated from phenobarbital treated rats, whereas the zoxazolamine hydroxylation activity per the magnitude of the spectral change was increased.

The administration of methylcholanthrene to male rats increased the content of P-450, whereas

the magnitudes of spectral changes induced by hexobarbital and aminopyrine were decreased in accordance with the decreases in the activities of hexobarbital hydroxylation and aminopyrine N-demethylation. In contrast, the magnitudes of aniline and zoxazolamine-induced spectral changes and aniline and zoxazolamine hydroxylations were markedly increased in methylcholanthrene-treated rats.

These results suggest that the difference in the effects of methylcholanthrene is not due to the difference in the type of spectral change, but it may be related to the difference in the degree of androgen dependence in the magnitude of the spectral changes.

On the other hand, the administration of methylcholanthrene to female rats decreased the magnitudes of hexobarbital and aminopyrine-induced spectral changes, but the metabolisms of those drugs were not significantly affected.

Marked alteration in the shape of the difference spectra induced by hexobarbital, aminopyrine and zoxazolamine was observed in microsomes isolated from methylcholanthrene-treated rats. The administration of phenobarbital did not alter the K_m and K_s (spectral dissociation constant) values for the hexobarbital hydroxylation and spectral change, but increased the K_m value for aniline hydroxylation.

The K_m value for the aniline hydroxylation was markedly increased in microsomes isolated from methylcholanthrene-treated rats, in contrast the K_s value for aniline-induced spectral changes was decreased. On the other hand, the K_m and K_s values for the hexobarbital hydroxylation and spectral change were not affected by methylcholanthrene treatment. The mechanism of methylcholanthrene-induced alterations of the spectral changes and drug oxidations is discussed.

Effect of Adrenalectomy on the Substrate Interaction with Cytochrome P-450 in the Hydroxylation of Steroid Hormones by Liver Microsomes

Ryuichi KATO, Atsushi TAKAHASHI, Kinichi

ONODA and Yoshihito OMORI: *Endocrinol. Jap.*, 17, 207 (1970)

Adrenalectomy in male rats slightly decreased cytochrome P-450 content in liver microsomes. The magnitude of testosterone-induced spectral change and the hydroxylating activity for testosterone by liver microsomes were markedly decreased to a similar extent in adrenalectomized male rats. Similar results were obtained, when progesterone was used as the substrate. The magnitude of testosterone- or progesterone-induced spectral change per unit of P-450 was also decreased in the adrenalectomized males. These results suggest that the binding capacity of cytochrome P-450 for testosterone or progesterone was decreased after adrenalectomy.

In contrast to the results obtained with male rats, the binding capacity of cytochrome P-450 and the hydroxylating activity for testosterone or progesterone were not significantly decreased in the adrenalectomized females. Similarly, the binding capacity of P-450 and the hydroxylating activity for testosterone or progesterone were not significantly decreased by adrenalectomy in castrated male rats and male and female mice. However, adrenalectomy in castrated and testosterone-treated male rats produced the effects similar to those observed in the intact male rats.

These results indicate that the action of androgen to increase the binding capacity of cytochrome P-450 for steroid hormone was impaired in the adrenalectomized rats and consequently the hydroxylating activity for steroid hormones by liver microsomes was decreased.

Mechanism of Thyroxine-induced Increase in Steroid Δ^4 -Reductase Activity in Male Rats

Ryuichi KATO, Kinichi ONODA and Yoshihito OMORI: *Endocrinol. Jap.*, 17, 215 (1970)

The administration of thyroxine increased the activity of hepatic microsomal Δ^4 -reductase for testosterone and hydrocortisone in male rats. In contrast, the thyroxine treatment slightly decreased the hepatic microsomal steroid Δ^4 -reductase activity in female rats. The Δ^4 -

reductase activity of liver supernatant fraction of male and female rats was not affected by the thyroxine treatment. Castration markedly increased the microsomal steroid Δ^4 -reductase activity in male rats and treatment with testosterone depressed the steroid Δ^4 -reductase activity to the level of intact male rats. The administration of thyroxine into these castrated and castrated plus testosterone-treated rats did not increase the activity of microsomal steroid Δ^4 -reductase.

On the other hand, there was no sex difference in the activity of hepatic microsomal steroid Δ^4 -reductase in mice and the thyroxine treatment slightly decreased the steroid Δ^4 -reductase activity both in male and female mice.

These results suggested that the increase in the steroid Δ^4 -reductase activity in hepatic microsomes of male rats by the thyroxine treatment may be related to an impairment of androgen-induced decrease in the steroid Δ^4 -reductase activity in rat liver microsomes.

Elimination, Tissue Accumulation and Metabolic Fate of 4-Nitroquinoline-1-oxide Administered Orally in Rats

Ryuichi KATO, Atsushi TAKAHASHI, Wantana NGAMWATANA and Yoshihito OMORI: *Gann*, 61, 415 (1970)

The distribution of ^3H -labeled 4-nitroquinoline 1-oxide in several vital organs was studied by a tracer technique after its oral administration. The administered radioactivity was excreted through both the fecal and urinary routes. At 24 hr after dosing, the highest radioactivity was found in the stomach tissues and this tissue also accumulated greater radioactive substances than any other tissue for a long time. The radioactivity in the forestomach was about 82% of the total radioactivity in the stomach tissue and the specific activity was significantly higher in the mucosa of forestomach than in the muscle tissue of forestomach, and the mucosa and muscle of glandular stomach. Thin-layer chromatography of extracts of each tissue with acidic

ethanol showed that the radioactivity was very low in the 4-nitroquinoline 1-oxide fraction and high in 4-aminoquinoline 1-oxide fraction. The treatment of tissues from rats dosed ^3H -4-nitroquinoline 1-oxide 24 hr previously, with trichloroacetic acid, organic solvents, and a proteolytic enzyme showed that the radioactivity interacted with proteins, and nucleic acids in the tissues was higher in the stomach tissue than in the liver and intestine.

Different Effect of Aflatoxin on the Induction of Tryptophan Oxygenase and of Microsomal Drug-hydroxylase System

Ryuichi KATO, Akira TAKANAKA, Kinichi ONODA and Yoshihito OMORI: *J. Biochem.*, **68**, 589 (1970)

In the present communication, different effect of aflatoxin on the induction of tryptophan oxygenase, tyrosine aminotransferase and microsomal drug-hydroxylase system in rat liver was investigated.

The administration of aflatoxin B_1 (6 mg/kg) inhibited the increase in tryptophan oxygenase activity induced by hydrocortisone, but did not affect the increase by tryptophan. In addition, aflatoxin inhibited the induction of tyrosine aminotransferase by hydrocortisone.

On the other hand, the administration of aflatoxin B_1 (6 mg/kg) did not affect the induction of P-450 content, hexobarbital hydroxylating activity and hexobarbital-induced spectral change by phenobarbital. Similarly, aflatoxin did not affect the induction of zoxazolamine hydroxylating activity and zoxazolamine-induced spectral change by methylcholanthrene.

These different effect of aflatoxin between on the induction of tryptophan oxygenase and tyrosine aminotransferase by hydrocortisone and on the induction of microsomal drug-hydroxylase system by phenobarbital and methylcholanthrene was discussed.

Effects of Thyroid Hormone on the Hydroxylation of Progesterone in Liver Microsomes of

Male and Female Rats

Ryuichi KATO, Atsushi TAKAHASHI and Yoshihito OMORI: *J. Biochem.*, **68**, 603 (1970)

Progesterone hydroxylation activity of liver microsomes was investigated in male and female rats under altered states of thyroid function. Treatment with thyroxine markedly decreased the activity of progesterone hydroxylation by liver microsomes in male rats, but did not significantly alter the activity in female rats. In contrast, the conversion of progesterone to Δ^4 -reduced metabolites was increased by treatment of male rats with thyroxine. Thyroidectomy also markedly decreased the progesterone hydroxylating activity in male rats, but did not decrease in female rats. The content of P-450 per microsomal protein and the magnitude of progesterone-induced spectral change per microsomal protein and per P-450 were decreased in thyroxine-treated male rats, but similar changes were not observed in thyroidectomized male rats.

From these results it is conceivable that the progesterone hydroxylating activity may be reduced through the decrease in the content of P-450 and the substrate interaction with P-450 in liver microsomes from thyroxine-treated male rats, whereas in those from thyroidectomized rats, the hydroxylating activity may be reduced through the decrease in the reduction of P-450 binding to the substrate.

These results indicated that the effects of thyroxine treatment and thyroidectomy on the progesterone hydroxylating activity in liver microsomes of male and female rats were similar to those on the activities of aminopyrine N-demethylation and hexobarbital hydroxylation which are regulated by androgen. On the basis of these results, mechanism(s) of decrease in the progesterone hydroxylating activity in thyroxine-treated and thyroidectomized male rats is discussed.

Effect of Thyroid Hormone on the Substrate Interaction with P-450 in the Oxidation of Drugs by Liver Microsomes

Ryuichi KATO, Akira TAKANAKA and Atsushi TAKAHASHI: *J. Biochem.*, 68, 613 (1970)

The administration of thyroxine to male rats decreased the content of P-450 and the magnitude of spectral change of P-450 induced by various drugs in hepatic microsomes.

The magnitudes of spectral changes per P-450 induced by hexobarbital and aminopyrine were decreased, whereas those induced by aniline and zoxazolamine were not significantly affected.

In contrast to the results observed with male rats, the magnitudes of the spectral changes induced by hexobarbital and aminopyrine were not significantly decreased in microsomes from thyroxine-treated female rats.

These results suggest that the binding capacity of P-450 with hexobarbital and aminopyrine was decreased by thyroxine probably through an impairment of androgen action to increase the binding capacity of P-450. The decrease in the binding capacity of P-450 with hexobarbital and aminopyrine is assumed to be a responsible factor for the decrease in the activities of hexobarbital hydroxylation and aminopyrine N-demethylation.

Since the ratios of the hydroxylating activities of the drugs to the magnitudes of spectral changes were increased in microsomes from thyroxine-treated rats, the increase in the rate of the reduction of P-450-drug complex has been suggested.

Thyroidectomy did not affect the content of P-450, but decreased the binding capacity of P-450 with hexobarbital and aminopyrine in the males.

Since the ratios of the hydroxylating activities of the drugs to the magnitudes of spectral changes were decreased in microsomes from thyroidectomized rats, the decrease in the rate of the reduction of P-450-drug complex has been suggested.

The K_m (Michaelis constant) values and K_i (spectral dissociation constant) values for hexobarbital were increased in microsomes from thyroxine-treated male rats, whereas the K_m

and K_i values for aniline were not affected.

Since the K_m and K_i values for hexobarbital are clearly dependent on androgen, these results again suggest the impairment of androgen action in thyroxine-treated male rats.

Decreased Hydroxylation of Steroid Hormones by Liver Microsomes from Rats Bearing Walker Carcinoma 256

Ryuichi KATO and Atsushi TAKAHASHI: *Cancer Res.*, 30, 2346 (1970)

The hydroxylating activities of liver microsomes for progesterone and testosterone were markedly decreased in male and female rats bearing Walker carcinoma 256. The decreases in the hydroxylating activities were greater in the male rats than in the female rats. The content of cytochrome P-450 in liver microsomes was decreased in the tumor-bearing male and female rats. Moreover, the binding capacity of P-450 with progesterone and testosterone was decreased in the liver microsomes from tumor-bearing male rats, but not in those from female rats. The administration of 17-methyltestosterone to the tumor-bearing male rats did not prevent the decrease in the binding capacity of P-450 or in the hydroxylating activities for progesterone and testosterone.

These results appear to correlate the decrease in the hydroxylating activities for steroid hormones in the male rats with the decrease in the content of P-450 and the binding capacity of P-450 with steroid hormones, while the decrease in the female rats is correlated with the decrease in the content of P-450. Since the binding capacity of P-450 for steroid hormones is regulated by androgen, these results suggest that the ability of androgen to cause an increase in the binding capacity of P-450 appears to be impaired in the tumor-bearing male rats.

Species Difference in Drug Metabolism by Liver Microsomes in Alloxan Diabetic or Fasted Animals. I. The Activity of Drug-metabolizing Enzymes and Electron Transport System
Ryuichi KATO, Kinichi ONODA and Akira TAKA-

NAKA: *Jap. J. Pharmacol.*, 20, 546 (1970)

The hexobarbital hydroxylation and aminopyrine N-demethylation by liver microsomes were decreased only when male rats were subjected to alloxan diabetes or starvation, but such decreases were not observed in male mice and rabbits and in the female animals. The aniline hydroxylation by liver microsomes was rather increased in all animals subjected to the alloxan diabetes or starvation. These results suggested that the species difference which was observed between male rats, and male mice and rabbits concerning the effect of the alloxan diabetes or starvation on the hexobarbital hydroxylation and aminopyrine N-demethylation is related to the sex difference in these activities in liver microsomes of the intact rats. The oxidative activities in liver microsomes of male rats are stimulated by androgen and this stimulating mechanism has been supposed to be blocked by the alloxan diabetes or starvation. Since the androgen-dependent stimulating mechanism is absent in mice and rabbits, it is reasonable that the hexobarbital hydroxylation was not decreased in liver microsomes from the diabetic male mice and rabbits. The aniline hydroxylation is almost independent upon the androgen action, therefore it is reasonable that the aniline hydroxylation was not decreased in the microsomes from all animals studied. The hexobarbital hydroxylation per unit of cytochrome P-450 was decreased only in liver microsomes from the diabetic and fasted male rats and these results suggested a decreased in the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital in these rats.

Species Difference in Drug-metabolism by Liver Microsomes in Alloxan Diabetic or Fasted Animals. II. The Substrate Interaction with Cytochrome P-450 in Drug Oxidation

Ryuichi KATO, Kinichi ONODA and Akira TAKA-NAKA: *Jap. J. Pharmacol.*, 20, 554 (1970)

The magnitude of spectral change per unit of protein induced by hexobarbital was significantly decreased in liver microsomes from alloxan dia-

betic male rats, but it was increased in those from the diabetic female rats. On the other hand, the magnitude of the spectral change was not significantly affected in liver microsomes from the diabetic male and female mice. Starvation resulted in the increase in the magnitude of the spectral change in the microsomes of female rats, but it did not result in any significant change in the microsomes of male rats and both sexes of mice and rabbits.

However, the magnitude of the spectral change per unit of cytochrome P-450 was decreased only in the microsomes from the diabetic or fasted male rats and it was not significantly affected in the other species of animals. These results indicated that the alloxan diabetes or starvation decreased the binding capacity of cytochrome P-450 with hexobarbital in liver microsomes of male rats, but not in those of male mice and rabbits.

On the other hand, the magnitude of spectral change of cytochrome P-450 induced by aniline was increased in the microsomes from the diabetic rats and fasted rats and mice, but it was not significantly altered in those from the diabetic mice and fasted rabbits. However, the magnitude of the spectral change per unit of cytochrome P-450 was not affected in liver microsomes from the diabetic or fasted animals.

These results are in accordance with our postulation that the decrease in the binding capacity of cytochrome P-450 for hexobarbital in liver microsomes from the diabetic or fasted male rats is caused through an impairment of the ability of androgen to stimulate the binding capacity of cytochrome P-450 with hexobarbital.

Strain Differences in the Metabolism and Action of Drugs in Mice and Rats

Ryuichi KATO, Kinichi ONODA and Akira TAKA-NAKA: *Jap. J. Pharmacol.*, 20, 562 (1970)

1. The strain difference in the hexobarbital and aniline hydroxylations, aminopyrine, diphenhydramine and N-methylaniline N-demethylations and *p*-nitrobenzoic acid nitroreduction by liver microsomes from the Wistar, Ōsawa,

Donryu, Buffalo, Long-Evans and Sprague-Dawley rats was investigated. No marked strain difference was observed in the activity of drug-metabolizing enzymes. In general, the activity of the Buffalo and Sprague-Dawley rats was slightly lower than that of the Wistar rats. The marked sex difference was observed in the hexobarbital hydroxylation and aminopyrine, diphenhydramine and N-methylaniline N-demethylations, but the magnitude of the sex difference is apparently smaller in the Buffalo, Long-Evans and Sprague-Dawley rats. In addition, clear strain difference was not observed in the hexobarbital anesthesia.

2. The strain difference in the hexobarbital and aniline hydroxylations, aminopyrine N-demethylation, strychnine oxidation and *p*-nitrobenzoic acid nitroreduction by liver microsomes from the dd, ICR, C₅₇Bl and C₃H mice was investigated. There was some strain difference in the activity of drug-metabolizing enzymes and the activity of the male C₃H mice was generally lower than that of the male dd mice. The hexobarbital hydroxylation and strychnine oxidation were higher in the C₅₇Bl mice than in the dd mice. Only the C₃H mice showed significant sex difference in the hexobarbital hydroxylation and strychnine oxidation. In accordance with the rate of drug metabolism, the duration of hexobarbital anesthesia was shorter in the C₅₇Bl mice than in the dd mice and strychnine toxicity was lower in the C₅₇Bl mice than in the dd mice. A moderate sex difference was observed in the duration of hexobarbital anesthesia and strychnine toxicity in C₃H mice.

Studies on Age Difference in Mice for the Activity of Drug-metabolizing Enzymes of Liver Microsomes

Ryuichi KATO, Akira TAKANAKA and Kinichi ONODA: *Jap. J. Pharmacol.*, 20, 572 (1970)

1. The activity of liver microsomal drug-metabolizing enzymes was investigated in young (5 weeks old), adult (15 weeks old) and old (50 weeks old) mice.

2. The ratio of liver weight to body weight of the adult and old mice was smaller by 14% and 23%, respectively, than that of the young mice, but there was no practical age difference in the contents of microsomal protein and cytochrome P-450.

3. The administration of phenobarbital increased the liver weight and the contents of microsomal protein and cytochrome P-450 to a similar extent in the different aged mice.

4. The activities of NADPH-cytochrome *c* reductase, NADPH-neotetrazolium reductase, *p*-nitrobenzoic acid nitroreductase, hexobarbital hydroxylase, aminopyrine N-demethylase and aniline hydroxylase were similar in the different aged mice and the phenobarbital treatment increased all these activities, but the magnitude of the increase was similar in the different aged mice.

5. These results did not agree with the results obtained with rats. These activities were lower in old rats than in young rats and phenobarbital treatment increased the enzyme activities more markedly in the young rats than in the old rats.

6. The duration of hexobarbital anesthesia and zoxazolamine paralysis was longer in the older mice than in the younger mice, but there was no clear age difference in the strychnine toxicity.

Sex Difference in Alteration of Steroid Δ^4 -Hydrogenase Activity in Liver Microsomes from Rats Bearing Walker Carcinoma 256

Ryuichi KATO, Atsushi TAKAHASHI, Kinichi ONODA and Yoshihito OMORI: *Gann*, 61, 551 (1970)

The Δ^4 -hydrogenase activity for hydrocortisone, testosterone, and progesterone of liver microsomes was markedly increased in male rats bearing Walker carcinoma-256. In contrast, it was slightly decreased in the tumor-bearing female rats. On the other hand, the steroid Δ^4 -hydrogenase of liver supernatant in the tumor-bearing male and female rats was not significantly altered. The administration of

testosterone to the tumor-bearing male rats did not prevent the increase of Δ^4 -hydrogenase activity in liver microsomes. Since the steroid Δ^4 -hydrogenase activity in microsomes was suppressed by androgen, these results suggested that the increase of Δ^4 -hydrogenase activity in tumor-bearing rats may be related to the impairment of androgen-induced suppression of Δ^4 -hydrogenase.

種々の抗ヒスタミン薬の肝 Microsome での Aminopyrine, Sulpyrine ならびに Phenacetin 代謝阻害について

加藤隆一, 小野田欽一, 高仲 正, 大森義仁: 応用薬理, 4, (6) 1063 (1970)

われわれは, 先年のアンブル入解熱鎮痛剤の中毒事件に関連して, 雄性ラットの肝 microsome における aminopyrine, sulpyrine ならびに phenacetin の代謝に対する種々の抗 histamine 薬および benactyzine の阻害の作用について検討し, 次の結果を得た。

1) 肝 microsome における aminopyrine, sulpyrine ならびに phenacetin の代謝は種々の抗 histamine 薬および benactyzine により阻害されたが, その阻害の程度は aminopyrine および sulpyrine の代謝においていちじるしく, phenacetin の代謝においては, 前二者にくらべて比較的阻害されにくかった。

Phenacetin の代謝に対する抗 histamine 薬および benactyzine の 50% 阻害濃度は, aminopyrine および sulpyrine の代謝に対するその約 2~5 倍であった。

2) Aminopyrine の血清中濃度の低下を無処置ラットと chlorcyclizine 処置ラットについて比較検討した結果, chlorcyclizine は aminopyrine の血清中濃度の低下をおくらせた。血清中 aminopyrine の生物学的半減期は chlorcyclizine 処置群では対照群の約 1.8 倍であった。

食品添加物の毒性問題

池田良雄: 厚生指標, 17, 29 (1970)

食品添加物の安全性確保という立場から, 添加物の毒性試験法について解説し, 添加物の毒性評価, 急性毒性の見地からみたわが国の添加物, 慢性毒性の見地からみた添加物, 添加物の再検討, グルタミン酸ナトリウムの問題, 添加物の有用性, 添加物の法的規制, 現行添加物の安全性について述べている。

農薬の安全性, その食品残留問題について

池田良雄: 衛生化学, 16, 285 (1970)

食品中の農薬残留許容濃度 (トレランス) が定められた経緯, β -BHC による牛乳汚染問題, サルにおける β -BHC の毒性研究について述べている。

β -BHC による牛乳汚染

池田良雄: 医薬品研究, 1, 258 (1970)

β -BHC による牛乳汚染について, その実態の詳細と食品調査会の残留農薬部会および乳肉水産食品部会合同で討議された BHC による牛乳汚染問題についての合同部会としての意見を紹介し, そのような見解をだすに至った根拠について述べ, 人体衛生における安全性の検討について論及している。

キノホルムについて—スモンに関連して—

池田良雄, 戸部満寿夫: 月刊薬事, 13, 251 (1971)

スモンとキノホルムの関係, キノホルムとその周辺, ヒトでの副作用, 動物での毒性について述べている。

SMON の病因に関する中毒学的研究

池田良雄: 日本臨牀, 29, 766 (1971)

スモンの病因について中毒の立場から研究しているが, 神経毒性を有する有機リン剤についての文献学的考察と, スモン患者の尿および舌苔について行なった重金属の分析について述べている。

キノホルムとスモンとの関連—その調査研究の概要と考察—

池田良雄, 中村 健: 薬局, 21, 1435 (1970)

スモンの症状ならびにキノホルムおよびプロキシキノリンの製剤について, 厚生省がとった行政措置の背景ともいふべき調査研究の概要を, 厚生省薬務局長通知 (昭和45年9月8日付) を参考に説明している。

実験動物の飼育管理に関する諸問題

飼育管理に関する一般問題

堀内茂友: 北海道医学雑誌, 45, (4), 154 (1970)

医薬品, 食品添加物, 農薬等各種物質の安全性確保のための毒性試験に伴う実験動物に対する基本的態度, 環境条件, 飼育管理, 運営上の問題点を述べている。

実験動物と動物実験 (前編) (とくに毒性試験の立場から)

堀内茂友：医薬品研究，1，(1)，50 (1970)

動物実験に際して実験条件の吟味と動物側の因子の検討の必要性を述べ，その重要なものを環境因子，動物因子，測定技術因子に大別し，まず環境因子から実際的にして必要な基礎的知識を説明している。

実験動物と動物実験（中編）（とくに毒性試験の立場から）

堀内茂友：医薬品研究，1，(2)，45 (1970)

動物因子に関することを，まず，A）一般論的な，動物の種，系統，性別，年齢について述べ，ついで各種毒性試験に主として使用されている動物の，B）各論的（系統と特性）なことを略記し，最後に，C）毒性試験項目別に動物の種，系統，性別，年齢の選択に関する現状と問題点を説明した。

実験動物と動物実験（後編その1）（とくに毒性試験の立場から）

堀内茂友：医薬品研究，2，(1)，66 (1971)

毒性試験に必要な一般的各操作の技術的なことを述べ，体重測定から検体投与法，採血法および病理解剖学的検査に必要な基礎的技術について述べた。

実験動物と動物実験（後編その2）（とくに毒性試験の立場から）

堀内茂友：医薬品研究，2，(2)，152 (1971)

後編においては各種毒性試験項目別に必要な実験方法と技術的なことを述べている。

Excretion of Cyclohexylamine, a Metabolite of Cyclamate, in Human Urine

朝比奈正人，山羽 力，渡辺邦子，Ginnete SARAZIN*：Chem. Pharm. Bull.，19，628 (1971)

5人の正常人にサイクラミン酸ナトリウム 2g を1回経口投与したのち，5日間にわたってその1日尿を採取し，その中に排泄されたサイクラミン酸およびシクロヘキシルアミンをガスクロマトグラフィーで定量した。サイクラミン酸の大部分は投与後1日目に排泄されたが，シクロヘキシルアミンが最も多く排泄されたのは2日目～4日目で，サイクラミン酸に比べて排泄が遅れることがわかった。

ただし，そのうちの2名はアミンの排泄が検出できず，サイクラミン酸の全排泄量も投与量の30～40%にとどまった。一方，アミンの排泄の多い人は投与量の

17～18%に達した。また，糖尿病で長期にわたってサイクラミン酸塩を常用している1名の患者の場合，アミンの排泄は1%にすぎなかった。

次にサイクラミン酸の一般使用が禁止される以前の1968年8～9月に，普通の食生活をしている50名の志願者の1日尿中に含まれるサイクラミン酸とシクロヘキシルアミンの量を調べたところ，サイクラミン酸は全員に検出されたが（1日，1～700 mg），アミンは43名にのみ検出され，1日 1 mg 以下24名，1～10 mg 10名，10 mg 以上9名（内1名は 100 mg 以上）であった。

* パリ大学薬学部

マウス肝臓中の NAD 合成と甲状腺機能の関係

足立 透：ビタミン，42，364 (1970)

ニコチン酸アミド (NiAA) 投与による肝中の NAD 含量の消長に対する甲状腺ホルモンの関与を確認するため，抗甲状腺剤およびチロキシンを投与した実験を行なった。

低ヨード食で飼育したマウスにメチマゾール (MMI) 250 mg/kg を1日1回皮下に2週間投与したのち，NiAA 500 mg/kg を腹腔内に投与すると，8時間での肝中 NAD 量は MMI を投与しないマウスに比べはるかに多くなり，24時間後でさえも平常値よりかなり高い値を示し，NAD 量の増加が長時間持続する傾向が認められた。

これに反して，チロキシシン 25 mg/kg を8日間マウスの皮下に投与したのち，NiAA 500 mg/kg を腹腔内に投与しても8時間での肝中の NAD 量はチロキシシンを投与しないマウスに比べはるかに低くなり，ほぼ50%の減少が認められた。

また8日間チロキシシン 25 mg/kg を投与したマウスにニコチン酸 (NiAA) 500 mg/kg を腹腔内に投与しても6時間での肝中 NAD 量はほとんど増加しなかった。

若干の向精神薬を投与した実験で trifluoperazine がレセルピン様の効果を示した。

Structure of a Product of a Fluorescence Reaction of 3-Hydroxykynurenine

Mitsuo WATANABE, Zenzo TAMURA*¹ and MASA-shi OKADA*²：Chem. Pharm. Bull.，18，285 (1970)

A product of fluorescence reaction of 3-hydroxykynurenine with *p*-toluenesulfonylchloride

was separated and its structure was investigated. A reaction product of 2-amino-3-hydroxyacetophenone, which has the same configuration of carbonyl, amino and hydroxyl groups, with *p*-toluenesulfonylchloride was also studied. It was shown that the product from 3-hydroxykynurenine was *p*-toluenesulfonylester of the 3-hydroxyl group and *p*-toluenesulfonylamide of the aliphatic amino group, and that the product from 2-amino-3-hydroxyacetophenone was *p*-toluenesulfonylester of the 3-hydroxyl group.

*¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

*² Tokyo Biochemical Institute

A New Fluorimetric Method for the Determination of 3-Hydroxykynurenine

M. WATANABE, Y. WATANABE* and M. OKADA*: *Clin. Chim. Acta*, 27, 461 (1970)

A new fluorimetric assay for determination of 3-hydroxykynurenine has been developed, which is based on the reaction of the compound with *p*-toluenesulfonylchloride in basic condition to yield a fluorescent product. The fluorescent compound is extracted with ether in acidic condition and separated with thin-layer chromatography. This method has been used to estimate the urinary excretion of 3-hydroxykynurenine in patients with bladder cancer.

* Tokyo Biochemical Institute

フィトナジオンの紫外吸収スペクトル

朝比奈正人, 尾西良一*¹, 勝井五一郎*², 北島 尚*³, 佐藤和男*⁴: *医薬品研究*, 2, 111 (1971)

日局八に新収載されたフィトナジオンの審議中, その紫外吸収スペクトルの吸収極大波長, 吸収極小波長, それらの波長における吸光度の比, 定量法に関連して $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ の値, 溶媒として用いるイソオクタン の品質等について実験を行ない日局八の原案を作製した。それらに関するデータをまとめて報告した。

*¹ 武田薬品工業株式会社

*² エーザイ株式会社

*³ 第一製薬株式会社

*⁴ 三共株式会社

医薬品安全性情報をめぐって

竹中祐典: *医薬品研究*, 1, (2), 141 (1970)

医薬品安全性情報を収集するにあたって, どの程度の範囲のものを収集すべきかを, アメリカ科学アカデミー—国家研究会議の医薬品安全性問題委員会が発表した報告書「医薬品の評価への代謝データの適用」を紹介しながら示した。

毒性プログラム (I), (II)

竹中祐典: *医薬品研究*, 1, (3), 216 (1970), 1, (4), 313 (1970)

両編を通じて, ジョンソン・アメリカ大統領の科学諮問委員会報告書「毒性情報の取り扱い」を紹介するとともに, その勧告に基づいて作成された毒性情報プログラムの内容と成果の一部について報告した。

Studies on Morphine Alkaloides. VII. Microbial Transformation of 14 β -Bromocodeinone

Kaoru ABE, Masayuki ONDA, Hiroshi ISAKA and Shigenobu OKUDA: *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 2070 (1970)

In the microbial transformation by *Trametes sanguinea*, 14 β -bromocodeinone was first converted enzymatically into 14 β -bromocodeine and neopine, which was gradually affected chemically to 9 α -hydroxyindolinocodeine, 14 β -hydroxycodeine, and 7 β -hydroxynepine as the final products.

Über die in Lycii Cortex enthaltenen fiebersenkenden Komponenten (I) Abtrennung von Wirkstoffen durch Verwendung der Pyrogenstoffe injizierter Kaninchen als Wertbestimmungssystemen

Mamoru NOGUCHI: *Japan. J. Pharmacog.*, 24, 51 (1970)

Durch biologische Wertbestimmung von fiebersenkenden Drogen mit Hilfe der Pyrogenstoffe injizierter Kaninchen und Fieber-Indexbestimmung, ist uns zum erstenmal bekannt, dass die Extrakte von Lycii Cortex sehr starke Wirkung besitzen, und besonders Extrakte VIII sowie IX, der durch Zusatz von basischer Bleiazetat-lösung sich niederschlägt, die stärkste. Durch Verglei-

chung von die Wirkung von Lycii Extrakten mit die Wirkung von einigen organischen Fiebermitteln an gleichen Systemen, erweist sich das Extrakte IX ebenso wirksam wie Chinin, und wirksamer als Aspirin, Phenacetin und Antipyrin.

Deoxycholate による細菌性発熱物質の不活化作用について

持田研秀, 加納晴三郎: 日本薬理学雑誌, 66, (6), 723 (1970)

細菌性発熱物質は, その発熱活性が界面活性を有する Sodium deoxycholic acid (DOC) によって不活化されることを確認した。さらに, この不活化機序について, DOC の示す二, 三の薬理作用と関連して検討を加えた。

- 1) DOC は発熱物質に対して, 0.125% 以上で不活化作用を示し, 透析あるいは希釈によって発熱活性は回復する。
- 2) DOC は *in vivo* で発熱物質の不活化作用を示さない。
- 3) 発熱反応の媒体となる白血球性発熱物質の遊離阻害あるいは直接的な不活化作用を認めなかった。
- 4) 白血球の呼吸に対して特異的な抑制作用を示さなかった。
- 5) 血管透過性促進因子に対して影響を与えなかった。
- 6) DOC はわずかに溶血性を示すが, 血清によって阻止される。溶血能を有するサポニンは, DOC とは逆に発熱反応を増強する。

以上の事実から, DOC の不活化作用については, 他の原因が考えられる。

Studies on Heat-Inactivation of Pyrogen from *Escherichia coli*

Seizaburo KANO, Kenshu MOCHIDA and Yoshiyuki OGAWA: *Biken Journal*, 13, 233 (1970)

Heat-inactivation of pyrogen from *E. coli* with phenol was studied biologically and chemically with the following results;

1. Pyrogen in solution or the solid form was inactivated by heat treatment. Its inactivation depended on the temperature and the time of heat treatment, and in solution upon its concentration.
2. On heating in solution, the pyrogen was dissociated into at least three fractions separable

by Bio-gel chromatography.

3. These three fractions were differed in pyrogenicity, saccharide composition and potassium periodate consumption.

4. The biological activities of these fractions decreased in order of their molecular size.

細菌性発熱物質の末梢作用に関する研究 (第1報) 発熱物質と Mitochondria の相互作用

堀 弥生, 加納晴三郎: 応用薬理, 4, (5), 891 (1970)

Pyrogen の発熱作用が末梢における作用といかなる相関性を有するかという点を明らかにするために, ラット肝 mitochondria と pyrogen の相互作用について検討した結果, 以下にのべるような成績をえた。

- (1) 0.25 M sucrose を用いた肝薬剤と pyrogen とを incubate するとき, pyrogen は mitochondria 分割にもっとも多く吸着した。
- (2) 10^{-3} M ATP および 10^{-4} M $MgCl_2$ の添加により, 単離した mitochondria は pyrogen をさらに強く吸着した。
- (3) Mitochondria の swelling に対して, pyrogen は著しい影響を及ぼさない。
- (4) ATP および $MgCl_2$ による mitochondria の contraction に対して, pyrogen は添加量の大小に従って抑制的に作用した。
- (5) 2,4-Dinitrophenol は 10^{-4} M 以下では mitochondria の swelling や, また ATP および $MgCl_2$ による contraction も著しい影響を及ぼさなかった。

発熱性物質に関する研究 (第6報) —白血球性発熱物質の二, 三の特性について—

吉田 稔, 川崎浩之進, 加納晴三郎: 日本薬理学雑誌, 67, 126 (1971)

内因性発熱物質の一つとみなされる白血球性発熱物質 (LP) を *in vitro* において家兎の腹水系多核白血球より採取し, その生理的活性を細菌性発熱物質と比較検討し, 次のような結論をえた。

- (1) LP は家兎に対して短い1峰性の発熱曲線を示すが, 一定量以上では用量-作用曲線を示さない。
- (2) LP は多核白血球より白色粉末としてえられ, 大部分はたん白質よりなる不安定な物質である。
- (3) LP は細菌性発熱物質と異って, 家兎に対して耐性を起こさず, また, 種属特異性を示す。
- (4) LP は家兎に対して, 一過性の leucocytosis を

起こすが細菌性発熱物質は leucopenia を起こす。

(5) 白血球減少家兎の細菌性発熱物質に対する反応性は減弱するが、LP に対してはほとんど変化しないことを認めた。

レモングラスの系統の分類に関する研究 (第 4 報) 葉油のミルセン含量について

宮崎幸男, 及川紀久雄, 大野 清: 熱帯農業, 14, 1 (1970)

1) 既報の研究で分類されたレモングラスの 4 系統群について各群を代表するものとして第 1 群より系統 14, 第 2 群より系統 6, 第 3 群より系統 3, 第 4 群より系統 1, 4, 5, 8 の計 7 系統を選び, これらのほ場栽培および温室栽培よりえられた葉油を用いてガスクロマトグラフィーによるミルセン含量の分析を行ない, 系統とミルセン含量との関係について研究した。

2) 第 1 群の系統 14 のミルセン含量はほ場栽培で 4.3%, 温室栽培で 2.4% で, 西インドレモングラスに属する他の系統に比べてきわめて低かった。このことおよび既報の研究で認められた本系統の諸特性から本系統が東インドレモングラス *Cymbopogon flexuosus* STAFF に属することは間違いないと思われる。

3) 第 2 群の系統 6 はミルセン含量が 15.9% および 12.9% で, 全系統中でミルセン含量の最も高いことで特徴づけられる。

4) 第 4 群の系統 1, 4, 5, 8 の 4 系統の中では系統 1 はミルセン含量が比較的高く, 一方残りの 3 系統はミルセン含量が最も低く, かつ, これら 3 系統間の差はきわめて小さい傾向が認められた。

5) 以上の結果から葉油のミルセン含量は系統にかなり固有のものであり, したがってレモングラスの系統の分類上重要な役割を果たしていることがわかった。

レモングラスの系統の分類に関する研究 (第 5 報) 葉の部位と含油率および油の主成分含量との関係について

宮崎幸男, 大野 清: 熱帯農業, 14, 79 (1970)

1) 既報の研究で分類されたレモングラスの 4 系統群について各群を代表するものとして第 1 群より系統 14, 第 2 群より系統 6, 第 3 群より系統 3 あるいは 9, 第 4 群より系統 1, 4, 5, 8 の計 8 系統を選び, これらの温室栽培よりえられた葉を葉身, 葉鞘ともに上半部と下半部にわけ, 葉の部位と含油率, 油のシトラールおよびミルセン含量との関係ならびにこれらの系統間差異について研究を行なった。

2) 葉部位による含油率の変異についてはどの系統でも全般的に変異幅が広く, かつ系統にもとづく差異が顕著である。とくに東インドレモングラス *Cymbopogon flexuosus* STAFF に属するとみられる第 1 群の系統 14 と西インドレモングラス *C. citratus* STAFF に属する第 2~4 群の諸系統との差が顕著で, 前者では含油率が全体的に高く, かつ葉部位による変化の比較的小ないことが特徴である。

3) 第 2~4 群の諸系統ではすべて含油率は葉身上部で最も高く, 葉鞘上部に向って低下し, 葉鞘下部で再びやや上昇するが, この含油率の変化の詳細については顕著な系統間差異がみられる。

4) 油のシトラール含量については葉部位による変化は全般的に含油率の場合に比べるとはるかに小さいが, シトラール含量そのものについてはかなりの系統間差異が認められ, とくに系統 14 ではシトラール含量が全般的に高く, かつ, 葉部位による変化の最も小さいことが注目される。

5) 油のミルセン含量はどの系統でも葉身に比べて葉鞘で著しく低い, 葉身, 葉鞘ともに上部と下部との差はあまり明らかでない。一方, ミルセン含量そのものは系統による変異が著しく, とくに系統 14 で低いことが確認された。

6) 以上のような葉の部位と含油率, シトラールおよびミルセン含量との関係はレモングラス油の実際生産上きわめて重要な要素と思われ, このような立場から優良系統の選定がなされた。

中村晃忠, 神谷庄造: 2, 3, 5, 10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]phthalazine methiodide および 2, 3, 5, 10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]phthalazin-5-one methiodide と Sodium methoxide との反応

日本薬学会東北支部第35回例会 (1970. 7. 18)

中村晃忠, 神谷庄造: 3-(3-Oxoalkyl)phthalic Hydrazide 類の分子内付加反応—Ring-Chain Tautomerism における立体特異性について—

日本薬学会東北支部第35回例会 (1970. 7. 18)

中館正弘, 神谷庄造, 鈴木郁生, 岩原繁雄, 柳町きみえ: N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 類の合成

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

吉田紀代, 中館正弘: N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 類のポーログラフィー

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

鈴木郁生, 末吉祥子: Pyridazine 1, 2-dioxide の研究 (3) 3, 6-dimethylpyridazine 1, 2-dioxide のハロゲン化反応

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

中村晃忠, 神谷庄造: Fused Hydrazine 類の四級塩のアルカリ分解

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

柴崎利雄, 西村祝子, 原真知子: ホウ酸錯塩のけい光 (V) サリチル酸類のけい光定量

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

柴崎利雄, 宮川裕美, 井上哲男: エトキシベンズアミドのけい光定量

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

鯉淵昌信: ガスクロマトグラフィーによる製剤の定量分析 (第4報) アセチルサリチル酸配合剤について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

鯉淵昌信: ガスクロマトグラフィーによる製剤の定量分析 (第5報) アセチルサリチル酸アルミニウム配

合剤について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

柴崎利雄, 斎藤恵美子, 石橋久子: 液体クロマトグラフィーによる解熱鎮痛剤の分離定量

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 7)

柴崎利雄, 西村祝子, 吉岡澄江: ホウ酸錯塩のけい光 (VI) 1-ヒドロキシアントラキノンのけい光定量およびけい光特性

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

村田敏郎*, 木村良平*, 青柳伸男: *Passiflora incarnata* 乾燥エキス製剤の有効成分の研究

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 7)

* 静岡薬科大学

石橋無味雄, 徳沢 淳: 電量滴定による医薬品の分析 (第3報) スルファメチゾール, スルファフェナゾール, スルファメトキシピリダジンの電量滴定

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

木島敬二, 坂口武一*: モルホリノアミジンによる V-P 反応着色物質について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

* 千葉大学薬学部

木島敬二, 坂口武一*: Voges-Proskauer 反応の呈色機構に関する研究 II. Morpholinoamidine による Voges-Proskauer 反応成績体中の橙色色素 (III) の構造

日本薬学会関東支部大会 (第14回) (1970. 11. 5)

* 千葉大学薬学部

木島敬二, 坂口武一*: Voges-Proskauer 反応の呈色機構に関する研究—ナフトール誘導体による V-P 反応の呈色物質—

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 7)

* 千葉大学薬学部

長沢佳熊, 福田秀男: 天然型脳下垂体後葉ホルモンに関する研究 (第1報)

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

長沢佳熊, 越村榮之助, 川村次良, 木島敬二: **Phase Solubility Analysis の実施について**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

長谷川明, 亀谷勝昭, 浦久保五郎: ^{65}Zn の生体内分布について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 7)

田中 彰, 東条憲一*, 浦久保五郎, 三木 誠*, 町田豊平*, 南 武*: **放射性診断薬開発の試み —Renoscanning agent の合成とその検討—**

第10回日本核医学会総会 (1970. 10. 21)

* 東京慈恵会医科大学泌尿器科

** 陸上自衛隊衛生学校

田中 彰, 佐野武弘*: **N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine のラットによる代謝**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

* 昭和薬科大学

池淵秀治, 城戸靖雅, 浦久保五郎: **ベンジルアルコールの放射線分解**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

福岡正道, 名取信策: **Bauerenol の構造の再確認と二, 三の反応について**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

義平邦利, 手塚美知子, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第2報)**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

手塚美知子, 義平邦利, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第3報)**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

黒柳正典, 義平邦利, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第4報)**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

兼松明子, 名取信策, 青島清雄*: **担子菌サルノコシカケ類におけるトリテルペンカルボン酸の分布**

日本生薬学会武庫川大会 (1970. 10. 9)

* 林業試験場

義平邦利, 黒柳正典, 手塚美知子, 高橋千加子, 名取信策: **カキ属植物のナフトキノン誘導体**

第14回天然有機化合物討論会 (1970. 10. 28)

兼松明子, 名取信策: **マンネンハリタケのトリテルペン**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

手塚美知子, 義平邦利, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第5報)**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

黒柳正典, 手塚美知子, 義平邦利, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第6報)**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

義平邦利, 高橋千加子, 名取信策: ***Diospyros* 属の naphthoquinone 誘導体 (第7報)**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

堀部 隆, 小嶋茂雄, 菊池 寛: **歯科材料の機器分析に関する研究 (第1報) 石膏系埋没材の熱分解について**

第23回日本歯科材料器機学会大会 (1970. 10. 9)

堀部 隆, 大場琢磨: **医療用塩ビ樹脂の理化学的試験について**

第8回日本人工臓器学会総会 (1970. 11. 18)

大場琢磨: **医薬品の容器の定義と試験法**

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

水町彰吾: **塩化ビニル樹脂製血液セットの重金属について**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

辻 楠雄, 外村正治: **大気中の浮遊粉じんに関する研究 (第1報) ポーラログラフ法による浮遊粉じん中の重金属の定量**

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

辻 楠雄: **大気中の浮遊粉じんに関する研究 (第2報) 低温灰化装置とポーラログラフ法による浮遊粉じん中の重金属の定量**

第11回大気汚染研究全国協議会大会

(1970. 10. 7)

辻 楠雄：Paris における大気汚染の実態と対策に関する調査研究

第11回大気汚染研究全国協議会大会
(1970. 10. 8)

辻 楠雄, 外村正治：大気中の浮遊粉じんに関する研究（第3報）低温灰化装置と原子吸光法による重金属の定量

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

内山貞夫, 田辺弘也, 田村善蔵*：食品中ズルチンの亜硝酸による新けい光定量, そのけい光物質の性質について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

* 東京大学薬学部

内山貞夫, 田辺弘也, 田村善蔵*：亜硝酸ナトリウムを用いるズルチンの新けい光分析法

吸光分析とけい光分析シンポジウム
(1970. 11. 25)

* 東京大学薬学部

関田 寛, 伊藤啓志男, 武田明治, 田辺弘也, 桑村司, 長尾重之：食品油脂の変敗に関する研究(第1報) 即席ラーメン中の油脂の変敗の経時的变化

日本食品衛生学会第19回学術講演会
(1970. 5. 8)

伊藤啓志男, 大沢誠喜, 関田寛, 田辺弘也：食品油脂の変敗に関する研究（第2報）即席ラーメン中の変敗油脂の分析

日本食品衛生学会第19回学術講演会
(1970. 5. 8)

鈴木 隆, 武田明治, 田辺弘也：マイコトキシンの化学的分析法 パツリンと塩化アセチル誘導体の反応

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

天野立爾, 田辺弘也, 川城 巖, 内山 充*：過酸化油脂からの 8-Formyl octanoate の生成機構

昭和45年度油化学研究発表会 (1970. 10. 8)

* 東北大学医学部薬学科

石綿 肇, 渡辺優子*, 谷村顕雄：過酸化水素によるアミノ酸の酸化と *E. coli* K-12 の生育に及ぼす酸

化成績体の影響

日本食品衛生学会第19回学術講演会
(1970. 5. 8)

* 共立薬科大学

石綿 肇, 谷村顕雄：過酸化水素によるアミノ酸の酸化と *E. coli* K-12 の生育に及ぼす酸化成績体の影響（2）グリシン酸化成績体について

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 23)

酒井綾子, 辰濃 隆, 慶田雅洋, 谷村顕雄：食品中のニトロソアミンについて

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 31)

辰濃 隆, 田上綾子, 慶田雅洋, 谷村顕雄：硬質塩化ビニル樹脂容器からの有機スズの溶出について

日本食品衛生学会第19回学術講演会
(1970. 5. 9)

辰濃 隆, 酒井綾子, 慶田雅洋, 谷村顕雄, 佐藤美恵子*：おもちゃの安全性に関する研究（第5報）塩化ビニル樹脂製ボールについて

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 23)

* 東邦大学薬学部

辰濃 隆, 慶田雅洋, 谷村顕雄：おもちゃの安全性に関する研究（第6報）おもちゃ用塩化ビニル樹脂材料についての衛生学的検討

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

高村一知, 加藤三郎, 林 敏夫：サッカリンの過酸化水素による分解について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

林 敏夫, 渡辺晴美：合成甘味料製剤中のサッカリンナトリウムの定量

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

高村一知, 加藤三郎, 林 敏夫：サッカリンの過酸化水素による分解について（第2報）ガスクロマトグラフィーによる定量

日本農芸化学会関東支部大会 (1970. 11. 8)

林 敏夫, 渡辺晴美, 高村一知, 谷村顕雄: 清凉飲料水中の臭素化油の定量について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

伊藤登志男, 作田広子, 谷村顕雄: 食品中のニトロソアミンについて (第5報) 食品中の第2級アミンおよびニトロソアミンの抽出定量法

日本食品衛生学会第21回学術講演会
(1971. 5. 8)

河村太郎*, 和田 裕**, 堺 敬一***, 宮沢文雄****, 伊藤登志男, 谷村顕雄: 食品中のニトロソアミンについて (第6報) 食品中の第2級アミンの分布

日本食品衛生学会第21回学術講演会
(1971. 5. 8)

* 横浜市衛生研究所・** 神奈川県衛生研究所
*** 宮城県衛生研究所・**** 相模女子大学

伊藤登志男, 太幡利一*, 飯尾利弘*, 大熊哲汪*: 脂溶性ビタミンの分解機構 (1) ビタミンA類の光分解とそのマススペクトルについて

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 8)

* 昭和薬科大学

伊藤登志男, 谷村顕雄: 食品中のニトロソアミンについて (第2報) 第2級アミンおよびニトロソアミンの分別定量法

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

太幡利一*, 飯尾利弘*, 大熊哲汪*, 伊藤登志男: ビタミンA酸の微量けい光定量法

日本ビタミン学会第22回大会 (1970. 10. 14)

* 昭和薬科大学

太幡利一*, 飯尾利弘*, 大熊哲汪*, 小林順子*, 伊藤登志男: 二波長分光光度法によるビタミンの分離定量法

日本ビタミン学会第23回大会 (1971. 5. 21)

* 昭和薬科大学

太幡利一*, 飯尾利弘*, 大熊哲汪*, 山崎和幸*, 伊藤登志男: ビタミンA酸とDL- α -トコフェロールとのエステル

日本ビタミン学会第23回大会 (1971. 5. 21)

* 昭和薬科大学

原田基夫, 中村洋子, 谷村顕雄: 食品中の鉱物油に関する研究 (2) TLC による検出

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 24)

原田基夫, 中村洋子, 谷村顕雄: 食品中の鉱物油に関する研究 (3) 食パン中の定量法について

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 24)

原田基夫: パン類の離型剤について

第7回全国衛生化学技術協議会総会
(1970. 10. 12)

慶田雅洋, 津郷友吉: バター脂肪の栄養学的評価

日本食品衛生学会第19回学術講演会
(1970. 5. 9)

慶田雅洋: 牛乳中のペニシリンの検出法に関する研究

第24回日本栄養・食糧学会総会 (1970. 9. 2)

慶田雅洋: 抗生物質の牛乳中の残留に関する諸問題

日本農芸化学会西日本支部シンポジウム“食品と公害” (1970. 9. 18)

慶田雅洋: ペーパーディスク法による食品中の残留抗生物質の検出法について

第7回全国衛研化学技術協議会総会
(1970. 10. 13)

神蔵美枝子: 薄層クロマトグラフィーによる色素の分析について (第13報) 酸化成績体による確認法 その1

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

神蔵美枝子: 薄層クロマトグラフィーによる色素の分析について (第14報) インジゴイド色素の確認法

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

神蔵美枝子: 薄層クロマトグラフィーによる色素の分析について (第15報) 水溶性色素の分離, 確認 その3

日本食品衛生学会第21回学術講演会
(1971. 5. 7)

加藤三郎, 神蔵美枝子: 食品中天然色素の分析について (第3報) 主な天然色素の分析的性状について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

鈴木 昭, 河西 勉, 小沼博隆: ウィンナソーセージの保存性に関する衛生細菌学的研究 (第1報) 合成殺菌料, 保存料添加による保存効果

日本食品衛生学会第19回学術講演会

(1970. 5. 9)

小沼博隆, 河西 勉, 鈴木 昭: ウィンナソーセージの保存性に関する衛生細菌学的研究 (第2報) 市販品の細菌汚染度とその保存性について

日本食品衛生学会第19回学術講演会

(1970. 5. 9)

河西 勉, 鈴木 昭, 小沼博隆: ウィンナソーセージの保存性に関する衛生細菌学的研究 (第3報) 合成殺菌料, 保存料と細菌叢との関係

日本食品衛生学会第19回学術講演会

(1970. 5. 9)

鈴木 昭, 小沼博隆: ウィンナソーセージの保存性に関する衛生細菌学的研究 (第4報) JAS 製品と NON JAS 製品との保存性の比較

日本食品衛生学会第20回学術講演会

(1970. 10. 23)

河西 勉, 鈴木 昭, 小沼博隆: 食肉からのU字管を用いた *Salmonella* 分離法について

日本食品衛生学会第21回学術講演会

(1971. 5. 7)

小沼博隆, 河西 勉, 鈴木 昭: 輸入家兎肉および野牛肉のサルモネラ汚染の実態について

日本食品衛生学会第21回学術講演会

(1971. 5. 7)

一戸正勝: *Camposporium* 属菌とその孢子形成について

日本菌学会第14回大会 (1970. 5. 18)

久米 光*, 一戸正勝, 倉田 浩: 日本産 *Helicoma*, *Helicosporium* 属菌数種について

日本菌学会第14回大会 (1970. 5. 18)

倉田, 坂部, 宇田川, 一戸, 田沢, 名取, 斎藤*: 主としてがん多発地域における食品中のマイコトキシン産生菌の検索と分布 II. 長野県農村地域における食品のマイコフロラ

日本食品衛生学会第20回学術講演会

(1970. 10. 23)

* 東京大学医科学研究所

石関忠一, 城戸靖雅, 浦久保五郎: ソルビン酸の放射線分解 (第2報) 照射条件と抗菌性との関連について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

石関忠一, 岩原繁雄: ウサギにおける Lysozyme 活性の遺伝について

第5回日本実験動物研究会 (1970. 9. 25)

宇田川俊一, 堀江義一*: 菌生子の菌類, 不完全菌の研究

(1) 日本産菌

(2) ニューギニア産菌

日本菌学会第15回大会 (1971. 5. 18)

* 千葉大学腐敗研究所

高田正樹*, 宇田川俊一: ニューギニア産糞生菌および土壌菌に関する研究

日本菌学会第15回大会 (1971. 5. 18)

* 東洋醸造(株) 研究部

一戸正勝: 日本産 *Spadicoides* 属菌について

日本菌学会第15回大会 (1971. 5. 18)

加藤隆一, 小野田欽一, 高柳美智子: 薬物の代謝・効力および毒性に関する種差の研究 (第11報) 雌雄マウス, ラット, ウサギにおける肝ミクロゾーム cytochrome P-450 と薬物との結合とその水酸化活性の関連

第37回日本薬理学会近畿部会 (1970. 4. 23)

加藤隆一, 小野田欽一, 高仲 正: 薬物の代謝・効力および毒性に関する種差の研究 (第12報) 雌雄マウス, ラット, ウサギにおける cytochrome P-450 と薬物との結合に及ぼす絶食およびアロキサン糖尿病の影響

第37回日本薬理学会近畿部会 (1970. 4. 23)

* 鳥居薬品研究部

加藤隆一, 高橋 惇, 大森義仁: 非生理状態下のラット肝ミクロゾームにおける cytochrome P-450 と steroid hormone との結合について

第42回日本薬理学会関東部会 (1970. 5. 23)

加藤隆一, 小野田欽一, 高仲 正: 薬物の代謝・効力および毒性に関する種差の研究 (第13報) 雌雄マウス, ラット, ウサギにおける cytochrome P-450 と薬物との結合に及ぼす副腎摘除およびモルヒネ投与の影響

第42回日本薬理学会関東部会 (1970. 5. 23)

田中 悟, 川島邦夫, 桑村 司, 大森義仁: Cyclohexylamine のラット胎仔に及ぼす影響に関する研究

第42回日本薬理学会関東部会 (1970. 5. 23)

加藤隆一: 薬物代謝と薬効

第18回日本化学療法学会シンポジウム
(1970. 6. 8)

大森義仁, 加藤隆一, 高仲 正, 高柳美智子: 食用赤色 106 号の生体内運命について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

加藤隆一, 高橋 惇, 小野田欽一, 大森義仁: 肝ミクロゾームにおけるステロイドホルモンの cytochrome P-450 との結合およびその水酸化に及ぼす副腎摘除の影響

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 30)

加藤隆一, 小野田欽一, 大森義仁: アフラトキシン B₁ による肝コレステロールの生合成阻害作用

第43回日本生化学会大会 (1970. 10. 10)

加藤隆一, 高仲 正, 小野田欽一, 大森義仁: ラット肝の酵素誘導に対するアフラトキシン B₁ の阻害作用

第43回日本生化学会大会 (1970. 10. 11)

加藤隆一, 高仲 正, 高橋 惇, 大森義仁: 担がんラットの肝ミクロゾームにおける薬物およびステロイドホルモンの cytochrome P-450 との結合について

第29回日本癌学会総会 (1970. 10. 22)

田中 悟, 桑村 司, 川島邦夫, 中浦慎介, 長尾重之, 大森義仁: サッカリナトリウムのラット胎仔お

よび出産仔に及ぼす影響について

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 23)

加藤隆一, 高仲 正, 小野田欽一, 大森義仁: 薬物の消化管吸収における相互作用 (第1報) Gastric Emptying Rate に及ぼす影響

第44回日本薬理学会総会 (1971. 4. 3)

加藤隆一, 高仲 正, 大森義仁: 種々食用色素の胆汁内排泄の比較検討

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

加藤隆一, 小野田欽一, 高仲 正, 大森義仁: ステロイドホルモン欠除ラットにおける肝ミクロゾームのステロイドホルモン水酸化活性のフェノバルビタールによる誘導性について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 7)

吉本浜子, 堀内茂友, 降矢 強, 川俣一也, 金子豊蔵, 水本美江, 長谷川愛子, 池田良雄: Fentanyl の身体的依存性に関する研究

第42回日本薬理学会関東部会 (1970. 5. 23)

金子豊蔵, 堀内茂友, 吉本浜子, 降矢 強, 川俣一也, 水本美江, 長谷川愛子, 池田良雄: 油症の原因物質に関する毒性学的研究 (1) マウスにおける実験

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 24)

降矢 強, 堀内茂友, 吉本浜子, 川俣一也, 金子豊蔵, 長谷川愛子, 水本美江, 池田良雄: 油症の原因物質に関する毒性学的研究 (2) ニワトリにおける実験

日本食品衛生学会第20回学術講演会
(1970. 10. 24)

戸部満寿夫, 近岡昭典, 鈴木康雄, 小林和雄, 鈴木幸子, 北条正男, 池田良雄: 水銀化合物の長期毒性に関する研究 (続報)

第43回日本薬理学会関東部会 (1970. 10. 24)

堀内茂友: 投与経路による動物実験の問題点
B. 粘膜について主として眼粘膜の立場から

第18回実験動物談話会シンポジウム
(1971. 2. 19)

戸部満寿夫：投与経路による動物実験の問題点

D. 経口投与・その他，経口投与に伴う技術的諸問題

第18回実験動物談話会シンポジウム

(1971. 2. 19)

小林和雄，戸部満寿夫，鈴木幸子，池田良雄：

Ponceau R の発がん性に関する研究

第17回日本獣医学会病理部会 (1971. 4. 1)

堀内茂友：マウスによる照射馬鈴薯の次世代に及ぼす影響

第11回日本先天異常学会総会シンポジウム

(1971. 4. 3)

池田良雄，堀内茂友，吉本浜子，降矢 強，川俣一也，金子豊蔵，長谷川愛子，水本美江：サルにおける β -BHC の毒性研究

第44回日本薬理学会総会 (1971. 4. 4)

池田良雄：薬物の毒性をめぐる諸問題 毒性の尺度について

第18回日本医学会総会シンポジウム

(1971. 4. 6)

鈴木幸子，梶山一代*，小林和雄：糖尿病発症薬物の薬理学的研究

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

* 昭和薬科大学

朝比奈正人，山羽 力，G. SARRAZIN*，渡辺邦子：モルモットによるサイクラミン酸ナトリウムの代謝

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

* パリ大学薬学部

朝比奈正人，新村寿夫，山羽 力，高橋昭江：微生物によるサイクラミン酸ナトリウムの資化 サイクラミン酸ナトリウムよりシクロヘキシルアミンの生成

日本農芸化学会大会 (1971. 4. 1)

朝比奈正人，新村寿夫，山羽 力：モルモットにおけるシクロヘキシルアミンの排泄 腸管内微生物の関与

日本食品衛生学会第21回学術講演会

(1971. 5. 8)

嶺岸謙一郎，朝比奈正人，山羽 力：サッカリンお

よびその関連化合物の代謝

日本食品衛生学会第21回学術講演会

(1971. 5. 8)

渡辺光夫：尿中 3-ハイドロキシアンスラニル 酸およびその抱合体の定量

第29回日本癌学会総会 (1970. 10. 21)

渡辺光夫，嶺岸謙一郎，田村善蔵*，岡田正志**：発がん性トリプトファン代謝産物のけい光分析

吸光分析と蛍光分析シンポジウム

(1970. 11. 26)

* 東京大学薬学部 ** 東京生化学研究所

渡辺光夫：3-ハイドロキシアンスラニル酸抱合体の酵素分解

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

植岡澄子，岡田敏史，伊賀宗一郎，吉村 淳：Bemegride (3-Ethyl-3-methylglutarimide) の定量法—電位差法による非水滴定—

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

伊阪 博：ピラゾロン類の光分解

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 29)

岡田敏史，伊阪 博，伊賀宗一郎，岡 恒，寺島敏雄，吉村 淳，豊田勤治：シイタケより検出されるホルムアルデヒドについて

日本食品衛生学会第20回学術講演会

(1970. 10. 24)

伊阪 博：モルヒネの電解酸化

日本薬学会東北支部総会 (1970. 11. 8)

柴田 正，伊阪 博，吉村 淳：メチレンブルー塩形成によるサイクラミン酸の比色定量法

日本薬学会近畿支部総会 (1970. 11. 28)

野口 徹，金田吉男，持田研秀，吉村 淳：生薬中に残留する有機塩素系殺虫剤について

日本薬学会近畿支部総会 (1970. 11. 28)

古謝紀和，持田研秀：ヒマ種子中の毒成分について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 9)

外海泰秀, 野村幸雄: 色素中のクロムの定量に関する問題点

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

小川義之, 吉田 稔, 加納晴三郎: 白血球性発熱物質 (LP) に関する研究 (I) — (i) LP の遊離機構について

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

吉田 稔, 小川義之, 加納晴三郎: 白血球性発熱物質 (LP) に関する研究 (I) — (ii) LP の遊離に対する解熱剤の影響

日本薬学会第90年会 (1970. 7. 28)

吉田 稔, 小川義之, 加納晴三郎: 白血球性発熱物質に関する研究 — 白血球性発熱物質の遊離機構に対する解熱剤の影響

第38回日本薬理学会近畿部会 (1970. 10. 18)

堀 弥生, 加納晴三郎: 細菌性発熱物質の末梢作用

に関する研究 (II) — Mt. の呼吸に及ぼす発熱物質の作用について

日本薬学会第20回近畿支部総会 (1970. 11. 23)

堀 弥生, 加納晴三郎: 細菌性発熱物質の末梢作用に関する研究 (III) — 発熱物質投与時における Mt. の動態について

日本薬学会第91年会 (1971. 4. 8)

堀越 司, 川谷豊彦, 武良哲雄*, 富永敏夫*: キハダの栽培に関する研究 (1) 特にキハダの部位別および雌雄別, 種類別によるベルベリン含量について

日本生薬学会武庫川大会 (1970. 10. 10)

* 鳥取大学医学部付属病院薬剤部

堀越 司, 金木良三*, 川谷豊彦: キハダの栽培に関する研究 (2) 特にキハダの初期生育について

日本作物学会第150回講演会 (1970. 11. 3)

* 東京農業大学

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」は、昭和26年から原則として毎月第1月曜日、本所講堂において開催されているが、昭和45年4月から昭和46年3月までの発表はつぎのとおりである。またこれとは別に、大阪支所においても支所例会および支所特別講演会が開催されており、それらをも併記する。

第 106 回 (昭和45年 4 月 6 日)

- サイクロヘキシルアミンの薬理学的研究
薬 理 部 川 島 邦 夫
田 中 悟
G. Sarrazin
桑 村 司
- 標識ジョードヒスチジンの生体内分布について
—新しい放射性医薬品の開発の試み—
放射線化学部 亀 谷 勝 昭
長谷川 明
- 食品添加物のガスクロマトグラフィー
—主として人工甘味料について—続報
食品添加物部 加 藤 三 郎
金 子 次 雄
- フランスの大気汚染の現状とその対策
環境衛生化学部 辻 楠 雄
- NMR の定量分析化学への応用
(1) 緩和時間と飽和現象の関係
療 品 部 叶 多 謙 蔵
- ニューギニア高地人の食生活を調査して
衛生微生物部 宇田川 俊 一
- Strep. hemolyticus* 菌体成分の薬理学的特性について
大阪支所細菌薬理部 小 川 義 之

第 107 回 (昭和45年 5 月 4 日)

- In vitro* において家兎多核白血球よりえられる二、三の活性物質の分離について
大阪支所細菌薬理部 吉 田 稔
- リノール酸メチルハイドロパーオキシサイドの分解
食 品 部 天 野 立 爾
- N-Methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine の代謝
放射線化学部 田 中 彰
- ラットにおける塩化ジフェニルの排泄についての

検 討

- | | |
|-------|---------|
| 食 品 部 | 関 田 寛 |
| | 大 沢 誠 喜 |
| | 伊 藤 蒼志男 |
| | 田 辺 弘 也 |
- LSD 25 の依存性に関する研究
毒 性 部 金 子 豊 蔵
水 本 美 江
吉 本 浜 子
 - 放射能減菌抵抗菌に関する研究 (第1報)
衛生微生物部 松 井 道 子
- #### 第 108 回 (昭和45年 6 月 1 日)
- ジメチルニトロソアミンの分析
—食肉製品について—
食品添加物部 酒 井 綾 子
 - 内毒素の末梢作用に関する研究 (I)
—ラット肝ミトコンドリアと内毒素の相互作用について—
大阪支所細菌薬理部 堀 弥 生
 - 照射食品に関する毒性試験 (第2報)
毒 性 部 近 岡 昭 典
小 林 和 雄
鈴 木 幸 子
 - 照射食品に関する毒性試験 (第3報)
— γ 線照射ばれいしょの次世代に及ぼす影響—
毒 性 部 川 俣 一 也
 - 過酸化水素によるアミノ酸の分解
—とくに *E. coli* K-12 株の生育に対する酸化成績体の影響について—
食品添加物部 石 綿 肇
 - ガス殺菌のマーカー菌
衛生微生物部 山 浦 啓 二
田 辺 俊

第 109 回 (昭和45年 7 月 31 日)

- ソルビン酸の放射線分解について
—とくに照射条件と抗菌性について—
放射線化学部 城 戸 靖 雅
衛生微生物部 石 関 忠 一
- N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 類の合成
合成化学研究部 中 館 正 弘
- N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 類のポ-

ラログラフイー

合成化学研究部 吉田紀代

4. 日本産米のカビについて

衛生微生物部 倉田浩

5. WHO 主催 第1回西太平洋地域の医薬品の品質管理セミナーに出席して

合成化学研究部 鈴木郁生

6. カナダより帰国して

A) Coenzyme A and Nicotinamide Adenine Dinucleotide-Dependent Branched Chain 2-Keto Acid Dehydrogenase

B) *E. coli* ribosome

衛生微生物部 中嶋富子

第 110 回 (昭和45年8月10日)

1. 歯磨中サイクラミン酸ナトリウムの試験法について

環境衛生化学部 村松ひろみ
小幡利勝
狩野静雄

2. 皇居外苑内濠の水質の衛生化学的研究 (I)

一四季における水質成分と生物相 (植物性プランクトン) の関係について一

環境衛生化学部 佐谷戸安好
松井啓子

3. 造影剤 Ferrites の毒性に関する研究

毒性部 鈴木幸子
小林和雄
馬場一広

4. 薬物の代謝, 効力および毒性に関する種差の研究 (第13報)

一雌雄マウス, ラット, ウサギにおける Cytochrome P-450 と薬物との結合に及ぼす副腎摘除およびモルヒネ投与の影響一

薬理部 加藤隆一
小野田欽一
高仲正

5. イギリス, フランス, 北欧の薬局方について

薬品部 井上哲男

第 111 回 (昭和45年9月14日)

1. 昭和44年度食用タール色素の製品検査の結果と検査の問題点

大阪支所食品部 外海泰秀

2. モルヒネと副腎皮質機能

一ラット副腎 RNA およびコルチコステロン合成

に対するモルヒネの影響一

薬理部 桑村司
長尾重之

3. サリチルアルデヒドおよびオルトヒドロキシフェニルケトン類のけい光定量

薬品部 柴崎利雄

4. ゲルろ過によるヘパリンの分画

生物化学部 木村俊夫

5. N,N-シ置換グアニシンによる Voges-Proskauer 反応色素の研究 (第1報)

生物化学部 木島敬二

6. アメリカとカナダの旅から

生物化学部 長沢佳熊

第 112 回 (昭和45年10月12日)

1. 塩化ビニル樹脂製血液セットの重金属について

療品部 水町彰吾

2. 天然キノン類の研究

一カキ属のナフトキノン類 (第2報)一

生薬部 義平邦利
手塚美知子
名取信策

3. 天然キノン類の研究

一カキ属のナフトキノン類 (第3報)一

生薬部 手塚美知子
義平邦利
名取信策

4. 天然キノン類の研究

一カキ属のナフトキノン類 (第4報)一

生薬部 黒柳正典
義平邦利
名取信策

第 113 回 (昭和45年11月9日)

1. 長野県佐久地方における食品のマイクフロラ (第2報)

衛生微生物部 一戸正勝
倉田浩
宇田川俊一
坂部フミ

2. 水銀の迅速定量法に関する研究

環境衛生化学部 中室克彦
佐谷戸安好
外村正治

3. サッカリンの過酸化水素による分解について

食品添加物部 高村一知

4. Pyridazine 1,2-dioxides の研究 (第3報)
3,6-Dimethyl pyridazine 1,2-dioxide のハロゲン化反応
合成化学研究部 末 吉 祥 子
鈴 木 郁 生
5. ボストンから帰って
食 品 部 武 田 明 治
6. Ceylon and Ceylonese
Part I 薬 品 部 L.J. PERERA
Part II 薬 品 部 Tissa WIJESEKERA
Part III スライド

第 114 回 (昭和45年12月14日)

1. ヒマシ中の毒成分の研究 (第1報)
大阪支所薬品部 古 謝 紀 和
持 田 研 秀
2. ベンジルアルコールの放射線分解
放射線化学部 池 淵 秀 治
3. 混合製剤の分析に関する研究 (第18報)
2,4-ジニトロフェニルヒドラジン試薬による dl-塩酸メチルエフェドリンの比色定量
薬 品 部 立 沢 政 義
北 条 正 躬
4. 牛乳中のペニシリンの検出について
食品添加物部 慶 田 雅 洋
5. BHC の毒性に関する研究 (第1報)
一サルにおける β -BHC の毒性研究一
毒 性 部 長谷川 愛 子
降 矢 強
内 藤 克 司
渡 辺 知 昭
6. BHC の毒性に関する研究 (第2報)
一マウスにおける β -BHC の毒性研究一
毒 性 部 水 本 美 江
吉 本 浜 子
川 俣 一 也
金 子 豊 蔵
7. 放射線滅菌マーカー菌の利用
衛生微生物部 田 辺 俊
小 島 満 子

第 115 回 (昭和46年1月11日)

1. 放射線抵抗菌に関する研究
衛生微生物部 田 辺 俊
小 島 満 子
2. ポンソーRの生体内運命について

- 薬 理 部 大 森 義 仁
加 藤 隆 一
高 仲 正
日 高 美智子
3. 玉ねぎの毒性に関する研究
一主として血液学的変化一
毒 性 部 内 田 まさ子
川 崎 靖
鈴 木 康 雄
4. 冷凍エビの官能検査と化学検査基準の検討
食 品 部 内 山 貞 夫
天 野 立 爾
近 藤 龍 雄
5. 欧州における療品の放射線滅菌
療 品 部 堀 部 隆

第 116 回 (昭和46年2月8日)

1. キサンテン系色素の分離および定量
大阪支所薬品部 佃 井 典 子
持 田 研 秀
2. 食品中のサイクラミン酸塩の比色定量
大阪支所食品部 中 村 恵 一
3. 米に着生する有害カビの検索と分布について
衛生微生物部 宇田川 俊 一
4. ^{13}C -NMR のケミカルシフト
療 品 部 叶 多 謙 蔵
5. トリテルペンの代表的な二、三の反応について
生 薬 部 福 岡 正 道
名 取 信 策
6. エトキシベンズアミドのけい光定量
薬 品 部 柴 崎 利 雄
宮 川 裕 美
井 上 哲 男
7. 発ガン性試験法に関する研究 (第1報)
一胎仔期および新生期マウスにおける DAB の発ガン性について一
毒 性 部 金 子 豊 蔵
吉 本 浜 子
水 本 美 江

第 117 回 (昭和46年3月8日)

1. 医療用具の放射線滅菌について (第1報)
一 γ 線滅菌がディスポーザブル注射筒の物理・化学的性質に及ぼす影響一
療 品 部 堀 部 隆
菊 池 寛

2. 発ガン性トリプトファン代謝産物とその抱合体の
尿中排泄

医 化 学 部 渡 辺 光 夫

3. 残留農薬に関する研究 (第 3 報)

—残留農薬量に対する調理の影響について—

食 品 部 大 槻 久美子
・ 関 田 寛
武 田 明 治
田 辺 弘 也

4. 混合製剤の分析に関する研究
—ルゴール液の定量—

薬 品 部 北 条 正 躬
立 沢 政 義

5. 天然脳下垂体後葉ホルモンの研究 (第 1 報)

生 物 化 学 部 福 田 秀 男

支 所 例 会

7月例会（昭和45年7月24日）

1. 白血球性発熱物質（LP）に関する研究（I）
—LPの遊離機構について—
薬理部 小川 義之
2. 白血球性発熱物質（LP）に関する研究（II）
—LPの遊離に対する解熱剤の影響—
薬理部 吉田 稔
3. ピラゾロン類の光分解
薬品部 伊阪 博
4. Bemegride(3-Ethyl-3-methylglutarimide)の定量法
—電位差法による非水滴定—
薬品部 植岡 澄子

10月例会（昭和45年10月16日）

1. 白血球性発熱物質の遊離機構と解熱剤の影響について（総説）
薬理部 吉田 稔
2. シイタケより検出されるホルムアルデヒドについて
薬品部 岡田 敏史

12月例会（昭和45年12月24日）

1. 細菌性発熱物質の末梢作用に関する研究（第2報）
薬理部 堀 弥生
2. 白血球性発熱物質（LP）に関する研究
—LPの遊離機構について（追補）—
薬理部 小川 義之
3. 白血球性発熱物質（LP）に関する研究
—LPの遊離に対する解熱剤の影響（追補）—
薬理部 吉田 稔

4. メチレンブルーの錯塩形成によるサイクラミン酸の比色定量について
薬品部 柴田 正

5. ヒマ種子の毒成分について
薬品部 古謝 紀和
6. 生薬中に残留する有機塩素系農薬について
薬品部 野口 衛
7. 食品部の現状
薬品部 寺島 敏雄
8. アジア薬学会大会に出席して
支所長 朝比奈 晴世

3月例会（昭和46年3月29日）

1. 発熱物質の末梢作用に関する研究（第3報）
—発熱物質投与時におけるラット肝ミトコンドリアの動態—
薬理部 堀 弥生
2. 色素中のクロムの定量に関する問題点
食品部 外海 泰秀
3. カドミウム等微量重金属による環境汚染調査経過とカドミウム分析法について
食品部 永田 正
4. ヒマ種子中の毒成分について（続報）
薬品部 古謝 紀和
5. 人參中の有機塩素系殺虫剤の除去法について
(1) 市販人參の調製法と農薬の残留量の関係
薬品部 野口 衛
6. メチレンブルーによるサイクラミン酸の溶媒抽出吸光光度定量法
薬品部 柴田 正

所 内 講 演 会

薬物の胆汁排泄について

(昭和45年10月5日)

ベルリン大学薬学部 Dr. SADIE

がんの組織培養について

(昭和46年3月16日)

ピッツバーグ大学病理学部

Dr. Joseph LEIGHTON

サイカシンとワラビの発がん性について

(昭和45年11月9日)

アメリカ国立がん研究所 Dr. G.L. LAGUEUR

大 阪 支 所

農薬、とくにスミチオンの慢性毒性について

(昭和45年5月28日)

京都大学薬学部講師 三 須 良 実

発がん化学物質のフリーラジカル生成と発がん機構について

(昭和45年12月4日)

国立がんセンター生物物理学部長

永 田 親 義

組織培養について

(昭和45年11月7日)

大阪大学微生物病研究所講師 上 田 重 晴

ヨーロッパにおける医薬品の薬効評価と安全性の問題点について

(昭和46年1月12日)

ロッッシュ薬品株式会社 中 島 宏

蛇毒中の致死たん白の化学構造に関する研究

(昭和45年11月19日)

京都大学薬学部助教授 林 恭 三

水銀化合物の衛生化学的研究について

(昭和46年2月19日)

東京大学薬学部長 浮 田 忠之進

ウイルスによる細胞融合反応

(昭和46年1月23日)

大阪大学微生物病研究所助教授 岡 田 善 雄

日本の医療の将来について

(昭和46年3月2日)

医事評論家 水 野 肇

ガンウイルスに関する最近の知見

(昭和46年5月20日)

大阪大学微生物病研究所助教授 高 橋 理 明

国家検定, 国家検査などの試験状況報告

Survey of the Results of National Test

昭和45年度（昭和45年4月～昭和46年3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最も多く、全体の44%をしめ、ついでエタンプトール錠、エタンプトール、リンゲル液、避妊用酢酸フェニル水銀ゼリー、避妊用メンフェゴール錠の順となり、以上6品目で全体の70%に達している。総件数では昨年度の件数に比して約11%の減少であった。

また、国家検査については、今年度は行なわなかつた。

製品検査については、昨年度にサッカリンナトリウム及び希釈過酸ベンゾイルの2品目が、地方に委譲され、タール色素1品目となったため、昨年度の件数の約1/3に減少した。

以上のほか、一斉取締試験が若干増加しているが、その他は昨年度の件数に比して大きな変動はなかった。

なお、検定検査件数全体としては、9,573件であり昨年度の件数に比して約47%の減少であった。

衛生試験所における検査状況

(昭和45年度)

区 分	試 験 機 関		合 計
	東 京	大 阪	
国 家 検 定	1,066	923	1,989
製 品 検 査	914	1,760	2,674
輸 出 検 査	38	—	38
特 別 審 査 試 験	481	—	481
輸 入 食 品 検 査	2,523	491	3,014
特 別 行 政 試 験	527	200	727
一 般 依 頼 試 験	191	8	199
一 斉 取 締 試 験	387	64	451
計	6,127	3,446	9,573

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		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
2-プロピルチオイソニコチナミド	東京 大阪	2 —	0 —	2 —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
2-プロピルチオイソニコチナミド錠	東京 大阪	1 2	0 0	1 2	1 3	0 0	1 3	— 6	— 0	— 6	— 1	— 0	— 1	3 2	0 0	3 2	— —	— —	— —
エ タ ン プ ト ー ル	東京 大阪	2 —	0 —	2 —	16 —	0 —	16 —	22 —	0 —	22 —	22 —	0 —	22 —	13 —	0 —	13 —	10 —	0 —	10 —
エタンプトール錠	東京 大阪	11 —	0 —	11 —	15 —	0 —	15 —	22 —	0 —	22 —	18 —	0 —	18 —	12 —	0 —	12 —	16 —	0 —	16 —
避妊用酢酸フェニル水銀ゼリー	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
避妊用酢酸フェニル水銀クリーム	東京 大阪	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
避妊用酢酸フェニル水銀錠	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
避妊用酢酸フェニル水銀親水性坐剤	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
避妊用酢酸フェニル水銀エアゾール	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
避妊用ポリオキシエチレンノニルフエニルエーテルゼリー	東京 大阪	7 —	0 —	7 —	5 —	0 —	5 —	6 —	0 —	6 —	6 —	0 —	6 —	8 —	0 —	8 —	10 —	0 —	10 —
インシュリン注射液	東京 大阪	2 —	0 —	2 —	— —	— —	— —	3 —	0 —	3 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —
プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —
イソフエンインシュリン水性懸濁注射液	東京 大阪	1 —	0 —	1 —	2 —	0 —	2 —	1 —	0 —	1 —	2 —	0 —	2 —	1 —	0 —	1 —	4 —	0 —	4 —
インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	3 —	0 —	3 —	4 —	0 —	4 —	— —	— —	— —	3 —	0 —	3 —	2 —	0 —	2 —
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —
中性インシュリン注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —
二相性インシュリン水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	2 —	0 —	2 —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —
脳下垂体後葉注射液	東京 大阪	1 —	0 —	1 —	3 —	0 —	3 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —
オキシトシン注射液	東京 大阪	3 —	0 —	3 —	5 —	0 —	5 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	— —	— —	— —	5 —	0 —	5 —
オキシトシン舌下錠	東京 大阪	— —	— —	— —	3 —	0 —	3 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —

別件数実績表 (No. 1)

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			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
1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	4
4	0	4	—	—	—	4	0	4	1	0	1	—	—	—	2	0	2	16	0	16
1	0	1	—	—	—	2	0	2	3	0	3	1	0	1	2	0	2	23	0	23
23	0	23	9	0	9	25	0	25	6	0	6	12	0	12	29	0	29	189	0	189
20	0	20	14	0	14	22	0	22	16	0	16	21	0	21	14	0	14	201	0	201
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	0	7	6	0	6	9	0	9	1	0	1	9	0	9	4	0	4	78	0	78
3	0	3	1	0	1	2	0	2	4	0	4	3	0	3	—	—	—	24	0	24
—	—	—	1	0	1	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	6	0	6
2	0	2	1	0	1	2	0	2	1	0	1	2	0	2	1	0	1	20	0	20
—	—	—	3	0	3	5	0	5	2	0	2	1	0	1	2	0	2	25	0	25
—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	0	3
—	—	—	—	—	—	2	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	4
—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
—	—	—	1	0	1	2	0	2	1	0	1	—	—	—	1	0	1	10	0	10
—	—	—	1	0	1	1	0	1	—	—	—	1	0	1	1	0	1	14	0	14
3	0	3	2	0	2	4	0	4	1	0	1	1	0	1	4	0	4	36	0	36
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	4	0	4

国家検定月別判定

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		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
オキシトシンマレイン酸エルゴメトリン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—
診断用バソプレシン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
タンニン酸バソプレシン油性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ブドウ糖注射液	東京 大阪	31 75	1 0	32 75	34 60	0 0	34 60	33 74	1 0	34 74	27 70	0 0	27 70	36 68	0 0	36 68	28 85	0 0	28 85
リンゲル液	東京 大阪	3 6	0 0	3 6	2 6	0 0	2 6	2 4	0 0	2 4	3 6	0 0	3 6	1 6	0 0	1 6	2 6	0 0	2 6
フェリプレシン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
避妊用メンフェゴール錠	東京 大阪	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —
計	東京 大阪	68 83	1 0	69 83	96 69	0 0	96 69	108 84	1 0	109 84	91 77	0 0	91 77	88 76	0 0	88 76	87 91	0 0	87 91
合 計		151	1	152	165	0	165	193	1	194	168	0	168	164	0	164	178	0	178

製品検査月別判

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		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
タール色素	東京 大阪	67 201	0 0	67 201	60 138	0 0	60 138	113 153	0 0	113 153	99 192	0 0	99 192	38 167	0 0	38 167	104 164	0 2	104 166
合 計		268	0	268	198	0	198	266	0	266	291	0	291	205	0	205	268	2	270

輸出検査月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		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
腸線縫合糸	東京	3	0	3	5	0	5	2	0	2	7	0	7	1	0	1	0	0	0

別件数実績表 (No. 2)

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			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
1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	0	3
1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
32 91	0 0	32 91	36 93	0 0	36 93	25 77	0 0	25 77	19 46	0 0	19 46	22 36	0 0	22 36	24 67	0 1	24 68	347 842	2 1	349 843
3 4	0 0	3 4	2 2	0 0	2 2	5 9	0 0	5 9	— 2	— 0	— 2	2 3	0 0	2 3	1 3	0 0	1 3	26 57	0 0	26 57
4	0	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	4
4	0	4	4	0	4	4	0	4	4	0	4	—	—	—	4	0	4	44	0	44
108 96	0 0	108 96	82 95	0 0	82 95	116 88	0 0	116 88	56 51	0 0	56 51	75 40	0 0	75 40	88 72	0 1	88 73	1,064 922	2 1	1,066 923
204	0	204	177	0	177	204	0	204	107	0	107	115	0	115	160	1	161	1,986	3	1,989

定別件数実績表

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			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
87 236	0 1	87 237	92 114	0 0	92 114	97 135	0 4	97 139	5 14	0 0	5 14	101 154	0 0	101 154	51 85	0 0	51 85	914 1,753	0 7	914 1,760
323	1	324	206	0	206	232	4	236	19	0	19	255	0	255	136	0	136	2,667	7	2,674

判定別実績表

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			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
5	1	6	3	0	3	1	1	2	2	0	2	5	0	5	2	0	2	36	2	38

特 別 審 査 試 験 月

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	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
東 京	42	1	43	13	4	17	50	5	55	125	5	130	59	1	60	33	0	33

輸 入 食 品 検 査 月 別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意
農 産 物	東京 大阪	1 5	3 1	7 0	0 4	1 3	0 0	10 8	0 5	0 0	7 10	6 8	5 0	3 6	0 2	3 0	4 8	1 1	1 0
水 産 物	東京 大阪	1 5	1 0	5 0	43 3	0 0	3 0	5 10	0 2	2 5	1 12	7 6	1 3	0 4	3 4	5 1	2 1	0 4	0 0
畜 産 物	東京 大阪	97 4	86 2	7 0	124 6	10 2	0 0	222 16	47 0	0 0	163 5	53 0	0 0	138 —	49 —	0 —	100 —	80 —	0 —
か ん び ん 詰	東京 大阪	11 11	1 0	0 0	— 4	— 0	— 0	7 3	0 1	0 0	— 2	— 0	— 0	— 1	— 0	— 0	2 —	2 —	0 —
添 加 物	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	0 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
酒 精 飲 料	東京 大阪	2 6	0 0	7 0	— —	— —	— —	0 1	0 0	1 0	0 1	0 0	3 0	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —
清 涼 飲 料	東京 大阪	— 1	— 0	— 0	— —	— —	— —	— 1	— 0	— 0	5 —	0 —	0 —	— —	— —	— —	2 —	0 —	0 —
器具, 包器, 包装, おもちゃ	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
上記いずれにも属さ ないもの	東京 大阪	1 1	0 0	0 0	0 —	1 —	0 —	0 2	1 0	0 0	0 4	1 2	0 0	1 11	0 0	0 0	2 1	0 0	0 0
計	東京 大阪	113 33	91 3	26 0	167 17	12 5	3 0	245 41	48 8	3 5	176 34	67 16	9 3	142 22	52 6	9 1	113 10	83 5	1 0
合 計		146	94	26	184	17	3	286	56	8	210	83	12	164	58	10	123	88	1

別 判 定 別 実 績 表

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			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
40	5	45	9	1	10	9	1	10	2	3	5	33	12	45	22	6	28	437	44	481

判 定 別 件 数 実 績 表

昭和45年度

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			計			
可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	可	不 可	要 注 意	合 計
—	—	—	2	0	0	—	—	—	1	0	2	1	0	0	0	1	0	29	12	18	59
10	3	0	16	11	0	16	5	0	11	13	0	15	5	1	28	8	0	137	65	1	203
3	1	0	0	0	⑨	—	—	—	—	—	—	0	0	2	13	5	13	68	17	⑨	126
8	4	4	7	0	1	10	1	0	3	2	1	6	0	0	6	0	0	75	23	32	112
67	67	②	136	104	0	176	55	15	55	83	0	114	42	12	75	45	51	1,467	721	②	2,248
3	0	0	—	—	—	0	1	0	12	0	0	—	—	—	1	0	0	47	5	39	52
1	4	0	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22	7	0	29
1	0	0	1	1	0	1	2	0	—	—	—	—	—	—	3	0	0	27	4	0	31
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	0	4	1	12	17
1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	0	0	9
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	0	8	0	0	8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	0	3	0	0	3
—	—	—	8	12	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	12	0	20
—	—	—	0	12	0	—	—	—	6	3	0	9	0	0	3	0	0	18	15	0	33
1	0	0	—	—	—	5	0	0	—	—	—	—	—	—	1	1	0	11	4	0	15
14	0	0	—	—	—	3	0	0	5	2	0	2	0	0	1	0	0	44	4	0	48
72	73	②	147	116	⑨	181	55	15	56	83	2	115	42	14	91	52	181	1,618	774	⑨	2,523
37	7	0	24	24	1	30	9	0	37	20	1	32	5	1	43	8	0	360	116	15	491
109	80	②	171	140	⑨	211	64	15	93	103	3	147	47	15	134	60	181	1,978	890	⑨	3,014

○内は判定なし

特別行政試験月別実績表

昭和45年度

区 分	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
東 京	23	42	16	7	12	11	2	38	6	18	40	312 (204)	527
大 阪	0	0	0	0	51	0	6	0	7	20	0	116 (116)	200
計	23	42	16	7	63	11	8	38	13	38	40	428 (320)	727

()内は残留農薬試験件数

一般依頼試験月別件数実績表

昭和45年度

区 分	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
東 京	30	5	9	12	12	11	24	54	9	11	9	5	191
大 阪	4	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	8
計	34	7	9	12	12	11	26	54	9	11	9	5	199

一斉取締試験実績表

昭和45年度

区 分	合 格	不 合 格	※ そ の 他	計
東 京	212	12	163	387
大 阪	62	2	0	64
計	274	14	163	451

※合否の判定は行なわなかった

国立衛生試験所標準品

Reference Standards

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

	標 準 品 名	単 位	価 格	使 用 目 的
1	ア ス コ ル ビ ン 酸	1 g入 1 本	1,400 ^円	アスコルビン酸散, 同錠, 同注射液, 注射用コルチコトリピンおよび持続性コルチコトリピン注射液の定量法
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	1,300	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	1,100	エストラジオールの純度試験
5	塩 酸 チ ア ミ ン	200mg入 1 本	1,900	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	1,500	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
7	含 糖 ペ プ シ ン	20 g入 1 本	1,500	含糖ペプシンのたん白消化力試験
8	ギ ト キ シ ン	20mg入 1 本	1,700	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	5,000	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 コ ル チ ゾ ン	100mg入 1 本	1,500	酢酸コルチゾン, 同錠, 同水性懸濁注射液の確認試験
11	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チン注射液の定量法
12	シ ア ノ コ バ ラ ミ ン	20mg入 1 本	1,000	シアノコバラミン, 同注射液の定量法
13	ジ エ チ ル ス テ ル ベ ス ト ロ ー ル	20mg入 1 本	300	ジエチルスチルベストール錠, 同注射液の定量法
14	ジ ギ タ リ ス	1 g入 アンプル 3 本	1,900	ジギタリス, 同末の定量法
15	ジ ギ ト キ シ ン	50mg入 1 本	2,100	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
16	ジ ゴ キ シ ン	50mg入 1 本	2,600	ジゴキシン, 同錠, 同注射液の確認試験および定量法
17	酒 石 酸 水 素 エ ピ レ ナ ミ ン	20mg入 1 本	700	エピレナミンの純度試験
18	酒 石 酸 水 素 ノ ル エ ピ レ ナ ミ ン	20mg入 1 本	1,300	エピレナミンの純度試験, 酒石酸水素ノルエピレナミン注射液の定量法
19	胎 盤 性 性 腺 刺 激 ホ ル モ ン	1,000単位入 アンプル 1 本	4,400	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

日本薬局方標準品

	標準品名	単位	価 格	使 用 目 的
20	チロシン	500mg入 1本	1,100 ^円	注射用ヒアルロニダーゼのチロシン含量試験
21	トロピン	10mg入 2本	2,700	トロピンの定量法
22	ニコチン酸	500mg入 1本	1,600	ニコチン酸錠, 同注射液の定量法
23	ニコチン酸アミド	500mg入 1本	1,500	ニコチン酸アミド錠, 同注射液の定量法
24	脳下垂体後葉	10mg入 2本	800	脳下垂体後葉注射液, オキシトシン注射液, 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
25	パラアミノベンゾイルグルタミン酸	500mg入 1本	1,600	薬酸, 同錠, 同注射液の定量法
26	ヒアルロニダーゼ	500mg入 1本	1,700	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
27	ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	1,500	ヒドロコルチゾン, 同錠の確認試験
28	ヘパリンナトリウム	1,200単位入 アンプル 1本	1,900	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
29	マレイン酸エルゴメトリン	20mg入 アンプル 1本	1,400	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
30	リボフラビン	200mg入 1本	1,400	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
31	硫酸プロタミン	100mg入 1本	1,600	インフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
32	リン酸ヒスタミン	20mg入 アンプル 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
33	ルチン	500mg入 1本	1,200	ルチン, 同錠, 同注射液の定量法
34	レセルピン	50mg入 1本	2,000	レセルピン, 同散, 同錠, 同注射液の定量法

国立衛生試験所標準品

	標準品名	単位	価格	使用目的
1	エストロン	20mg入 1本	800	円 エストロン製品の確認および定量法
2	塩酸チアミン液	1mg入 アンプル 10本	500	デカビタミンその他チアミン製品の定量法
3	デスオキシコルトン	20mg入 1本	1,500	デスオキシコルトン製品の確認および定量法
4	バレイショデンプン	100g入 1本	1,700	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(ビタミンA検定用)	1g(10,000単位) 入アンプル10本	1,600	デカビタミンその他ビタミンA製品の定量法
6	プロゲステロン	10mg入 1本	1,200	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	20mg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〕	各1g入 6本	2,700	融点測定用温度計, 同装置の補正
9	リゾチーム	500mg入 1本	2,400	リゾチーム製品の定量法
10	アシッドレッド	1g入 1本	510	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアシッドレッドの確認試験
11	アゾルビンエキストラ	1g入 1本	420	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のアゾルビンエキストラの確認試験
12	アマランス	1g入 1本	300	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアマランスの確認試験
13	インジゴ	1g入 1本	420	外用医薬品, 化粧品および製剤中のインジゴの確認試験
14	インジゴカルミン	1g入 1本	280	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
15	エオシン	1g入 1本	300	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエオシンの確認試験
16	エリスロシン	1g入 1本	360	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエリスロシンの確認試験
17	オイルエロー AB	1g入 1本	280	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー ABの確認試験
18	オイルエロー OB	1g入 1本	300	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー OBの確認試験
19	オイルオレンジ SS	1g入 1本	270	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルオレンジ SSの確認試験
20	オイルレッド XO	1g入 1本	280	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルレッド XOの確認試験
21	オレンジ I	1g入 1本	330	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオレンジ Iの確認試験
22	ギネアグリーン B	1g入 1本	690	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のギネアグリーン Bの確認試験
23	サンセットエロー FCF	1g入 1本	290	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

国立衛生試験所標準品

	標準品名	単位	価格	使用目的
			円	
24	タートラジン	1g入 1本	330	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
25	テトラクロロテトラブromフルオレセイン	1g入 1本	450	外用医薬品, 化粧品および製剤中のテトラクロロテトラブromフルオレセインの確認試験
26	テトラブromフルオレセイン	1g入 1本	430	外用医薬品, 化粧品および製剤中のテトラブromフルオレセインの確認試験
27	トルイジンレッド	1g入 1本	380	外用医薬品, 化粧品および製剤中のトルイジンレッドの確認試験
28	ナフトールエロー S	1g入 1本	310	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のナフトールエロー Sの確認試験
29	ニューコクシン	1g入 1本	330	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
30	パーマネントオレンジ	1g入 1本	380	外用医薬品, 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
31	ハンサエロー	1g入 1本	380	外用医薬品, 化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験
32	ブリリアントブルー FCF	1g入 1本	670	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のブリリアントブルー FCFの確認試験
33	フロキシシン	1g入 1本	320	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のフロキシシンの確認試験
34	ボンソー R	1g入 1本	330	医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー Rの確認試験
35	ボンソー SX	1g入 1本	330	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー SXの確認試験
36	ボンソー 3R	1g入 1本	370	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー 3Rの確認試験
37	リソールルビン BCA	1g入 1本	350	外用医薬品, 化粧品および製剤中のリソールルビン BCAの確認試験
38	レーキレッド C	1g入 1本	350	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッド Cの確認試験
39	レーキレッド CBA	1g入 1本	380	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッド CBAの確認試験
40	レーキレッド DBA	1g入 1本	380	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッド DBAの確認試験
41	ローズベンガル	1g入 1本	370	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のローズベンガルの確認試験

昭和45年度国立衛生試験所標準品の出納状況

(医薬品等試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費数量	本年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アスコルビン酸	96	336	379	8	45	
安息香酸エストラジオール	39	0	15	0	24	
インシュリン	160	0	51	4	105	
エストラジオール	0	0	0	0	0	
エストロロン	23	0	7	0	16	
塩酸チアミン	1	378	344	1	34	
塩酸チアミン液	308	495	560	2	241	
塩酸ピリドキシン	44	160	166	1	37	
含糖ペプシン	2	58	16	1	43	
ギトキシシン	6	0	2	1	3	
血清性性腺刺激ホルモン	65	0	59	4	2	
酢酸コルチゾン	33	0	9	0	24	
酢酸デソキシコルトン	0	0	0	0	0	
シアノコバラミン	15	100	110	5	0	
ジエチルスチルベストロール	19	0	2	0	17	
シギタリクス	108	0	31	0	77	
シギトキシシン	19	0	6	0	13	
シゴキシシン	0	0	0	0	0	
酒石酸水素エピレナミン	1	0	0	0	1	
酒石酸水素ノルエピレナミン	83	0	7	0	76	
胎盤性性腺刺激ホルモン	38	132	125	15	30	
チロシン	8	50	41	0	17	
デソキシコルトン	0	0	0	0	0	
トロピン	10	0	6	0	4	
ニコチン酸	49	100	13	0	136	
ニコチン酸アミド	46	0	42	0	4	
脳下垂体後葉	39	50	53	0	36	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	41	0	37	1	3	
バレイショデンプン	17	94	53	0	58	
ヒアルロニダーゼ	27	0	4	0	23	
ピタミンA油	305	0	203	36	66	
ヒドロコルチゾン	18	0	12	1	5	
プロゲステロン	3	0	2	0	1	
プロピオン酸テストステロン	81	0	10	0	71	
ヘパリンナトリウム	62	100	35	0	127	
マレイン酸エルゴメトリン	40	0	34	5	1	
融点測定用	24	79	55	1	47	
リゾチーム	3	90	52	1	40	
リボフラビン	161	200	359	0	2	
硫酸プロタミン	51	0	0	0	51	
リン酸ヒスタミン	1	0	0	0	1	
ルチン	49	65	31	2	81	
レセルピン	77	0	73	0	4	
計(医薬品用)	2,172	2,487	3,004	89	1,566	

(色素試験用標準品)

標 準 品 名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費数量	本年度末 在庫数量	備 考
	個	個	個	個	個	
ア シ ッ ド レ ッ ド	339	0	18	3	318	
アゾルビンエキストラ	223	0	2	0	221	
ア マ ラ ン ス	259	0	23	0	236	
イ ン シ ゴ	230	0	4	0	226	
イ ン シ ゴ カ ル ミ ン	307	0	22	1	284	
エ オ シ ン	353	0	24	3	326	
エ リ ス ロ シ ン	363	0	26	0	337	
オ イ ル エ ロ ー AB	401	0	10	1	390	
オ イ ル エ ロ ー OB	406	0	11	1	394	
オ イ ル オ レ ン ジ SS	437	0	13	1	423	
オ イ ル レ ッ ド XO	409	0	12	0	397	
オ レ ン ジ I	456	0	11	1	444	
ギ ネ ア グ リ ー ン B	233	0	5	0	228	
サンセットエロー FCF	265	0	23	1	241	
タ ー ト ラ ジ ン	266	0	29	0	237	
テトラクロルテトラブROMフル オレセイン	0	0	0	0	0	
テトラブROMフルオレセイン	233	0	5	5	223	
ト ル イ ジ ン レ ッ ド	179	0	3	1	175	
ナフトールエロー S	408	0	21	1	386	
ニ ュ ー コ ク シ ン	245	0	24	15	206	
パーマネントオレンジ	158	0	8	1	149	
ハ ン サ エ ロ ー	176	0	4	1	171	
ブリリアントブルー FCF	335	0	21	1	313	
フ ロ キ シ ン	313	0	28	0	285	
ポ ン ソ ー R	419	0	12	2	405	
ポ ン ソ ー SX	376	0	20	3	353	
ポ ン ソ ー 3R	412	0	16	1	395	
リソールルビン BCA	476	0	4	1	471	
レ ー キ レ ッ ド C	487	0	2	2	483	
レ ー キ レ ッ ド CBA	226	0	4	2	220	
レ ー キ レ ッ ド DBA	237	0	2	2	233	
ロ ー ズ ベ ン ガ ル	372	0	29	1	342	
計 (色素用)	9,999	0	436	51	9,512	
合 計	12,171	2,487	3,440	140	11,078	

衛生試験所報告への投稿について

国立衛生試験所図書委員会

投 稿 規 定

- 1 投稿資格：国立衛生試験所所員とする（共著者はこの限りでない）。
- 2 内 容：原稿は報文、ノート、資料とする。そのほか誌上発表、学会発表、業務報告、総説などを収載する。
 報 文：独創性に富み、新知見を含むまとまった研究業績。
 ノー ト：断片的な研究業績で、独創性や新知見が認められるもの。
 資 料：試験、製造または調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 誌上発表：衛生試験所報告以外の雑誌に発表したもの。
 学会発表：学会で講演したもの。
 業務報告：所長、各部長（支所も含む）、および各薬用植物栽培試験場の長が過去1年間（前年度）の業務成績、研究業績をまとめた報告。
 総 説：所員の調査または研究を中心とした総説で、所長、部長会から要望されたものについて、図書委員会が執筆を依頼したもの。
- 3 用紙および枚数の制限：
 衛生試験所所定の下稿用紙を用いる。
 報 文：図表を含めて20枚以内。
 ノートおよび資料：図表を含めて15枚以内。
 誌上発表：1題目について3枚以内。
 業務報告：各部および各薬用植物栽培試験場について8枚以内。
 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
- 4 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書し、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
- 5 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

- 1 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。
- 2 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない（例：塩酸と書きHClとしない）。また、化学名を英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
- 3 略記、略語、記号：物質名を略記するとき、和文、英文ともに最初は正式な名称とともに示す。例：イソニコチン酸（INA）と書き、（以下INAと略す）とはしない。略語、記号は日本薬局方の記載方式に従う。

必ず用いなければならないもの：m, cm, mm, μ , m μ , Å, m², m³, l (L としない), ml (cc は用いない), μ l, kg, g, mg, μ g (γ は用いない), ng, N (normal concentration), M (molar concentration, 絶対量を示すときは mole とする), pH, ° (degree Celsius, °C としない. 例：50°), %, w/v %, Rf, t_R, ppm, Ci, mCi, μ Ci, mmHg.

主として図表にだけ用いられるもの：mp (融点), bp (沸点), dp (分解点), d (比重), n (屈折率), α (旋光度), hr (時間), min (分), sec (秒) (時間は複数のときも s をつけない), $\lambda_{\max}$ (吸収極大), $\lambda_{\min}$ (吸収極小), E_{1cm}^{1%} (E 値).

4 句 読 点：, . を用い, 、 。 としない。

5 数 字：アラビア数字を用いる。千の単位にコンマをつけない。ただし、成語となっている数字は漢字とする。

6 字 体 の 指 定：黒鉛筆でつぎのように記す。

ゴ シ ッ ク 体——	例：見出しなど	試薬
イ タ リ ッ ク 体~~~~	例：学名など	<i>Papaver somniferum</i> L.
スモールキャピタル=====	例：著者名など	Masato <u>ASAHINA</u>

7 報文、ノート、資料の記載要領：

7・1 記 載 順 序：7・2～7・5の順に書く。

7・2 題名、著者名：つぎの例に従い、表紙（用紙1枚全部）をこれに当てる。

例：

医薬品の確認試験法に関する研究（第2報）
 鎮痛剤のクロマトグラフィー
 用賀 衛・世田一郎・東 京子
Studies on the Identification of Drugs. II
Chromatographic Methods for the Analgesics
 Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英 文 要 旨：論文の内容を簡潔にまとめ、タイプライターで打つ。参考のため別紙に書いた和文を文献のつぎに添える。

7・4 本 文：新しいページから書き始める。本文のスタイルはとくに規定しないが、内容の重複を避ける。凸版にする図、または原稿用紙に書き切れない表がある場合、それらのそう入位置に若干の余白を設け、図表の番号を明記する。

7・5 文 献：本文の引用箇所の右肩に³⁾, ^{2,5)}, ¹⁻⁴⁾のように記し、終わりに文献として引用順に書く。雑誌名は Chemical Abstracts および日本化学総覧の略記法による。外国雑誌名はイタリック体であらわし、単行本は書名を省略しない。

例：

- 1) 神蔵美枝子, 谷村顕雄：衛生試報, 88, 112 (1970)
- 2) 菅野三郎ら：衛生化学, 17, 19 (1971)
- 3) M.D. Hollenberg, D.B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)
- 4) A. White et al.: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York
- 5) 佐々木慎一：マスペクトル解説, p. 61 (1967) 広川書店
- 6) USP XVIII, p. 321
- 7) JIS K 1234 (1970)

- 7・6 図 表：図または複雑な構造式など、凸版にする必要のあるものは厚手白色紙か青色方眼紙に黒インクまたはすみで書き、図中の数字、記号または説明などの文字は黒鉛筆で記す。図の大きさは原則として原稿用紙1/2枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書く。

図の番号は Fig. 1., Fig. 2., ……とし、表題、説明はともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き（資料の場合はこの限りでない）、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例：

Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone
as a function of time

図および別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。

提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、ならびに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

- 8 誌上发表の記載要領：題名のつぎに改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。
さらに改行して論文の要旨のみを記す。

- 9 学会発表の記載要領：演者名に続いて演題名を記す。改行して学会名、日付け〔例(1970.4.5)〕を記す。各演題ごとに余白2行を設ける。

校 正

初校は著者が行なう。人名、化学名、数値、文献などはとくに綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。凸版の原図は黒鉛筆で校正する。

別 刷

報文、ノート、資料は各題目につき50部を著者に無料で提供する。それ以上を希望するとき、超過分の実費は著者の負担とする。

昭和 46 年 度 図 書 委 員

朝比奈 正 人 (委員長)

中 島 利 章	大 野 昌 子	西 崎 笹 夫
亀 谷 勝 昭	福 岡 正 道	伊 東 宏
辻 楠 雄	光 楽 昭 雄	慶 田 雅 洋
河 西 勉	高 仲 正	鈴 木 幸 子
渡 辺 光 夫	藤 井 敬 二	大 野 忠 郎

衛 生 試 験 所 報 告 第 89 号

昭和 46 年 11 月 10 日 印 刷

昭和 46 年 11 月 15 日 発 行

発 行 所 国立衛生試験所附属図書館
東京都世田谷区上用賀1丁目18番1号

印 刷 所 鈴 山 堂 印 刷 株 式 会 社
東京都新宿区新小川町2-3