

衛生試験所報告

第 94 号

昭和 51 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 94 1976

国立衛生試験所

衛生試験報
Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試報94号正誤表

ページ	位 (左右, 上下, 行)	誤	正
10	左上3行	えこで	そこで
15	左上24行	活性炭化クロマトグラフィー	活性炭クロマトグラフィー
31	Table 上1行	colonils	colonies
57	右上2行	励起波長	励起波長
78	左下2行	果 教	果 数
79	Table 3. 上3行	0.43***	0.43*
"	"	0.41***	0.41
"	Table 3. 上4行	0.55***	0.77***
"	"	0.77***	0.80***
"	"	0.80***	0.87***
81	左上10行	Palytech	Polytech
99	左上26行	においてはな	においはない
107	右下4行	8件なった	8件おこなった
132	左下8行	ホルト容器	ボトル容器
172	下 17 行	1,053,919	1,014,946
"	"	188%	195%
173	右上15行	1,2-ジオキンド	1,2-ジオキシド
176	右下1行	比率もいくらか	比率もいくらか
189	左上11行	サイクミン酸ナトリウム	サイクラミン酸ナトリウム
198	左上26行	1ボロギク	ノボロギク
"	左下2行	最 高	最 低
222	右上5行	イオン交換カラムクロトグラフィ	イオン交換カラムクロマトグラフィー
258	左上17,22行	掘 越	堀 越



衛生試験所報告

第 94 号

昭和 51 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 94 1976

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

報 文

- ミニコンによる質量分析計の操作法に関する研究 (第2報) 高分解能および低分解質量分析法
における検出感度の向上……………叶多謙藏・阿部久人・織部澄男…… 1
- キノホルム類似化合物亜鉛キレート of 安定性について……………池淵秀治…… 6
- 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第22報) 農作物中のチオファネート・メチルおよびメチル
2-アミノベンゾイミダゾールカーバメートのガスクロマトグラフィーによる分析
……………武田明治・内山充・川村京子・土橋知代子…… 9
- 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第23報) 有機りん農薬の転溶々媒および活性炭クロマト
グラフィー……………福原克治・武田明治・内山 充……14
- 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第24報) アセトニトリル-ヘキサン分配による油脂中の
有機りん農薬のクリーンアップ法……………福原克治・武田明治・内山 充……18
- ザルツマン試薬を用いる窒素酸化物自動計測器の二酸化窒素測定におけるオゾンの影響について
……………山手 昇・松村年郎……23
- 染毛剤の突然変異性に関する研究……………吉川邦衛・内野晴美・倉田 浩……28
- キノホルム亜鉛キレートのウサギ神経組織への分布について……………浦久保五郎・城戸靖雅・永松国助……32
- マウスにおける内毒素の致死効果と体温に対する効果および両効果に対する reserpine 前処置の
影響……………西尾 晃・加納晴三郎……36

ノ ー ト

- トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) の合成 ……………永松国助……41
- 3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-Oxide および 1,2-Dioxide とナトリウムメトキシドの反応
……………末吉祥子・鈴木郁生……43
- 幻覚剤に関する研究 (第10報) Phenethylamine 系化合物の確認……………大野昌子・島峯望彦・高橋一徳……46
- 高速液体クロマトグラフィーによる臭化プロパンテリン錠の定量……………柴田正・中原裕・伊坂 博・持田研秀……54
- ギトキシンの比色定量……………徳永裕司・木村俊夫・川村次良……56
- 牛乳中の放射性ヨウ素分析法のための基礎実験について……………亀谷勝昭・河上一美……59
- Detection and Determination of Sorbic Acid in Dried Fig
……………Masahiro IWAI,DA, Yoshio ITO, Masatake TOYODA and Takako KANAMORI……62
- 2,6-ジクロロキノクロロイミドを使用する かんきつ中の *o*-フェニルフェノールの簡易測定法
の改良……………慶田雅洋・伊藤啓志男・豊田正武……64
- 衣料品店における衣類へのホルムアルデヒドの移染について
……………小嶋茂雄・中村晃忠・鹿庭正昭・飯田和子・大場琢磨……69
- 各種防霉・殺菌剤の Membrane Filter への吸着現象に関する研究
……………石関忠一・吉川邦衛・渡辺美奈子・浅賀良雄……72
- ケシの直接抽出に関する研究 (第3報) 収量構成要素の栽植密度反応
……………畠山好雄・本間尚治郎・大野忠郎・大野昌子・島峯望彦・高橋一徳……77

資 料

- N-アルキル-N-ニトロソウレタン類の製造 ……………神谷庄造・宮原 誠……83
- 製剤の含量均一性試験について (第1報) ジメンヒドリナート錠の分析法について
……………植岡澄子・古謝紀和・岡 恒・持田研秀……84

日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (第9回, Control 741) の製造	川村次良・佐藤 浩・木村俊夫・三谷和子	88
日本薬局方ヘパリンナトリウム標準品 (粘膜性, Control 731) 制定のための共同検定	川村次良・木村俊夫・徳永裕司・横田椅江	90
シアノコバラミン標準品の乾燥減量について—特に吸光度測定法の定量値への影響—	太田美矢子・木村俊夫・川村次良	94
インシュリンに関する資料 (第9報) 日局“インシュリン標準品 (741)”について	佐藤 浩・木村俊夫・三谷和子・横田椅江・小林熊夫・川村次良	97
国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “ジギトキシン標準品”について	徳永裕司・木村俊夫・川村次良	98
国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “ラナトシドC標準品”について (第二報)	徳永裕司・木村俊夫・川村次良	100
国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “ジゴキシン標準品”について	徳永裕司・木村俊夫・川村次良	102
国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “ギトキシン標準品”について	徳永裕司・木村俊夫・川村次良	103
国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “エストラジオール標準品”について	徳永裕司・木村俊夫・川村次良	105
昭和50年度における輸入食品の化学検査について	慶田雅洋・金田吉男・伊藤善志男・ 豊田正武・鈴木英世・西川マチ子・金森孝子・松本陽子・外海泰秀・中村恵三	106
、 くん液の化学成分に関する基礎調査	石綿 肇・渡辺晴美・渡部美知子・林 敏夫・原 義知・加藤三郎・谷村顕雄	112
マルトールとエチルマルトールの識別	慶田雅洋・金田吉男・鈴木英世・松本陽子	117
Detection and Determination of Diphenyl (DP), <i>o</i> -Phenylphenol (OPP) and Thiabendazole (TB) from Imported Citrus Fruits	Masahiro IWAIDA, Yosio KANEDA, Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI, Masatake TOYODA, Machiko NISHIKAWA, Akira YAMAJI and Keizo NAKAMURA	120
輸入食肉および肉製品中の亜硝酸塩の測定成績	慶田雅洋・金田吉男・西川マチ子	122
Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes and Coal-Tar Dye Aluminum Lakes from April in 1975 till March in 1976 (on the Product Examination of Coal-Tar Dyes XV)	Masahiro IWAIDA, Keizo NAKAMURA, Akira YAMAJI, Hideyo SUZUKI, Yoko MATSUMOTO, Machiko NISHIKAWA and Yoshio KANEDA	124
塩化ビニル樹脂の衛生学的研究 (第3報) 塩化ビニル樹脂製品中の残存モノマーについて	辰濃 隆・佐藤美恵子・谷村顕雄	127
塩化ビニル樹脂の衛生学的研究 (第4報) 塩化ビニル樹脂製容器充填食品中の塩化ビニルモノマー量について	辰濃 隆・佐藤美恵子・谷村顕雄	133
歯みがきによる歯の磨耗と掻痒度試験について	慶田雅洋・金田吉男	136
空気中のクロレインの改良4-ヘキシルレゾルシノール法による測定について	山手 昇・松村年郎	138
東京都内3カ所の国設自動車排出ガス常時測定所における大気汚染測定結果の概要 (1975年1月~12月)	山手 昇・松村年郎・樋口英二	142
合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍性効果	安斎美知子・鈴木郁生・神谷庄造・ 中島利章・中館正弘・中村晃忠・末吉祥子・丹野雅幸・宮原 誠・小田嶋成和・石館 基	148
2,4,5-トリメチルアニリンおよび2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸ナトリウムの製造とそれらの肝酵素活性におよぼす影響について	神谷庄造・中村晃忠・高橋惇・安斎美知子・大森義仁	159
昭和46~50年度日本産あへんのモルヒネ含量について		

.....持田研秀・岡恒・野口衛・古謝紀和・植岡澄子…	162
薬用植物の栽培試験（第6報） ミシマサイコの発芽および初期生育について	
.....堀越司・本間尚治郎・石崎昌吾…	163
薬用植物の栽培試験（第7報） ミシマサイコの生育，収量について	
.....堀越司・本間尚治郎・石崎昌吾…	166
業務報告.....	171
特別研究報告.....	205
誌上发表.....	223
学会発表.....	251
衛試例会.....	260
国家検定，国家検査などの試験状況報告.....	267
国立衛生試験所標準品.....	275
国立衛生試験所百年史 注（その2）	

CONTENTS

Originals

K. KANOHTA, H. ABE and S. ORIBE: Studies on Optimization of Combined Operation of Mass Spectrometry and Mini-computer; II Sensitivity Enhancement by means of Optimization of Instrumental Operation Parameters.....	1
H. IKEBUCHI: On the Stability of 8-Quinolinol Derivatives Zinc Chelates	6
M. TAKEDA, M. UCHIYAMA, K. KAWAMURA and C. DOBASHI: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXII Analytical Method for Thiophanate methyl and 2-Aminobenzimidazolecarbamate in Crops by Gas Chromatography.....	9
K. FUKUHARA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXIII Selection of Solvents for Organophosphorus Pesticides from Aqueous Acetone Solution and for Eluting those from Charcoal Column Chromatography	14
K. FUKUHARA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXIV Improved Studies on Separation of Organophosphorus Pesticides from Oil and Fat by Acetonitrile-Hexane Partitioning.....	18
N. YAMATE and T. MATSUMURA: Determination of an Ozone Interference in the Continuous Analyzers and Manual Method for Nitrogen Dioxide in Ambient Air by the Use of the Saltzman Reagent	23
K. YOSHIKAWA, H. UCHINO and H. KURATA: Studies on the Mutagenicity of Hair Dye.....	28
G. URAKUBO, Y. KIDO and K. NAGAMATSU: Distribution of Chinoform-Zinc Chelate Compound in Rabbit's Nerves	32
A. NISHIO and S. KANOH: Potentiation of Mortality and Reversal of Hypothermia in Reserpined Mice by Endotoxin	36

Notes

K. NAGAMATSU: Synthesis of Triphenyltin acetate (¹¹³ Sn)	41
S. SUEYOSHI and I. SUZUKI: Reactions of 3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-Oxide and 1,2-Dioxide with Sodium Methoxide	43
M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Studies on Hallucinogens. α X α Identification of Phenethylamine and its Derivatives	46
T. SHIBATA, H. NAKAHARA, H. ISAKA and K. MOCHIDA: Determination of Propantheline Bromide Tablets by High-speed Liquid Chromatography	54
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: Colorimetric Determination for Gitoxin	56
K. KAMETANI and H. KAWAKAMI: Fundamental Experiment for Analysis of Radioiodine in Milk	59
M. IWAIDA, Y. ITO, M. TOYODA and T. KANAMORI: Detection and Determination of Sorbic Acid in Dried Fig.....	62
M. IWAIDA, Y. ITO and M. TOYODO: Improvements in the Simplified Method for the Detection of <i>o</i> -Phenylphenol (OPP) in Citrus Fruits by Use of 2,6-Dichloroquinone-chloroimide	64
S. KOJIMA, A. NAKAMURA, M. KANIWA, K. IIDA and T. ŌBA: Formaldehyde-adsorption on Various Wears in the Clothing Shop	69

C. ISHIZEKI, K. YOSHIKAWA, M. WATANABE and Y. ASAKA: Studies on the Adsorption of Several Preservatives onto Different Membrane Filters.....	72
Y. HATAKEYAMA, N. HOMMA, T. OHNO, M. OHNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Studies on Cultivation of <i>Papaver somniferum</i> L. and Extraction of the Alkaloids. III Response of Yield Component to Planting Density	77

Technical Data

S. KAMIYA and M. MIYAHARA: Preparation of N-Alkyl-N-nitrosourethans.....	83
S. UEOKA, N. KOJA, H. OKA and K. MOCHIDA: Studies on the Content Uniformity Test. I Analytical Methods for the Dimenhydrinate Tablets	84
J. KAWAMURA, H. SATO, T. KIMURA and K. KITANI: Preparation of the Japanese Pharmacopoeia Standard Human Chorionic Gonadotropin (9th, Control 741)	88
J. KAWAMURA, T. KIMURA, H. TOKUNAGA and I. YOKOTA: Collaborative Assay for Establishment of the Japanese Pharmacopoeia Standard Heparin Sodium (mucosal origin, Control 731)	90
M. OHTA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: Loss on Drying of Cyanocobalamin Reference Standard—Particularly Influence on Found Values of the Spectrophotometry.....	94
H. SATOH, T. KIMURA, K. MITANI, I. YOKOTA, K. KOBAYASHI and J. KAWAMURA: On the Insulin. IX On the Japanese Pharmacopoeia Standard "Insulin Standard (741)".....	97
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Digitoxin Reference Standard"	98
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Lanatoside C Reference Standard" II.....	100
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Digoxin Reference Standard"	102
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Gitoxin Reference Standard"	103
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Estradiol Reference Standard"	105
M. IWAIDA, Y. KANEDA, Y. ITO, M. TOYODA, H. SUZUKI, M. NISHIKAWA, T. KANAMORI, Y. MATSUMOTO, Y. TONOGAI and K. NAKAMURA: Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods from April in 1975 till March in 1976	106
H. ISHIWATA, H. WATANABE, M. WATANABE, T. HAYASHI, Y. HARA, S. KATO and A. TANIMURA: Chemical Compositions of Smoke Flavour	112
M. IWAIDA, Y. KANEDA, H. SUZUKI and Y. MATSUMOTO: Differentiation of Ethyl Maltol from Maltol	117
M. IWAIDA, Y. KANEDA, Y. ITO, Y. TONOGAI, M. TOYODA, M. NISHIKAWA, A. YAMAJI and K. NAKAMURA: Detection and Determination of Diphenyl (DP), <i>o</i> -Phenylphenol (OPP) and Thiabendazole (TB) from Imported Citrus Fruits	120

M. IWAIDA, Y. KANEDA and M. NISHIKAWA: Determination of Nitrite in Imported Meat and Meat Products.....	122
M. IWAIDA, K. NAKAMURA, A. YAMAJI, H. SUZUKI, Y. MATSUMOTO, M. NISHIKAWA and Y. KANEDA: Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes and Coal-Tar Dye Aluminum Lakes from April in 1975 till March in 1976	124
T. TATSUNO, M. SATO and A. TANIMURA: Hygienic Study on Polyvinyl Chloride. III Residual Vinyl Chloride in Polyvinyl Chloride Products	127
T. TATSUNO, M. SATO and A. TANIMURA: Hygienic Study on Polyvinyl Chloride. IV Determination of migrated Vinyl Chloride in Food from Polyvinyl Chloride Bottle	133
M. IWAIDA and Y. KANEDA: On the Abrasiveness of Dentifrices and a Simple Method for Testing Gritty Matters in Dentifrices	136
N. YAMATE and T. MATSUMURA: Determination of Acrolein in Ambient Air by Use of Modified 4-Hexylresorcinol Method.....	138
N. YAMATE, T. MATSUMURA and E. HIGUCHI: Summary of Air Pollutants Levels at the National Autoexhaust Monitoring Station at Three Locations in Tokyo from January to December 1975	142
M. ANZAI, I. SUZUKI, S. KAMIYA, T. NAKASHIMA, M. NAKADATE, A. NAKAMURA, S. SUEYOSHI, M. TANNO, M. MIYAHARA, S. ODASHIMA and M. ISHIDATE, Jr.: Antumor Effects of Compounds synthesized in the Department of Synthetic Chemistry	148
S. KAMIYA, A. NAKAMURA, A. TAKAHASHI, M. ANZAI and Y. ŌMORI: Preparation of 2,4,5-Trimethylaniline and Sodium 2,4-Dimethylaniline-5-sulfonate, and Their Effects on Liver Enzyme Activities.....	159
K. MOCHIDA, H. OKA, M. NOGUCHI, N. KOJA and S. UEOKA: Determination of Morphine Content of Japanese Opium from 1971 to 1975	162
T. HORIKOSHI, N. HOMMA and S. ISHIZAKI: Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. VI On the Germination and Growth of <i>Bupleurum falcatum</i> L.....	163
T. HORIKOSHI, N. HOMMA and S. ISHIZAKI: Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. VII On the Growth and Yield of <i>Bupleurum falcatum</i> L.	166
Annual Reports of Departments	171
Report of Collaborative Study	205
Summaries of Papers Published in Other Journals	223
Titles of Speeches at Scientific Meetings	251
Seminars	260
Survey of the Results of National Tests	267
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences	276

ミニコンによる質量分析計の操作法に関する研究 (第2報)
 高分解能および低分解能質量分析法における
 検出感度の向上*

叶多謙蔵・阿部久人・織部澄男

Studies on Optimization of Combined Operation of Mass
 Spectrometry and Mini-computer. II
 Sensitivity Enhancement by means of Optimization of
 Instrumental Operation Parameters

Kenzoh KANOHTA, Hisato ABE and Sumio ORIBE

The authors pointed out previously that resolving power of magnetic field scan high-resolution mass spectrometry (HMS) *per se* and resolution obtained from HMS-Computer system was quite a different matter.

In the present paper, methods of enhancement of detection limits of MS-Computer are described by means of investigating the optimal operational parameters of either HMS or LMS (low-resolution MS).

It is concluded from the experiments that as for influences of apertures of slits on sensitivity enhancement there is a proportional relationship between signal increase and main slit width up to about 300 μm , it is not only observed a proportional effect but caused worse resolving power to open the slit wider than this length. Independent expansion of either α or β slit width does not affect on intensification, only in case of synchronous change of apertures of both slits causes sensitivity enhancement. As for aperture of collector slit, excessive slit width causes failure of HMS data acquisition.

(Received May 31, 1976)

1. ま え が き

前報において著者らは¹⁾ 磁場掃引法による質量分析法 (以下 MS と略記) では高速掃引する程パターン係数に関する情報は正確となる反面, 磁場掃引速度の精度の低下など招来し, ミニコンなど電子計算機を併用して MS スペクトルのデータ収集・処理を行なうシステムにおいては掃引速度が分解能に大きく影響することを明らかにした。これは MS 自体の分解能とミニコンの性能に由来する分解能は互いに独立していることに起因しており, ピークの出現時間間隔がミニコンのデータ処理速度単位と類似のタイムスケールを示すような高速掃引する場合, ミニコンによる観測結果の信頼性はいちじるしく低くなる。

しかし炭素, 水素, 酸素および窒素などで構成されている有機化合物では分子およびそのフラグメントイオン相互間, ならびに PFK などの基準物質に由来するイオンの質量差が数十ミリ質量単位 (mmu) 以下というような例はあまりないという事実に基づいて分解能が 2,400 と観測された掃引速度条件下においても十分な精度で高分解能 MS スペクトルを得ることができるとを明らかにした。

MS/コンピューター・システムでは MS スペクトルの分解能はミニコンの性能に基づく分解能に大きく制約される一方, システムとして精度よく MS スペクトルが得られさえすれば分解能を低下させても実用上何等さしつかえないということができる。

著者らはこのシステムにおける検出感度の向上をはかることを目的として, 高分解能および低分解能 MS 法で, MS のスリット開口率と検出感度の関係など MS の操作パラメーターについて検討し, あわせて両

* 叶多謙蔵・阿部久人: 衛生試験 93, 37 (1975) を第一報とする。

者における検出感度の比較を行ない種々の知見を得たのでここに報告する。

2. 実験装置および実験方法

2-1. 実験装置

日本電子(株)製20K型ガスクロマトグラフ/01SG-2型質量分析計を用い、日本ミコン(株)製 NOVA-01 型電子計算機を丸紅エレクトロニクス(株)の設計によるインターフェースを用いて連結し、同社による高分解能質量スペクトルデータ収集処理プログラムとピークモニター用プログラム、および日本工業システム(株)による低分解能質量スペクトルデータ収集処理プログラムを用いて実験を行った。

2-2. 実験方法

質量数基準物質としてパーフルオロアルカン(PFK) C, E 混合物(東京化成(株)製)を用いた。検出感度の比較について使用した試料は分子イオンピーク強度が大きくなおかつ、分子量が各々 100, 200, 300 前後である *p*-クレゾール、ビフェニル、テトラフェニルエチレン(和光純薬(株)製)を選び各々 100 pg/ μ l, 1 ng/ μ l, 10 ng/ μ l, 100 ng/ μ l の濃度に調整して用いた。また種々の MS 操作条件におけるピークの分離能をモニターするため、PFK のフラグメントイオン $C_2F_4^+$ (m/e 99.9936 amu) と質量数が類似している *n*-ヘプタン(東京化成(株)製)の分子イオンにつきガスクロマトグラフより溶出する時間に合わせて PFK だめから PFK を放出して両者を混合してイオン源に送り両イオンの分離能を測定した。上記のいずれの化合物も定量的にイオン源に導入するためには直接導入法では不可能であるので Gaschrom Q (80-100 メッシュ) を担体とした 3% SE-52 のカラムを用いてガスクロマトグラフに注入しエンリッチャーを経て MS に導入した。

操作パラメーターとしては、MS の主スリット、イオン発散角規制スリット(α スリット)、エネルギー規制スリット(β スリット)および検出器スリットの開口率とイオンマルチプライヤー電圧およびノイズ除去用フィルター、MS イオン源部としてイオン化電圧、イオン化電流など、および検出器スリット前方にあるディフレクター電圧、ミコンへのプリアンプゲイン、ピーク判定閾電圧など種々にわたり操作条件と得られるスペクトルの精度ならびに感度について検討を加えた。

3. 実験結果

3-1. 各種スリットの開口率と感度の関係

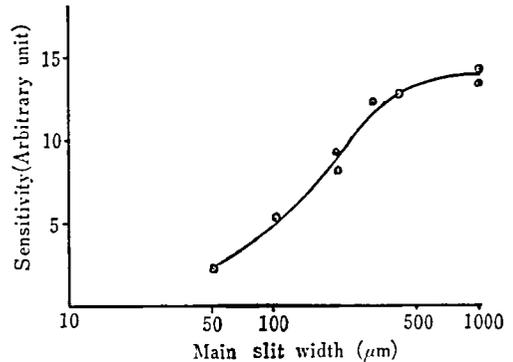


Fig. 1. Relationship between main slit width and ion intensities

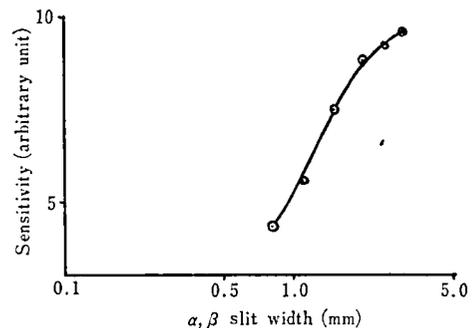


Fig. 2. Relationship between α , β slit width and ion intensities

感度の向上をはかるためには種々の方法があるがその第一としてスリットの開口率を大とすることに注目するとその結果分解能の低下を招き極端な場合にはピークの判定が不可能になってしまうので、精度のよいデータが得られること、および検出感度の向上もはかれることの至適条件を選定することが必要となる。Fig. 1 は、 α および β スリット、ならびに検出器スリット幅を一定としたときの主スリットの開口率と全イオン電流モニター (TIM) によるピーク強度の関係を示してある。TIM の代わりにその後方に位置する検出器スリットを通過する特定の m/e イオンの強度を測定しても上記とほぼ同じような関係が得られた。Fig. 1 からわかるように主スリット幅を 50 から 300 μ m まで開くとき、ほぼ直線的に感度が上昇するが、それ以上開いても感度は、ほとんど上昇しないことが明らかとなった。

Fig. 2 には主スリット、検出器スリットを一定としたときの α および β スリット幅の値と β スリット以降に置かれた電流計によるイオン電流値の関係を示す。

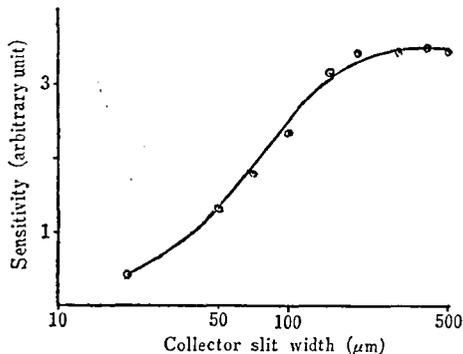


Fig. 3. Relationship between collector slit width and ion intensities

この場合も主スリット幅に関する実験と同様特定の m/e イオンの強度との関係においても同様な傾向が認められた。 α , β スリットのいずれかを単独に変化させるときには感度に対する影響は観測されず両者の開口率を同時に大とすることにより、はじめて感度が上昇することが認められた。

Fig. 3 には主スリット, α , β スリット幅を一定としたときの検出器スリットの開口率と特定の m/e イオンの強度の関係を示す。この実験によれば 200 μm までは、ほぼ直線的に感度は上昇するがそれ以上開口しても、もはや感度の上昇は認められないうえ、分解能については 200 μm 以上に開口するときでも低下していく。ゆえに 200 μm 以上に開口することは何の意義もなく逆に測定誤差を大とするだけであることがわかった。

3-2. 掃引速度と測定値の誤差の関係について

ピーク位置の判定には、あらかじめ入力パラメーターとして指定する一定のピーク閾電位の立ち上がりおよび立ち下がり時間に関しその重心をピーク出現位置と見なすようにしてあるが、ピークの出現状況によっては、サンプリング時に 1 単位データ点数のばらつきが生じることは明らかである。その結果ピークの重心は 1 単位データ点数の 1/2 のばらつきが生じ、掃引速度および m/e との関数であるこの 1 単位データ点数当りのミリ質量数が大きいほど観測される誤差も大きくなる。Fig. 4 に m/e : 149, 267 および 317 イオンについての掃引速度と観測された誤差の関係を示す。掃引速度を小さくすることにより 1 単位データ点数当りのミリ質量数は小さくなるので測定誤差のばらつきもまた小さくなっている。

3-3. 主スリットの開口率と誤差の関係

Fig. 5 に m/e 149, 267, 317 イオンについての主

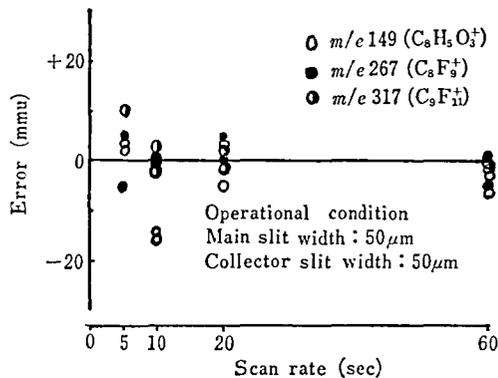


Fig. 4. Relationship between scan rate and high resolution m/e observed

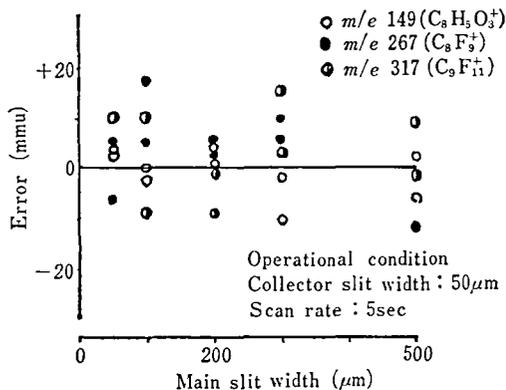


Fig. 5. Relationship between main slit width and high resolution m/e observed

スリットの開口率と誤差の関係を示す。スリットの開口率と誤差の相関性はみられず掃引速度による因子の方が誤差に対して大きく作用していることがわかる。しかしスリットの開口率を大にするにつれて MS のバックグラウンドピーク、およびガスクロマトグラフからの充填剤の溶出に由来するピークなどの強度が大となり試料のピークと近接したり、検量線作成に用いられる PFK の標準 m/e ピークと近接すると、ピーク判定閾電位によっては、二重線がシングレットピークとみなされ誤差が不当に大になるという可能性もある。

3-4. 感度とピーク判定閾電位の至適化との関係

ピーク判定閾電位は、ノイズの除去、ピークの分離、感度などについて重要なパラメーターの 1 つである。Fig. 6 にピークが未分離な状態にある 2 本のピークを分離するためのピーク判定閾電位と主スリットの

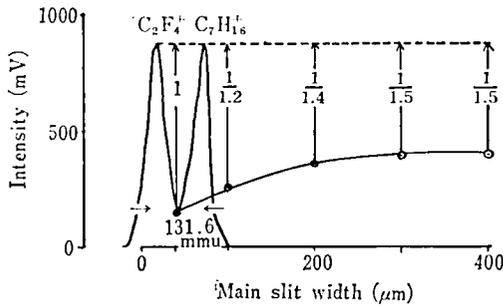


Fig. 6. Resolution of ions of less mass difference in relation of main slit width and their intensities

開口率との関係を示す。Fig. 1の主スリット幅と感度との関係と対比すれば、主スリットの開口率をできるだけ大にしてピーク判定閾電位を変化させる方が検出感度の向上をはかるうえで得策であることがわかる。

3-5. その他の感度の向上に与える因子

MSに関するものとしては、イオン源における加速電圧の増加やフィラメント電流の増加によって感度は向上する。通常ルーチンワークを目的として実験する場合にはイオン化電流値は 200 μ A と制御方式によっているが、非制御方式で操作しイオン化電流値を調整する時感度は 2~3 倍と向上した。また検出器のイオンマルチプライヤー電圧を上げると、ピークも大きくなるがノイズもそれと共に大きくなり、検出器出力をノイズ除去用フィルターを通して AD 変換器に入力させると若干ノイズレベルは低下するがしかし、信号の応答速度が遅くなるためピークは正規分布の形をとらなくなりショルダーピークとなって誤差が不当に大となることが認められた。これらの理由からイオンマルチプライヤー電圧は 1.8 kV が使用可能な極大値であった。GC/MS の測定においてはイオンレンズ電極、リペラー、グリッドおよびトラップ電圧の調整は、低分解能の場合にはガスクロマトグラフを MS と連結した状態で調整する方が実測条件に則しているのでよく、また高分解能 MS スペクトルの測定において、さらに PFK を混合しながら調整するとよい事がわかった。この理由としては、各々の測定においてガスクロマトグラフと MS を連結したり PFK を流出したときイオン源内の真空度が劣化する結果電子ビーム密度の定常状態に変化を生ずるためと考えられる。またミニコンへのブリアンプゲインを増加しても感度の向上がはかられるが、出力の S/N 比が低下する結果かえってピーク判定の誤差が大となるから過度のゲインは精度よい実験値を得る妨げとなる。実験の結果

最適条件は周波数帯幅 1 kHz のフィルターを用いゲイン： $\times 50$ であった。

3-6. 低分解能および高分解能質量分析法の検出感度の比較

ビフェニルの MS スペクトルのベースピークである分子イオンピークをメルクマールとして検出感度を調べた。Table 1 に低分解能法の、Table 2 に高分解能質量分析法での試料量とピーク強度の関係を示す。

ビフェニルとテトラフェニルエチレンの各々のベースピークの強度がほぼ同等であるとして高分解能法での検出限度は各々 1 および 5 ng であった。しかしこれらの比較においては、主としてそのクロマトグラムの形状などによってイオン源内におけるイオン消失速度が異ってくる結果厳密な定量的比較は困難である。

ピーク強度のばらつきを生じる因子としては、1 つにはガスクロマトグラムでのピーク幅がシャープなほど MS スペクトルの測定原点のタイミングのとりかたが重要になり、ガスクロマトグラムあるいは MS 掃引開始の再現性、イオン源の安定度およびピーク判定

Table 1. Sample sizes and intensities of molecular ion of biphenyl in GC/LMS*.

Sample size (ng)	Peak intensity (bits)
0.1	123
0.5	615
1.0	901
10.0	4095

* Operational condition of MS
Main slit width; 300 μ m
Collector slit width; 200 μ m
Scan rate; 5 sec

Table 2. Sample sizes and intensities of molecular ion of biphenyl in GC/HMS*.

Sample size (ng)	Error (mmu)	Peak intensity (mV)
1.0	-6.3	119
2.0	7.6	151
5.0	11.0	463
10.0	0.0	634
20.0	8.0	927
100.0	-6.7	3628

* Operational condition of MS
Main slit width; 200 μ m
Collector slit width; 50 μ m
Scan rate; 10 sec

アルゴリズムによるピーク強度判定方法によっても異ってくる。実験で用いられたソフトウェアでは、ピーク強度の判定にはピークと判定された中で AD 変換値の最高値をそのイオンピークの強度としており、ピーク出現時にうわ乗せられるノイズレベルを含めピークの最高強度として確認してしまふ可能性もあると考えられる。

4. 考 察

電子計算機を用いる MS の操作法は使用する電子計算機の性能によって大きく影響を受ける。極端な例としては、MS 出力の高速 AD 変換値を大容量の記憶装置（たとえば磁気テープなど）に取納させ一連のデータ収集を行なった後、ピークかノイズかの判定に始まるデータ処理をバッチ方式で実行する方法などをあげることができよう^{2),3)}。

著者らの使用している 20K 語コア・メモリーのみのミニコンではそのような方式を採用するのは不可能で、これは殆んどの実験室での実状でもあろう。

低分解能法の場合には、分解能は高分解能法に比べていちじるしく下げてもよいから主スリット、検出器スリットの開口率を大きくできるが、そのときピーク幅は 5 秒掃引の場合でも数ミリ秒にまで至り 1 本のピーク上に乗るノイズの周波数も広範囲にわたるようになる。またイオンマルチプライヤー電圧を上げていくと、そのノイズの影響で 1 本のピークでも見かけ上 2 本のピークであるかのようにデータ処理されることもあり、またブリアンプゲインなどを増加させることは 3-5 でも述べたように高分能法の場合と同じ理由から制限せざるを得ない。一般に検出感度はイオン源の汚染状況、ガスクロマトグラフのカラムからの溶出などによるバックグラウンドの強度によって大きく規制されこれは MS の使用状況によって変化する。Ryhage⁴⁾ は高速掃引する際発生するノイズの統計学的考察を行っており、イオン源における試料消失速度とスペクトル走査時間の関数として強度の精度を求めている。McFadden⁵⁾ は検出に要する最低必要量として直接導入法、充填カラムの GC/MS、キャピラリーカラムの GC/MS において各々 10^{-3} ~ 10^{-4} μg , 10^{-3} μg , 10^{-4} μg

であるとし化合物の同定には、最低検出感度の 100 倍量が必要であるとしており、著者らの実験値もほぼそれと同等であると認められた。

また一般にピーク高さはそのイオンの数に比例すると考えられるが、磁場掃引方法においてはピーク幅は全質量数範囲にわたって一定ではなく、従ってこの考えは正しくない。著者らの実験によると指数関数掃引の場合 $m/e: 100\sim 700$ の間でピーク幅に約 50% のひろがりを生じることが認められた¹⁾。等しいピーク幅を得るためには、初期の質量を M_0 、時間を t 、走査時間定数を T とすれば $m/e = M_0/e \cdot \exp(-t/T)$ で示されるような減衰指数関数走査を行なう必要があり、この場合ピーク高さはイオンの数に比例する。従ってほとんどのメーカーのソフトウェアではピーク強度の算出の際、ピークと認定された中で最も大きい A/D 値をそのピークの強度としており、この面からのソフトウェアの改善が望まれる。

以上述べてきたように MS スペクトルのパターン係数は掃引方法の差異によっても大きく変わると言える。写真乾板法においては、ピーク強度はイオン量が積分された形で黒化度として現われ感度の点について好ましい方法であるといえる⁶⁾。これに対し電気検出法では掃引速度の関数として瞬時のイオン量として記録されるが、この際のピーク強度は別の意味をもっている。

文 献

- 1) 叶多謙蔵, 阿部久人: 衛生試報 93, 37 (1975)
- 2) C. Merrit, Jr., P. Issenberg, M.L. Bazinet: *Anal. Chem.* 37, 1037 (1965)
- 3) R.L. Foltz, J.G. Watt, M.B. Neher: *Biochemical Applications of Mass Spectrometry* (ed. by G.R. Waller) p. 61 (1972), Wiley-Interscience
- 4) R. Ryhage: *Arkiv. Kemi.* 20, 185 (1962)
- 5) W.H. McFadden: *Advances in Chromatography* (ed. by J.C. Giddings & R.A. Keller) 4, p. 265 (1967), Marcel Dekker
- 6) K. Biemann, P.V. Fennessey: *Chimia* 21, 226 (1967)

キノホルム類似化合物亜鉛キレートの安定性について

池 測 秀 治

On the Stability of 8-Quinolol Derivatives Zinc Chelates

Hideharu IKEBUCHI

Stability constants of the zinc complexes of chinoform (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol, Ch), 5,7-dichloro-8-quinolinol (di-CIHQ), 5-chloro-8-quinolinol (5-CIHQ) and 8-quinolinol (HQ) were obtained colorimetrically, and the values for the former 2 compounds were greater than the values for the latter 2 compounds.

Stability of these complexes in solution was also studied colorimetrically in the presence of NaCl with concentration varying from 0.02 to 0.20 M. Although the addition of NaCl did not show any influence to the stability of zinc complexes of 4 compounds (ligand:Zn=1:1 in molar ratio), complexes of 5-CIHQ and HQ (ligand:Zn=2:1 in molar ratio) dissociated much easily than the complexes of Ch and di-CIHQ (ligand:Zn=2:1 in molar ratio) by addition of NaCl.

(Received May 31, 1976)

緒 言

Chinoform (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol, 以下 Ch とする) の連続投与により特異な神経症状を呈することが知られている¹⁾。また浦久保ら²⁾ はイヌを用いた長期連続投与実験で, Ch により神経症状を認めたほか, その脱ヨウ素体である 5-chloro-8-quinolinol (以下 5-CIHQ とする) では全く毒性を示さなかったことを報告した。

これらの化合物はいずれも強いキレート試薬であることから, キレートの性質と生体に及ぼす作用との関連を考慮して, 筆者は今回 Ch, 5,7-dichloro-8-quinolinol (以下 di-CIHQ とする), 5-CIHQ および 8-quinolinol (以下 HQ とする) についてそれらの亜鉛キレート化合物の安定性について実験を行った。得られた結果を以下に報告する。

実 験 方 法

1. 試薬および装置

1-1. 試薬 亜鉛溶液: 試薬特級酢酸亜鉛 (Zn(CH₃COO)₂·2H₂O) (和光純薬製) を精製することなく水に溶かし 2×10⁻³M および 2×10⁻²M に調製した。

8-オキシキノリン誘導体のジオキササン溶液: 市販のキノリン誘導体 (Ch, di-CIHQ, 5-CIHQ, HQ) (東京化成製) を熱エタノールから2回再結晶を行い精製後, ジオキササンに溶かし 2×10⁻⁴M および 4×10⁻⁴M

に調製した。

0.5M 酢酸アンモニウム溶液: 試薬特級酢酸アンモニウム (CH₃COONH₄) (和光純薬製) の 38.55 g を水 1 l に溶かした。

1M 塩化ナトリウム溶液: 試薬特級塩化ナトリウム (NaCl) (和光純薬製) 58.44 g を水 1 l に溶かした。

1-2. 装置 キノリン誘導体亜鉛キレート化合物のスペクトルは自記分光光度計 (島津 Double-40R 型) を用い, 吸光度の測定は日立分光光度計 (100-40 型) を用いた。

2. 操作法

2-1. キレート安定度定数

Bjerrum³⁾ の方法に従って 2×10⁻⁴M キノリン誘導体ジオキササン溶液 25 ml に 2×10⁻³M 酢酸亜鉛溶液 0.5 ml から 20 ml までの各々の容量を加えてさらに 0.5M 酢酸アンモニウム 5 ml を各々に加え, 最後に蒸留水で全量を 50 ml とし, よく振とうして均一にした。亜鉛と 8 オキシキノリン誘導体により生成したキレートの吸収極大 (λ_{max}) すなわち, Ch, di-CIHQ および 5-CIHQ の亜鉛キレートは 390 nm, HQ の場合は 370 nm における吸光度を測定した。

2-2. 食塩濃度とキレートの安定性

Zn (II):HQ 誘導体 (1:1):4×10⁻⁴M キノリン誘導体ジオキササン溶液 25 ml に 2×10⁻²M 酢酸亜鉛 2.5 ml, 1M 塩化ナトリウム溶液 1.0~10 ml をそれぞれ加え, さらに蒸留水で全量 50 ml とした。

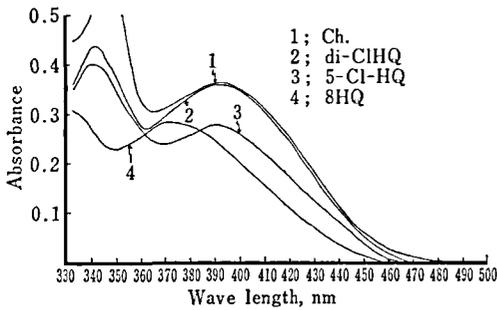


Fig. 1. Absorption spectra of Zn HQ derivatives in 50% dioxane

HQ derivatives = $1 \times 10^{-4} M$, Zn (II) = $5 \times 10^{-5} M$
supporting electrolyte = $0.05 M CH_3COONH_4$

亜鉛 (II) : HQ 誘導体 (1 : 2) : $4 \times 10^{-4} M$ キノリン誘導体ジオキサン溶液 25 ml に $2 \times 10^{-3} M$ 酢酸亜鉛 2.5 ml と 1M 塩化ナトリウム溶液 1.0~10 ml を加え、さらに蒸留水で全量 50 ml とした。このようにして調製した液の λ_{max} の波長における吸光度を測定した。

実験結果

1. 亜鉛 (II) と HQ 誘導体の吸収スペクトル

亜鉛と HQ 誘導体とのキレート化合物の呈色における吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

亜鉛-HQ 誘導体のキレート化合物の λ_{max} は Ch, di-CIHQ および 5-ClHQ 体について 390 nm に、また HQ 体では 370 nm に認められた。ここで得た最大吸収波長を用いて以下の実験の吸光度を測定した。

2. キレート安定度定数

Ch, 5-ClHQ, di-CIHQ および HQ ジオキサン溶液に種々の濃度の亜鉛を加えたときの亜鉛濃度と吸光度の関係を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 で得た結果をもとにして Bjerrum³⁾ の計算式に従ってキレート化合物の安定度定数の計算を行った。Ch-亜鉛 (II) のキレートの安定度定数は Table 1 に示す算出法により求めた。

同様に di-CIHQ, 5-ClHQ および HQ と亜鉛とのキレート化合物の安定度定数を求めた。その結果 (II) は Table 2 に示した。

Table 2 に示したように Ch および di-CIHQ のキレート安定度定数は、HQ および 5-ClHQ より大きい値を認めた。

3. 食塩濃度とキレートの安定性について

亜鉛 (II) : HQ 誘導体 = 1 : 1 のキレートの吸光度について、0~0.2 M 濃度になるまで段階的に食塩濃

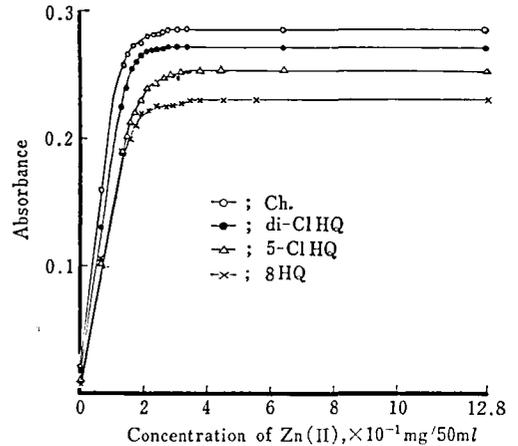


Fig. 2. Relation between absorbance and the concentration of Zn(II) in the reaction mixture with HQ derivatives

HQ derivatives = $1 \times 10^{-4} M$, supporting electrolyte : $0.05 M CH_3COONH_4$

度を変えた場合の吸光度の変化を Fig. 3 に示した。この結果、(1 : 1) キレートの場合は Ch, di-CIHQ, 5-ClHQ および HQ 共に吸光度の変化は認められなかった。

亜鉛 (II) : 誘導体 = 1 : 2 のキレートの吸光度について、同様に塩化ナトリウムの濃度を変えて検討した。その結果を Fig. 4 に示す。

Fig. 4 は、キレート溶液中に塩化ナトリウムの添加しない場合の吸光度を 100% とし、吸光度測定試料中に塩化ナトリウムを添加した場合の吸光度の変化を百分率で表わした。4 化合物の亜鉛キレートの吸光度は、いずれも塩化ナトリウムの添加量の増加に依存して減少することが認められた。しかしその減少の割合には 2 種のパターンが見られ、Ch と di-CIHQ は食塩濃度 0.15 M で 30% がまた 5-ClHQ は 57%, HQ は 59% それぞれ減少することを認めた。

考察

浦久保ら²⁾ は前報においてイヌに Ch と 5-ClHQ を連続投与して、Ch 投与群では運動障害を認め、5-ClHQ 投与群では Ch による発症量の 4 倍当量まで投与量を増加してもなら運動障害を認めなかった。一方薬物を連続投与したイヌの主要組織中の金属含量を調べて Ch 投与群の坐骨神経および肝臓中に Zn と Fe 含量の増大を認め、5-ClHQ 投与群では対照群に比べて有意差を認めなかったと報告している。この事実から Ch を投与した場合、生体内金属の turnover

Table 1. Stability constant of bis-Chinoform zinc (II)

$C=1.001 \times 10^{-4}M$ $\epsilon_L=135.6$ $\epsilon_1C=0.272$ $\epsilon_1=2713.5$ $\epsilon_1-\epsilon_L=2577.9$ Temperature: 15°

A	ϵ_1C-A	[L]	C-[L]	a	\bar{n}	log [L]	pL
0.131	0.141	5.189×10^{-5}	4.821×10^{-5}	1.964×10^{-5}	2.4547	$\bar{5}.6831$	4.3169
0.225	0.047	1.730×10^{-5}	8.280×10^{-5}	4.000×10^{-5}	2.0700	$\bar{5}.2380$	4.7620
0.240	0.032	1.178×10^{-5}	8.832×10^{-5}	4.496×10^{-5}	1.9644	$\bar{5}.0711$	4.9281
0.254	0.018	0.662×10^{-5}	9.348×10^{-5}	4.992×10^{-5}	1.8736	$\bar{6}.8208$	5.1792
0.261	0.011	0.405×10^{-5}	9.605×10^{-5}	5.448×10^{-5}	1.7630	$\bar{6}.6074$	5.3962
0.266	0.006	0.221×10^{-5}	9.789×10^{-5}	5.865×10^{-5}	1.6691	$\bar{6}.3443$	5.6557
0.268	0.004	0.147×10^{-5}	9.863×10^{-5}	6.351×10^{-5}	1.5530	$\bar{6}.1673$	5.8327
0.269	0.003	0.110×10^{-5}	9.900×10^{-5}	6.837×10^{-5}	1.4480	$\bar{6}.0413$	5.9587
0.270	0.002	0.074×10^{-5}	9.937×10^{-5}	7.323×10^{-5}	1.3570	$\bar{7}.8692$	6.1308
0.271	0.001	0.037×10^{-5}	9.974×10^{-5}	7.770×10^{-5}	1.2837	$\bar{7}.5682$	6.4318
0.272	0			19.602×10^{-5}			

$\log K = (pL)_{\bar{n}=1.0} = 6.923$, $\bar{K} = 10^{6.923} = 9.84 \times 10^6$, $\beta = \bar{K}^2 = 10^{13.846} = 7.01 \times 10^{13}$, $(pL)_{\bar{n}=0.5} = 8.109$, $[L]_{\bar{n}=0.5} = 7.01 \times 10^{-9}$,

$$K_{ZnL^+} = \frac{1 - 3K^2[L]^2_{\bar{n}=0.5}}{[L]_{\bar{n}=0.5}} = 1.267 \times 10^9, \quad \chi = \frac{K_{ZnL^+}}{2K} = 6.438,$$

$$(pL)_{\bar{n}=1.5} = 5.935, \quad [L]_{\bar{n}=1.5} = 1.16 \times 10^{-6}, \quad K_{ZnL_2} = \frac{1}{[L]_{\bar{n}=1.5}} \left(1 + \frac{3}{2K[L]_{\bar{n}=1.5}} \right) = 8.982 \times 10^5$$

Table 2. Stability constants of the complex of Zn(II)-HQ derivatives in 50% dioxane

HQ derivative	log K ₁	log K ₂
Chinoform	8.10	5.95
5, 7-Dichloro-8-quinolinol	7.95	5.65
5-Chloro-8-quinolinol	6.81	4.71
8-Quinolinol	5.00	3.73

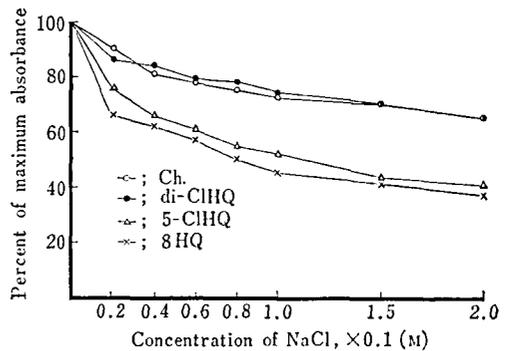


Fig. 4. Effect of NaCl concentration on the absorbance of chelate solution HQ derivatives; $2 \times 10^{-4}M$, Zn(II); $1 \times 10^{-4}M$

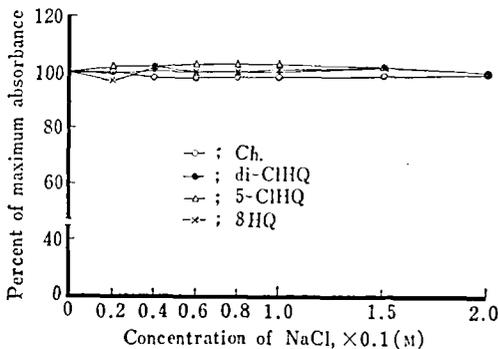


Fig. 3. Effect of NaCl concentration on the absorbance of chelate solution HQ derivatives; $2 \times 10^{-4}M$, Zn(II); $1 \times 10^{-3}M$

に影響を及ぼすことと運動障害の発生についての因果関係があるのではないかと考えた。今回はその基礎実験として *in vitro* において8オキソキノリン類似化合物 Ch, di-CIHQ, 5-CIHQ および HQ について生体内で比較的含量的の多い金属、亜鉛(II)とのキレート化合物の安定性を検討した。キノリン誘導体と亜鉛(II)とのキレート安定度定数は Bjerrum³⁾の方法により求め、Table 1に示した。亜鉛(II)-HQ誘導体キレートの安定度定数は Chが最も大きく、次に di-CIHQ、さらに 5-CIHQの順に低くなり、HQ誘導体

中 HQ が最も低い安定度定数を示した。今回問題とした Ch と 5-ClHQ との差は、亜鉛とのキレート安定度定数で K_1 および K_2 共に 1.2 の差があり、Ch が高い安定度定数を持つことを認めた。

生体内におけるキレート化合物の安定性を予想する目的で、HQ 誘導体：亜鉛(II)キレートの ligand と金属の組成比についてイオン強度変化に伴うキレート化合物の安定性について検討した。その結果は Fig. 3, Fig. 4 に示した。HQ 誘導体：亜鉛=1:1 のキレート化合物の吸光度は食塩濃度が増しても変化を認めないが、2:1 のキレート化合物は食塩濃度の増加に依存して吸光度が減少することが示された。生理食塩水の食塩濃度すなわち 0.15 M では Ch, di-ClHQ は

吸光度の 30% が減少し、5-ClHQ と HQ は約 60% 程度の減少を認めた。この結果から生体内では、Ch、と di-ClHQ と亜鉛の 2:1 キレート化合物は 5-ClHQ と HQ の亜鉛キレート化合物よりも解離し難いことが推察される。

文 献

- 1) 井形昭弘, 豊倉康夫：医学のあゆみ, **75**, 309 (1970)
- 2) 浦久保五郎, 長谷川明, 永松国助, 小林和雄, 戸部満寿夫：衛生試験, **93**, 65 (1975)
- 3) 坂口武一, 上野景平：金属キレート[1], p. 239 (1965)

食品中の残留農薬分析に関する研究（第22報）

農作物中のチオファネート・メチルおよびメチル 2-アミノベンゾイミダゾールカーバメートのガスクロマトグラフィーによる分析法

武田明治・内山 充・川村京子*・土橋知代子*

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXII Analytical Method for Thiophanate-Methyl and 2-Aminobenzimidazolecarbamate in Crops by Gas Chromatography

Mitsuharu TAKEDA, Mitsuru UCHIYAMA, Kyoko KAWAMURA*
and Chiyoko DOBASHI*

Analytical procedure is described for residue determination of thiophanate-methyl (TM) and its major metabolite, methyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC) in crops. The method involves ethyl acetate extraction, conversion of TM to MBC, hydrolysis of MBC to 2-aminobenzimidazole (2-AB), acetylation of 2-AB and then application to gas chromatography.

The lower limits of determination of TM and MBC are 0.04 ppm and 0.02 ppm, respectively. Overall recoveries of TM and MBC residues obtained from fortified control samples ranged from 79.9% to 85.9% and from 77.1% to 86.1%, respectively.

(Received May 31, 1976)

Thiophanate-methyl [dimethyl 4,4'-o-phenylene-bis(3-thioallophanate)] (TM), は幅広い抗菌作用を有する殺菌剤である。TM の動植物における主要代謝物の一つに methyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC) があり¹⁻⁴⁾, WHO は農作物中の残留 TM の検討に際してこの MBC をも対象とするように勧告している⁵⁾。したがって残留 TM の試験法の開発に当

り、この MBC を考慮する必要がある。

TM の試験法は主に MBC に誘導した上での紫外吸光度法^{6,7)}, MBC をさらに加水分解して得られる 2-aminobenzimidazole (2-AB) による分光蛍光度法⁸⁻¹⁰⁾を採用しているが、農作物中の成分が多岐にわたるため、これら成分による妨害が予想され、分光光度法を農作物全般に適用するにはなお種々の問題点が残されている。また MBC をトリフルルアセチル化して電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフィーに

* 東京薬科大学

より分析する方法¹¹⁾が報告されたが、再現性の点で改良の余地がある。

そこで著者らは今回 TM および MBC 分子中のベンゾイミダゾール基に着目し、窒素に特異性の高いアルカリ熱イオン化検出器 (FTD) 付きガスクロマトグラフィーによる TM および MBC の分析法の開発を試み、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 実験材料

玉ねぎ、きゅうり、キャベツ、りんごおよびみかんは市販品を購入して使用した。

2. 試薬

MT 及び MBC は日本農業工業会を通じ、農業製造会社より入手した。ピリジン、無水酢酸、酢酸、酢酸銅、クロロホルムおよびメタノールは市販特級のものである。2-AB はイーストマン・コダック社製のものを用い、他の試薬類は前報¹²⁾に準じた。

TM 標準溶液：クロロホルム 1 ml 中に TM 10 µg 含有する。

MBC 標準溶液：クロロホルム 1 ml 中に MBC 10 µg 含有する。

2-AB 標準溶液：酢酸エチル 1 ml 中に 2-AB 10 µg 含有する。

15% ピリジン・酢酸エチル混液：用時調製する。

5% 無水酢酸・酢酸エチル混液：用時調製する。

3. 装置及び機器

ガスクロマトグラフ：島津製作所製ガスクロマトグラフ GC-4BM・PF (チップ：臭化カリウムと硫酸ルビジウムの同量混合物)。

分光光度計：島津製作所製マルチコンバーチブル分光光度計ダブル 40S 型

その他は前報¹²⁾に準じた。

4. 実験操作

4-1. ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラフィー条件は Table 1 に一括して掲げた。

4-2. 試験溶液の調製

分析法は環境庁告示に示される方法⁷⁾ (環境庁法) を若干改良した。

4-2-1. MT および MBC の抽出

均一化試料 100 g をメタノール 100 ml で振とう抽出後、吸引ろ過する。ろ液に 2% 塩化ナトリウム溶液 60 ml と混和後、石油エーテル・イソオクタン混液 (3:2) 100 ml ずつで 2 回洗う。ついで水層を 0.1 N 水酸化ナトリウムで pH 6.0~6.5 に調製し、クロロホルム 100 ml ずつで 2 回振とう抽出する。クロロホルム層を水洗後ワットマンろ紙 1 ps でろ過し、35° 以下で減圧下ジクロロメタンの大部分を留去する。

4-2-2. MT の MBC への変換

試料抽出液を 30 ml のナス型フラスコに移し、容器を少量のクロロホルムで洗い、洗液をナス型フラスコに合わせ、ついで空気を通じて溶媒を完全に揮散させる。これに 50% 酢酸 10 ml および酢酸銅約 50 mg を加え、還流冷却器を付けて電熱板上 1 時間還流する。冷後、冷却器の上部より 1 N 塩酸 10 ml を流し込んで冷却器を洗い、洗液を反応液に合わせる。全反応液をクロロホルム 10 ml ずつで 3 回洗った後、水層に 2 N 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を 6.0~6.5 に調整する。これをクロロホルム 10 ml ずつで 2 回抽出し、抽出液を水洗した後、30 ml のナス型フラスコに移し、0.1 N 塩酸 1 ml を加え、35° 以下で減圧下クロロホルムを留去する。

4-2-3. MBC の加水分解

Table 1. Operating conditions of gas chromatography

Liquid phase ^{a)}	Temperature (°C)		Gas flow (kg/cm ²)		
	Detector and injection port	Column	H ₂	Air	N ₂
5% DC-200 ^{b)}	270	230	0.40	0.40	1.60
5% OV-17 ^{b)}	250	215	0.55	0.40	1.75
4% OV-101 ^{c)}	250	200	0.52	0.40	1.60
3% SE-30 ^{b)}	250	200	0.40	0.40	1.60

^{a)} Solid support: Gas Chrom Q (60-80 mesh).

^{b)} Column: 3 mm id×100 cm long glass column.

^{c)} Column: 3 mm id×150 cm long glass column.

Each value is the average of 3 experiments

上記フラスコに 6.5N 水酸化ナトリウム溶液 15ml を加え、空冷管を付けて沸騰水浴中で1時間加熱する。冷後、反応液を 100ml の分液漏斗に移し、酢酸エチル 50 ml ずつで3回振とう抽出する。抽出液を 300ml のナス型フラスコ中にワットマンろ紙 1ps でろ過し、さらに少量の酢酸エチルでろ紙を洗う。抽出液を減圧下約 3ml まで濃縮し、10ml の共栓試験管にピペットを用いて移し、少量の酢酸エチルでフラスコを洗い、先の抽出液に合わせ、空気を通じて溶媒を完全に揮散させる。

4-2-4. 2-AB のアセチル化

上記試験管に酢酸エチル 2ml を加え、試験管中の内容物を溶解後、15% ピリジン、酢酸エチル混液および 5% 無水酢酸・酢酸エチル混液各 0.5 ml を加え、時々振り混ぜながら室温に 10 分間放置する。反応液を 5% 炭酸水素ナトリウム溶液 3ml、ついで 10% 塩化ナトリウム溶液 3ml ずつで2回洗い、ワットマンろ紙 1ps でろ過した後、ガスクロマトグラフィー用検液とする。

実験結果

1. ガスクロマトグラフィー

MBC の FTD-ガスクロマトグラフィーについて 12 種の液相を用いて検討したが、一般に極性の高いカラムではピークがまったく現われず、また低極性のものでもピークに強いテーリングを認め、MBC のガスクロマトグラフィーは断念した。

つぎに 2-AB をアセチル化して得られる 2-acetaminobenzimidazole (2-AAB) のガスクロマトグラフィーを検討した。この場合も MBC と同じように極性の高い液相ではピークはまったく認められなかったが、5% DC-200, 5% OV-17, 4% OV-101 および 3% SE-30 などのカラムで再現性のあるガスクロマトグラムを得ることが出来たので、以下の実験にはこれらのカラムを用いた。最小検出量はカラムにより若干の差が認められるが約 2 mg であった。

2. 2-AAB の生成

通常アミン類のアセチル化には無水酢酸およびピリジンが使用されており、著者らもこの方法による 2-AB のアセチル化を検討した。

2-1. 反応時間

2-AB 標準溶液 1ml に 15% ピリジン・酢酸エチル混液 および 5% 無水酢酸、酢酸エチル混液各 0.5 ml を加え、室温に放置して、2-AB のアセチル化反応に及ぼす反応時間の影響を検討し、Fig. 1 に示す結果を得た。反応開始後 5 分で反応は平衡に達していることを見出した。この結果より反応時間を10分とした。

2-2. ピリジン濃度

2-AB のアセチル化反応に及ぼすピリジン濃度の影響を見るため、2-AB 標準溶液 1ml に 5% 無水酢酸・酢酸エチル混液および種々の濃度のピリジン・酢酸エチル混液各 0.5ml を加え、室温に 10 分間放置してアセチル化を行なった。Table 2 に示すように

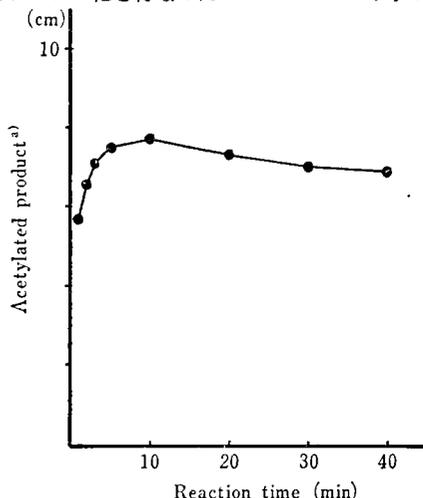


Fig. 1. Influence of reaction time on acetylation of 2-AB

a) Amount was expressed as peak height 2-AB was acetylated by combining with 5% acetic anhydride in ethyl acetate and 15% pyridine in ethyl acetate

Table 2. Influence of pyridine concentration on acetylation of 2-aminobenzimidazole

Pyridine concentration ^{a)} in ethyl acetate (%)	Peak height of 2-AAB (cm)
5	6.7
10	7.2
15	7.6
20	7.5

^{a)} Combined with 5% acetic anhydride in ethyl acetate. Each value is the average of 3 experiments

Table 3. Influence of acetic anhydride concentration on acetylation of 2-aminobenzimidazole

Acetic anhydride concentration in ethyl acetate (%) ^{a)}	Peak height of 2-AAB (cm)
1	6.9
3	7.4
5	7.8
8	7.0

^{a)} Combined with 15% pyridine in ethyl acetate. Each value is the average of 3 experiments

15% ピリジン・酢酸エチル混液で 2-AB のアセチル化は最高を示した。

2-3. 無水酢酸濃度

2-AB 標準溶液 1ml に 15% ピリジン・酢酸エチル混液および 4 種の濃度の無水酢酸・酢酸エチル混液各 0.5ml を加え、無水酢酸濃度の影響を検討した。Table 3 に示す結果は 2-AB のアセチル化が無水酢酸濃度あまり影響されないことを示したが、検討した条件下では 5% 無水酢酸、酢酸エチル混液で若干良好な成績を得た。

3. MBC の加水分解

MBC 標準溶液 1ml に 6.5N 水酸化ナトリウム溶液 15ml を加え、沸騰水浴中で 10 分から 60 分間加熱し、MBC の加水分解に及ぼす反応時間の影響を検討した。Fig. 2 に示すように反応時間 10 分では回収率が約 71% であったが、15~30 分では約 83%、60 分で約 91% と反応時間と共に反応率が上昇する傾向を認めた。

なお MBC を加水分解した反応液の酢酸エチル抽出液を 10% 塩化ナトリウム溶液で洗うと回収率が非常に低下 (53%) することを見出したので、本報ではこの抽出液を洗うことなくつぎの操作を行なった。

4. TM の MBC への変換

TM 標準溶液 1ml を取り、溶媒を揮散後、酢酸々性下酢酸銅と共に 15分、30分および 60分間加熱し、MBC の回収率を紫外吸光々度法⁷⁾ により求めたところ、それぞれ 70.4%、83.8% および 95.5% で反応時間の延長と共に回収率の上昇が認められた。

5. 添加回収実験

均一化試料 100g に標準溶液あるいは MBC 標準溶液 1ml を加え、よく混和した後、室温に 1 時間放置し、本法に示した方法にしたがって操作し、TM あるいは MBC の添加回収率を求めた。その結果を Table 4 に示した。回収率は TM では 79.9% から 85.9%、MBC では 77.1% から 86.1% の範囲であ

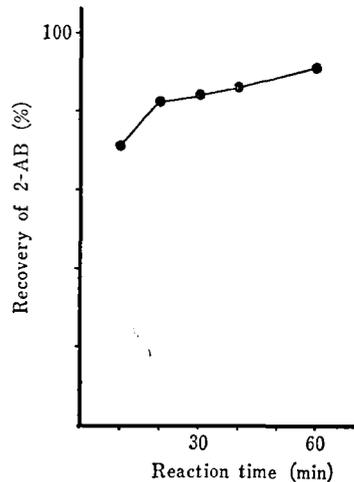


Fig. 2. Influence of reaction time on hydrolysis of MBC to 2-AB

MBC was hydrolyzed with 6.5N sodium hydroxide solution

り、いずれも良好な結果を得た。

考 察

MBC のガスクロマトグラフィーに関する研究はまったく報告されていない。この化合物のガスクロマトグラフィーによる分析が可能ならば試験法のうちで最も簡便なものとして採用し得るため、まず MBC のガスクロマトグラフィーを検討したが、今回検討した液相中適当なものは見だせなかった。

アミン類のガスクロマトグラフィーはアミンを適当な誘導体としてから行なうのが普通であり、よく用いられる誘導体の一つにアセチル化物がある。MBC の加水分解生成物である 2-AB を常法により 2-AAB とし、この化合物のガスクロマトグラフィーを検討したところ、極性の低い 4 種の液相で再現性のあるガスクロマトグラムを得ることが出来た。

2-AB のアセチル化の反応条件を反応時間、ピリジ

Table 4. Recovery of TM and MBC added to crops

Sample	Fortification level (ppm)	Recovery (%)	
		TM	MBC
Apple	0.1	84.8	82.2
Mandarin orange	0.1	85.9	80.0
Cucumber fruit	0.1	84.1	86.1
Cabbage	0.1	79.9	77.6
Onion	0.1	80.4	77.1

Each value is the average of 3 experiments

The samples were analyzed by the proposed method 1 hr after fortification

ン濃度および無水酢酸濃度を変えて検討した結果から酢酸エチル溶液中 15% ピリジン・酢酸エチル混液および5% 無水酢酸・酢酸エチル混液各 0.5ml と共に室温で 10 分間反応するのが最も良い条件であると結論した。

MBC の 2-AB への変換は MBC 分子中のカルバモイル基を加水分解する必要があり、カルバモイル基がアルカリ性で比較的分解され易いことを考慮して水酸化ナトリウムによる加水分解を試みた。著者らは環境庁法における加水分解条件を追試したところ、水酸化ナトリウム溶液の濃度は 6.5N が最も良く、環境庁法¹⁰⁾とよく一致したが、反応時間は 15 分では満足すべき成績を期待出来ないことを見出したので反応時間を詳しく検討した。MBC の加水分解には沸騰水浴中で 60 分間加熱するのが最も適当であると結論した。なおこの場合、反応液の抽出液を水洗すると回収率が大幅に低下することを観察したが、これが何に起因するかは不明である。

TM の MBC への変換には 1% 硝酸銀・95% エタノール溶液中で加熱して行なう方法¹²⁾もあるが、本報では環境庁法¹⁰⁾に準じて行なった。酢酸々性化酢酸銅の存在のもとで TM の MBC への変換は環境庁法¹⁰⁾で示す 30 分間の加熱では反応が不完全であり、反応の完結には少なくとも 60 分の反応時間が必要であることが示された。

最後に本報に示される試験法の妥当性を検討する目的で行なった添加回収実験の結果は、TM および MBC 共に 77% 以上の回収率を示し、これらの残留分析法として使用し得ることを示した。なお本報における TM および MBC の検出限界はそれぞれ 0.04 ppm および 0.02 ppm であった。

本法は農作物中に残留する TM および MBC を共に 2-AAB として分析するので、これらを別々に定量

することは出来ないが、WHO の毒性評価を考慮するならば、TM および MBC を分別定量する必要はないと考える。

結 論

TM の FTD-ガスクロマトグラフィーによる残留農薬分析法を確立した。

1 2-AAB のガスクロマトグラフィーは検討したカラムのうち 5% DC-200, 5% OV-17, 4% OV-101 および 3% SE-30 がよい結果を与えた。

2 分析操作は 5 つの操作より成る。即ち酢酸エチルで抽出し、50% 酢酸中で酢酸銅と共に 1 時間還流して TM を MBC に変え、さらに 6.5N 水酸化ナトリウム溶液中で 1 時間加熱して 2-AB へ加水分解する。ついでピリジンおよび無水酢酸によりアセチル化 (2-AAB) を行ない、FTD-ガスクロマトグラフィーにより分析する。

3 5 種の農作物について添加回収実験を行なった結果は、TM および MBC 共に 70% 以上の回収率を示し、TM の残留分析法として用い得ることが示された。

謝辞 農薬の分与に御配慮下された日本農薬工業会並びに農薬製造会社に深謝致します。

文 献

- 1) G.P. Clemons, H.D. Sisler: *Phytopathol.*, 59, 705 (1969)
- 2) A. Fuchs, A.L. Homans, F.W. deVries: *Phytopathol. Z.*, 69, 330 (1970)
- 3) C.A. Peterson, L.V. Edgington: *J. Agr. Food Chem.*, 17, 898 (1969)
- 4) T. Noguchi: "Chemistry and Metabolism of Thiophanate Fungicides", The International Symposium on Pesticide Terminal Residues,

- TelAviv, Israel, Feb. 17-19 (1973)
- 5) 1973 Evaluation of some pesticide residues in food (1974), Ed. by WHO, Geneva, Switzerland
- 6) J.J. Kirkland: *J. Agr. Food Chem.*, **21**, 171 (1973)
- 7) 環境庁告示第40号, 昭和51年6月11日
- 8) H.L. Pease, R.F. Holt: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **54**, 1399 (1971)
- 9) N. Sharonson, A. Ben-Aziz: *ibid.*, **56**, 1330 (1973)
- 10) 環境庁告示第161号, 昭和49年12月23日
- 11) J.P. Rouchaud, J.R. Decallonne: *J. Agr. Food Chem.*, **22**, 259 (1974)
- 12) 寺西葉子, 武田明治, 内山 充: 衛生試験 **93**, 41 (1975)

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第23報)

有機りん農薬の転溶々媒および活性炭クロマトグラフィー

福原克治*・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXIII Selection of Solvents for Organophosphorus Pesticides from Aqueous Acetone Solution and for Eluting those from Charcoal Column Chromatography

Katsuharu FUKUHARA*, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

To find out the better transferring solvents for organophosphorus pesticides extracted from crops by acetone, the recovery of 29 pesticides into various solvents from aqueous acetone solution. Twenty per cents dichloromethane in benzene gave generally the best recovery among the solvents investigated in the present study. The recovery for 29 pesticides, except vamidothion, ranged from 82.3% for chlorpyrifos to 103.8% for dichlofenthion. Vamidothion alone showed much low recovery.

Charcoal column chromatography is often used as the clean-up procedure for organophosphorus pesticides. The solvent systems generally applicable to the elution of the pesticides from charcoal absorbent column were investigated. Elution with 50% ethyl acetate in benzene were the most recommendable, because of the recovery averaged 86.2% or better in most cases.

(Received May 31, 1976)

残留有機りん農薬の分析に親水性溶媒が抽出溶媒としてしばしば用いられる。親水性溶媒による抽出は抽出効率が高いため、抽出された植物成分による妨害が非水性溶媒抽出の場合より強く、クリーンアップにかなりの配慮を必要とする。しかしながらりんの特異性の高い蛍光々度型検出器 (FPD) やアルカリ熱イオン化検出器 (FTD) の出現によりクリーンアップに以前ほどの配慮を必要としなくなったため、近年親水性溶媒による抽出が広く行なわれるようになって来た。

有機りん農薬の分析においてクリーンアップ法として AOAC 法¹⁾ ではフロリジルカラムクロマトグラフィーが採用されているが、なお多くの問題を残してい

る^{2,3)}。一方食品衛生法に基づく試験法 (公定法)⁴⁾ では活性炭カラムによるクリーンアップ法が採用されているが、検討された農薬の種類が少なく、活性炭カラムが有機りん農薬全般に適用可能なものであるかいかについては検討されていない。

以上のような理由より有機りん農薬の系統的分析法の一環として親水溶媒としてアセトンを選び、アセトン・水混液からの転溶々媒並びに活性炭カラムに対する溶出溶媒の検索を行ない、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試薬及び装置

アセトン, ジクロルメタン, ベンゼン, ヘキサンお

* 食品薬品安全センター

および酢酸エチル：市販一級品をガラス製蒸留装置で蒸留して使用した。

有機りん農薬：日本農薬工業会を通じて各製造会社より入手した。

農薬標準溶液A：各農薬の標品をアセトンに溶解して 100 ppm 溶液を調製し、これより適宜農薬の混液を作り、最終的には各農薬の FPD に対する感度に応じて 1 ppm から 50 ppm 溶液とした。

農薬標準溶液B：上記農薬のヘキサソール溶液

ガスクロマトグラフ：島津製作所製 GC-4BM・PF (FPD 付き)

その他の試薬類および機器は前報³⁾に準じた。

2. 実験操作

2-1. アセトン・水混液からの転溶

アセトン 200 ml を 1 l の分液漏斗にとり、農薬標準溶液A 1 ml を添加し、ついで 5% 塩化ナトリウム溶液 500ml を加え、よく混和する。これに転溶々媒 100ml ずつを加え 2 回振とう抽出した後、抽出液を 2% 塩化ナトリウム溶液 100 ml ずつで 2 回洗う。無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて 40° 以下で約 3 ml まで減圧濃縮し、更に空気を通じて溶媒を完全に揮散させる。残渣をヘキサソール 5 ml に溶解する。

2-2. 活性炭化クロマトグラフィー

内径 1.5cm、長さ 30cm のクロマト管に無水硫酸ナトリウム約 5g、活性炭および粉末セルローズ混合物 (1:10) 5g、ついで無水硫酸ナトリウム約 3g の順にヘキサソールによる湿式で充填する。

このカラムに農薬標準溶液B 1 ml を加え、各種溶媒 100 ml で溶出し、溶出液をロータリーエバポレーターを用いて 40° 以下で約 3 ml まで減圧濃縮し、更に空気を通じて溶媒を完全に揮散させる。残渣をヘキサソール 5 ml に溶解する。

2-3. ガスクロマトグラフィー

前報³⁾に準じた。

実験結果および考察

1. アセトン・水混液からの転溶

転溶々媒として 20% ジクロルメタン含有ベンゼン、ジクロルメタン、ベンゼンおよびヘキサソールを用いてアセトン・水混液からの有機りん農薬の転溶を検討し、その結果を Table 1 に示した。ジクロルメタンではジスルホトンがまったく回収されなかった。この結果は前報⁶⁾と完全に一致し、濃縮時の損失によると考えられる。前報⁶⁾においてジスルホトンの濃縮溶媒としてベンゼンおよびヘキサソールが適することを示したが、

ベンゼンの場合、パミドチオン (35.5%) およびチオメトン (66.7%) の回収率が悪く、ジメトエートの回収率も良好とは言い難い。更に検液をベンゼンと共に振とうすると乳化し易い傾向が認められ、この現象は試料抽出液の転溶時に乳化が問題となる可能性を示唆している。ヘキサソールは極性の強い溶媒による抽出液の最も良い転溶々媒の一つと考えられるが、すでに示したジクロルボスの回収率が低いことは本農薬の使用量を勘案すると無視出来ない。ヘキサソールについては 7 農薬の検討を行なったが、これらはいずれも良好な結果を示し、対象とする農薬を適当に選べば良好な転溶々媒として用い得ると考える。20%ジクロルメタン含有ベンゼンによる転溶は今回検討した溶媒のうち最も良い成績を示し、他の溶媒で回収率が必ずしも良くないジスルホトン、ジメトエートおよびチオメトンに対しても 95% 以上の回収率を示したが、パミドチオンに対しては他と同様低い回収率 (46.3%) であった。この溶媒系ではベンゼンで観察された乳化現象をまったく認めず、溶媒の分離が非常に容易であった。親水性溶媒による試料からの抽出にはこの転溶は避けることの出来ない過程であり、今後パミドチオンの転溶々媒の検討が必要である。

2. 活性炭カラムクロマトグラフィー

Beckman²⁾ および Pardue³⁾ はフロリジルカラムによる有機りん農薬のクリーンアップを種々の溶媒系を用いて検討しているが、満足すべき結果を得ていない。一方 Watts⁷⁾ は活性炭カラムクロマトグラフィーの有機りん農薬の分析への応用について検索している。彼らの報告は残留有機りん農薬の分析に対する適用性を示唆しているが、わが国で使用されている農薬の実状を勘案すると、その結果をそのまま採用することは出来ない。

今回わが国で使用されている主要有機りん農薬 29 種について活性炭カラムによるクリーンアップの可能性を 5 種の溶出溶媒を用いて検討し、その結果を Table 2 に示した。アセトンおよびアセトン含有ヘキサソールを溶出溶媒とした場合、EDDP およびホスロンの回収率が低く、また EPBP、EPN およびホスメットはまったく回収されなかったが、他の農薬は良好な回収率を示した。一方酢酸エチル含有ベンゼンでは今回検討した有機りん農薬に関して全般的に良い結果を与えたが、30% および 50% 酢酸エチル含有ベンゼンを比較した場合、後者の回収率がやや高い傾向を認めた。

FPD あるいは FTD-ガスクロマトグラフィーによる有機りん農薬の分析を行なう場合、農作物由来の着色物はほとんど分析を妨害しないが、ガスクロマトグ

Table 1. Per cent recovery of organophosphorus pesticides from aqueous acetone solution

Pesticide	Added (μg)	Extracting solvent			
		I	II	III	IV
BEBP	4	105.0	87.0	101.2	—
Chlorpyrifos	2	101.5	92.5	95.6	—
CVMP	40	98.5	85.9	101.3	—
Chlorfenvinphos	4	82.3	93.6	97.0	—
Cyanophenphos	4	101.3	92.3	99.3	—
Cyanophos	8	99.3	89.5	103.0	89.7
Demeton S-methyl	8	96.8	98.0	102.0	—
Diazinon	5	103.4	95.0	92.5	98.5
Dichlorvos	7	95.8	90.6	102.0	—
Dichlofenthion	1	103.8	92.5	94.6	—
Dimethoate	1	99.1	98.0	78.0	—
Disulfoton	10	102.5	0	91.3	92.2
Edifenphos	16	95.0	101.0	92.0	99.5
EPBP	4	101.7	92.5	97.9	—
EPN	4	101.5	94.0	99.3	—
Ethion	2	105.1	94.8	97.1	—
Fenitrothion	1	102.2	94.5	95.7	96.5
Fenthion	8	98.0	98.8	102.0	95.8
IBP	4	101.0	91.0	95.6	—
IPSP	40	101.5	102.0	103.0	—
Malathion	2	102.1	97.6	93.6	94.3
Mecarbam	20	97.3	89.4	101.6	—
Parathion	20	94.5	92.5	98.0	99.4
Phenthoate	2	94.0	93.0	101.0	—
Phosalon	12	100.9	101.0	98.7	—
Phosmet	20	94.1	95.0	89.5	—
Salithion	2	98.3	89.7	100.6	—
Thiometon	5	96.3	79.0	66.7	—
Vamidothion	50	46.3	66.5	35.5	—

Each value is the average of 3 experiments

—: Not examined

Extracting solvent: I; 20% dichloromethane in benzene, II; dichloromethane, III; benzene, IV; hexane

Table 2. Per cent recovery of organophosphorus pesticides in activated charcoal column chromatography

Pesticide	Added (μg)	Solvent system				
		I	II	III	IV	V
BEBP	4	97.5	105.5	81.8	87.6	83.0
Chlorpyrifos	2	106.3	101.5	101.5	100.3	97.3
CVMP	40	91.6	84.3	86.5	94.0	94.5
Chlorfenvinphos	4	93.0	99.8	99.7	91.3	95.5
Cyanophenphos	4	102.1	101.4	85.3	93.9	84.3
Cyanophos	8	94.0	85.5	93.3	98.0	89.5
Demeton S-methyl	8	91.5	91.8	85.3	89.8	89.8
Diazinon	5	93.2	95.8	96.2	93.0	94.0
Dichlorvos	7	91.4	88.3	94.1	98.5	89.0
Dichlofenthion	1	103.7	98.8	95.5	98.5	98.5
Dimethoate	1	99.3	79.1	98.2	98.5	97.9
Disulfoton	10	86.2	87.3	88.3	96.0	92.0
Edifenphos	16	104.5	103.0	52.4	70.3	—
EPBP	4	104.4	99.7	0	0	0
EPN	4	102.7	99.6	0	0	0
Ethion	2	102.5	101.2	96.8	103.3	100.1
Fenitrothion	1	96.5	87.4	84.2	94.0	84.0
Fenthion	8	93.8	92.9	88.9	95.0	91.0
IBP	4	99.7	91.0	86.0	94.0	96.5
IPSP	40	95.5	99.0	102.8	100.2	86.7
Malathion	2	103.8	100.2	95.3	101.0	98.2
Mecarbam	20	102.3	96.3	91.3	92.5	94.3
Parathion	20	96.7	89.5	96.3	95.0	95.0
Phenthoate	2	99.7	93.7	97.8	98.5	99.0
Phosalon	12	101.5	102.6	18.4	26.2	61.0
Phosmet	20	102.5	102.6	0	0	0
Salithion	2	99.3	89.5	81.3	90.3	86.5
Thiometon	5	96.0	91.5	83.6	86.0	93.5
Vamidothion	50	89.0	86.5	—	—	—

Each value is the average of 3 experiments

—: Not examined

Solvent systems: I; 50% ethyl acetate in benzene, II; 30% ethyl acetate in benzene, III; acetone, IV; 50% acetone in hexane, V; 30% acetone in hexane

ラフ用のカラムの劣化やガス流路の汚染を早める。酢酸エチル含有ベンゼンによるカラムの溶出液を若干着色させる農作物があるが、アセトン含有ヘキサンではこのような現象はほとんど認めず、対象とする農薬によってはアセトン含有ヘキサンによる方が有利な場合もある。

ま と め

有機りん農薬の系統的試験法の一環としてアセトン・水混液からの転溶および活性炭カラムクロマトグラフィーについて検討した。

1) 転溶々媒としては 20% ジクロルメタン含有ベンゼンが今回検討した農薬のうちパミドチオンを除き全般的に最も良い回収率を示した。

2) 活性炭カラムクロマトグラフィーによるクリーンアップには、今回検討した溶出溶媒のうち 50% 酢酸エチル含有ベンゼンが最も良いが、農作物によっては溶出液の若干の着色を認めた。又適当に農薬を選べばアセトン含有ヘキサンも用いることが出来、この場

合ほとんど着色しない溶出液を得ることが可能である。

謝辞 農薬の分与に御配慮下された日本農業工業会並びに農薬製造会社に深謝致します。

文 献

- 1) *Official Methods of Analysis* (1975), 12th Ed., Ed. by W. Horwitz, published by AOAC, Washington, DC, USA, Capture 29
- 2) H. Beckman, D. Gae Ben: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 52, 286 (1969)
- 3) J.R. Pardue: *ibid.*, 54, 359 (1971)
- 4) 厚生省告示第 48 条, 昭和50年11月27日
- 5) 青木葉一, 武田明治, 内山 充: *衛生化学*, 22, 81 (1976)
- 6) 井上泰幸, 福原克治, 武田明治: *食衛誌*, 15, 337 (1974)
- 7) R. Watts, R.W. Storherr, J.R. Pardue, T. Osgood: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 52, 522 (1969)

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第 24 報)

アセトニトリル-ヘキサン分配による油脂中の有機りん農薬の クリーンアップ法

福原克治*, 武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods. XXIV Improved Studies on Separation of Organophosphorus Pesticides from Oil and Fat by Acetonitrile-Hexane Partitioning

Katsuharu FUKUHARA*, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

In order to examine the better partitioning condition for removing oils and fats from organophosphorus pesticides, the present study was carried out.

The recoveries of the pesticides into various concentrations of aqueous acetonitrile solutions transferred from hexane solution were determined. The twice extraction with acetonitrile or with the mixture of acetonitrile and water (20:1) gave quantitative recoveries.

The removing efficiency of oily materials by liquid-liquid partitioning was evaluated by using rice oil, soybean oil and lard. By the method III, which was shown in Table 2 and gave the best results, more than 99% of these oily materials could be removed, when 2g of samples were available.

Average recoveries of the pesticides fortified to rice oil, soybean oil and lard ranged from 81.8% to 102.7%. The method described is applicable to the extraction of organophosphorus pesticides from oils and fats.

(Received May 31, 1976)

有機塩素農薬の使用が規制されて以来、有機りん農薬の重要性が増し、近年有機りん農薬の使用量は毎年増加している。

油脂類を多く含む農作物、玄米、麦類、豆類および子実類中の残留農薬の分析に際しては抽出されて来る油脂類の中から農薬を効果的に分離抽出する必要がある。しかしりん酸エステルである有機りん農薬とグリセライド類との分離は化学的性状を考慮するとカラムクロマトグラフィーのみではかなりの困難を伴うことが予想される。したがってカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ以前に何らかの手段により油脂類を出来るだけ除去しておくことが必要である。一般的には残留農薬分析において抽出されて来た油脂類から農薬を分離するためにアセトニトリルとヘキサンによる液々分配が用いられている^{1,2)}。この操作のみでは必ずしも十分ではないが、操作法として非常に簡便であり、有効な手段の一つである。

そこで著者らはこのアセトニトリル・ヘキサンによる液々分配のより有効な方法への改良を目的として本研究を企図した。

実験方法

1. 試薬および装置

ここに示す以外の試薬および装置は前報³⁾に準じた。

農薬標準溶液：各農薬の標品をヘキサンに溶解して 100 ppm 溶液を調製し、これより適宜農薬の混液を作り、最終的には各農薬の蛍光々度型検出器 (FPD) に対する感度に応じて 1 ppm から 50 ppm の溶液とした。

ガスクロマトグラフ：島津製作所製 GC-4BM・PF (FPD 付き)。

2. 実験操作

2-1. ヘキサン・アセトニトリル分配

分配法 I：油脂 2g をヘキサンに溶解して全量を 15 ml とし、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 ml で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターを用いて 40° 以下で減圧下 5 ml に濃縮する。

分配法 II：分配法 I にしたがって分配して得られたアセトニトリル抽出液をアセトニトリル飽和ヘキサン 10 ml で洗った後、上記と同様に処理する。

分配法 III：分配法 I にしたがって処理して得たアセトニトリル抽出液に水 3 ml を加え、アセトニトリル飽和ヘキサン 10 ml で洗う。アセトニトリル層を 10% 塩化ナトリウム溶液 300 ml で希釈した後、20% ジ

クロルメタン含有ヘキサン 100 ml ずつで 2 回振とう抽出する。この抽出液を水 100 ml で洗い、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて 40° 以下で減圧下 5 ml に濃縮する。

2-2. 添加回収実験

油脂 2g に有機りん農薬標準溶液 1 ml を添加し、ヘキサンで全量を 15 ml とし、以下分配法 III にしたがって処理する。

2-3. ガスクロマトグラフィー

前報³⁾に準じた。

実験結果

1. 液々分配におけるアセトニトリルの含水率の影響

有機りん農薬のヘキサン溶液 15 ml とアセトニトリルあるいは各種含水アセトニトリル 30 ml とで 1 回または 2 回振とう分配を行ない、アセトニトリル層へ移行した各有機りん農薬の回収率を分配法 II あるいは III にしたがって処理して検出し、その結果を Table 1 に示した。一般的にはアセトニトリル中の含水率が高くなるにつれ、回収率が減少する傾向を認め、また 1 回抽出より 2 回抽出の方が高い回収率を示した。アセトニトリルの含水率 0 (分配法 II) の場合でも、1 回抽出では 80% 台の回収率を示す農薬もあったが、これらも 2 回抽出すると回収率はすべて 100% になった。5% の含水アセトニトリルの場合、1 回抽出ではクロルピリホス、ジクロロフェンチオン、EPBP の回収率が 70% と低いが、これらも 2 回抽出では EPBP が 90% である以外、すべて定量的に回収された。しかし 10% および 20% 含水アセトニトリルの場合には、2 回抽出を行なっても定量的に回収されない農薬 (エジフェンホスおよび EPBP) が認められたが、他はすべて 100% の回収率を示した。

2. 液々分配による油脂の除去

植物油として米油、大豆油、獣脂として豚脂を選び、油脂 2g を用いてアセトニトリル・ヘキサン分配を行い、各操作におけるアセトニトリルへ移行した油脂量を求め、Table 2 に示した。アセトニトリル層へ移行した油脂の量は分配法 III、分配法 II、分配法 I の順であった。油脂の除去率は最も効果の高い分配法 III で 99.1% から 99.6%、又つぎの分配法 II でも 98.2% から 99.3% を示し、通常試験に広く用いられている方法である分配法 I (96.3%~97.5%) より良好な結果を与えた。また Table 2 は本操作による油脂の除去が油脂の種類によって若干差のあることを示している。

Table 1. Per cent recovery of organophosphorus pesticides in partition between hexane and various concentrations of aqueous acetonitrile

Pesticide	Added (μg)	Extraction							
		Once				Twice			
		0	5	Water content in acetonitrile (%)		0	5	10	20
Chlorpyrifos	2.2	86	78	63	54	100	100	89	71
Cyanophenphos	2.0	100	100	100	97	100	100	100	100
Cyanophos	4.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Dichlofenthion	0.6	86	75	63	42	100	100	90	69
Dichlorvos	1.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Disulfoton	4.0	95	92	87	—	100	100	98	—
Edifenphos	12	100	100	100	100	100	100	100	100
EPBP	5.5	85	70	59	33	100	90	79	58
EPN	4.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Ethion	1.5	90	85	76	60	100	100	100	100
Fenitrothion	1.4	100	100	100	100	100	100	100	100
Fenthion	4.0	96	94	92	86	100	100	100	100
IBP	4.0	94	94	92	88	100	100	100	100
Malathion	2.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Mecarbam	10	100	100	100	95	100	100	100	100
Phenthoate	4.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Phosalon	16	100	100	100	100	100	100	100	100
Phosmet	36	100	100	100	100	100	100	100	100
Salithion	2.0	100	100	100	100	100	100	100	100
Thiometon	1.0	100	98	96	85	100	100	100	100

Each value is the average of 3 experiments

—: Not examined

Fifteen milliliters of hexane solution was extracted with 30 ml each of various aqueous acetonitrile solution

3. 添加回収率

油脂 2g に有機りん農薬標準溶液 1ml を加え、さらにヘキサンで全量を 15 ml とし、分配法Ⅲにしたがって処理し、各有機りん農薬の回収率を求めた。その結果を Table 3 に示した。

有機りん農薬 1.0 ppm から 36 ppm の添加で、回収率は米油で 81.8% (EPBP) から 96.4% (シアノフェンホス)、大豆で 86.0% (クロルピリホス) から 97.2% (シアノホス)、豚脂で 82.2% (EPBP) から 102.7% (シアノホス) の範囲にあり、良好な結果を示した。

考 察

油脂性食品中の残留農薬を分析する際に、特に問題となるのは抽出されて来る油脂類から目的とする農薬

を効果的に抽出することである。この目的のために完全に溶解しない極性の高い溶媒と極性の低い溶媒とによる液々分配が広く行われており、前者としてアセトニトリル^{1,2)} およびジメチルホルムアミド^{4,5)} が、後者としてヘキサン、ペンタンおよび石油エーテルなどが用いられる^{1,2,4,5)}。わが国では一般にアセトニトリルとヘキサンによる分配が採用されている²⁾ ので、これら溶媒系による分配時における効果的な油脂の除去につき検討した。

著者らは先にフタル酸エステルの分析法においてアセトニトリル-ヘキサン分配後のアセトニトリル層への少量の水の添加がアセトニトリル層へ移行した油脂の除去に有効であると報告した⁶⁾。今回この方法を若干変更して有機りん農薬の分析法への応用を試みた。

Table 1 に示したようにアセトニトリル-ヘキサン

Table 2. Removal of oils and fat by partition between acetonitrile and hexane

Method	Amount in acetonitrile layer (mg)		
	Rice oil	Soybean oil	Lard
I	74	51	50
II	35	17	12
III	18	7	8

The values are the average of 3 experiments

Method I: Sample (2 g) was partitioned between hexane (15 ml) and acetonitrile (30 ml×2)

Method II: Sample was partitioned as described in Method I, and acetonitrile layer was washed with hexane (10 ml)

Method III: To acetonitrile layer after partitioning as described in Method I, water (3 ml) was added. Acetonitrile layer was washed with hexane (10 ml), and extracted with 20% dichloromethane in benzene (100 ml×2) after dilution with 10% sodium chloride solution (300 ml)

Table 3. Per cent recovery of organophosphorus pesticides from oils and fat

Pesticide	Added (μg)	Rice oil	Soybean oil	Lard
Chlorofenvinphos (β)	8.0	—	—	95.5
Chlorpyriphos	2.2	92.3	86.0	90.2
Cyanophenphos	2.0	96.4	94.3	95.8
Cyanophos	4.0	93.1	97.1	102.7
Diadion	0.3	—	—	92.8
Dichlorvos	1.0	91.2	90.0	100.9
Disulfoton	1.0	89.0	87.0	—
Edifenphos	12	92.6	89.1	98.5
EPBP	5.3	81.8	89.5	82.2
EPN	4.2	92.8	87.8	88.3
Ethion	1.5	94.0	92.5	90.7
Fenitrothion	1.4	87.3	92.2	90.0
Fenthion	4.0	89.4	91.0	97.3
IBP	4.0	91.6	91.2	96.3
Malathion	2.0	90.1	89.9	90.0
Mecarbam	10	92.6	90.0	94.2
Phosalon	12	91.7	91.6	97.9
Phosmet	36	89.2	90.0	97.9
Salithion	2.0	92.9	92.6	92.6
Thiometon	1.0	87.7	87.1	90.1

Each value is the average of 3 experiments

—: Not examined

Hexane solution (15 ml) of samples (2 g) was treated with the Method III

分配においてアセトニトリルの含水率を変化させると、農薬の中には含水率が高くなるにつれアセトニトリル層への抽出率が減少するものがあることを認めた。一方アセトニトリル中の含水率が高くなれば、分配時における油脂の除去がより効果的になることが推定されるが、同時に回収率の減少する農薬が認められるので、アセトニトリル中の含水率の高い方が必ずしも良いとは限らない。Table 1 の結果を総合的に判断して全有機りん農薬に共通した操作条件を設定すれば、ヘキサン層を5% 含水アセトニトリルで2回抽出する方法が最も良いと結論した。

一方有機塩素農薬の場合、ヘキサンと5% 含水アセトニトリルとの分配における回収率が ρ, p' -DDE (80%), ρ, p' -DDT (89%) で低下し、ディルドリン、インドリン、ヘプタクロルエポキシドでやや低くなることを認めている⁷⁾。

したがってヘキサン-含水アセトニトリルによる分配は油脂の除去効果と目的とする農薬とを勘案して含水率を決定すべきであろう。

ヘキサンと5% 含水アセトニトリルによる液々分配の有機りん農薬への応用が示唆されたので、液々分配時における油脂の除去を実験方法に示す3種の方法につき検討した。通常行われている方法(分配法I)と比較して他の2つの方法は油脂の除去効果が著しいことがわかった。特に分配法IIIではアセトニトリル層へ移行した油脂量が分配法Iの1/4以下に減少した(Table 1)。

今回検討した3種の方法のうち分配法IIIが最も効果的であると考えられたので、この方法の油脂中の残留有機りん農薬への適用性を検討する目的で油脂に対する添加回収実験を行ったところ、Table 3 に示すようにいずれの場合も良好な回収率を示し、本法が油脂中

の残留有機りん農薬の分析に十分採用し得ると結論した。

結 論

油脂類中に残留する有機りん農薬の分析におけるアセトニトリル-ヘキサン分配の改良法を検討した。

1) アセトニトリル-ヘキサン分配はヘキサン15mlを5% 含水アセトニトリル 30ml で2回抽出する方法が有機りん農薬全般に対して最も良い結果を示した。

2) アセトニトリル-ヘキサン分配による油脂の除去を3種の方法で検討した結果、分配法IIIが最も高い除去率であった。また本法による油脂の除去効果は油脂の種類によって若干の差があることを見出した。

3) 分配法IIIによる油脂からの有機りん農薬の抽出は80%以上の回収率を示し、油脂中の残留有機りん農薬の分析へ適用し得ると結論した。

文 献

- 1) *Official Method of Analysis* (1975), 12th Ed., Ed. by W. Horwitz, published by Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, U.S.A., Capture 29
- 2) 厚生省告示第48号, 昭和50年11月27日
- 3) 福原克治, 武田明治, 内山 充: 衛生試験, **94**, 14 (1976)
- 4) M.J. De Faubert Maunder, H. Egan, E.W. Hammond, J. Roburn, J. Thomson: *Analyst*, **89**, 168 (1964)
- 5) K. Noren, G. Westoo: *Acta chem. Scand.*, **22**, 2283 (1968)
- 6) 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, **17**, 170 (1976)
- 7) 福原克治, 武田明治, 内山 充: 未発表データ

ザルツマン試薬を用いる窒素酸化物自動計測器の二酸化窒素測定に
おけるオゾンの影響について

山手 昇・松村年郎

Determination of an Ozone Interference in the Continuous Analyzers and
Manual Method for Nitrogen Dioxide in Ambient Air by the
Use of the Saltzman Reagent

Noboru YAMATE and Toshiro MATSUMURA

Regarding the batch type analyzers commonly used in Japan and the continuous type analyzers used in United States for NO_2 measurement in ambient air, O_3 effect against each NO_2 measurements and some factors that affect O_3 concentrations were evaluated. Results were as follows;

1) O_3 has certain interference on continuous type analyzers used in United States, but only few effect on batch type ones used in Japan. Therefore, the compensation of NO_2 measurement decreased by O_3 , as pointed out in United States, is not necessary for the NO_2 measurement by the batch type analyzer.

2) The difference of the O_3 effect between the continuous and the batch type analyzer is due to the sampling flow system and the mixing ratio of the sample air and absorbing solution.

(Received May 31, 1976)

窒素の酸化物としては一酸化窒素 (NO)、二酸化窒素 (NO_2)、三酸化窒素 (N_2O_3)、酸化二窒素 (N_2O)、五酸化二窒素 (N_2O_5)、三酸化窒素 (NO_3) などが知られている。これらのうち、環境大気中において人への直接影響ならびに光化学反応によるオキシダント生成の原因物質として重要視されているものは、現在までのところ NO_2 と NO であり、 NO_2 については昭和47年5月に環境基準が設定された。一般に NO_2 と NO を合わせたものを窒素酸化物 (NO_x) と称している。

NO_x の測定方法としては種々の方法が知られており、その一つにザルツマン試薬を用いる吸光光度法(ザルツマン法)¹⁻⁴がある。この方法には NO_2 をガスサンプラーで捕集して吸光光度法によって NO_2 を測定する手分析法と間欠式または連続式の自動計測器を用いる連続分析法とがある。間欠式の計測器は、一定量のザルツマン試薬(吸収発色液)に一定流量の試料空気を54分~60分間通気してその一時間平均値を連続的に測定するもので、これはわが国の NO_2 環境基準ならびに大気汚染緊急時の警報発令の標準測定方法に採用され、また日本工業規格(JIS B 7953)も制定されており、広く使用されている方式のものである。連続式の計測器は、試料空気とザルツマン試薬とを一定流量比で接触させて連続的に瞬間値を測定する

もので、米国その他の国で使用されている。

ザルツマン法には、ザルツマン係数[二酸化窒素(NO_2)の亜硝酸イオン(NO_2^-)への転換係数]、 NO_2 捕集効率、 NO を測定する場合にはその酸化率などに問題があることはよく知られているが、最近、米国の環境庁⁵⁾は、自国内で使用している連続式の自動計測器による NO_2 測定値は O_3 によって負の影響を大きくうけることを指摘した。それによると NO_2 濃度が0.1~0.4 ppm の場合、 O_3 が NO_2 と同量、二倍量及び三倍量共存すると NO_2 測定値は、それぞれ5.5%、19%、32% 負の干渉をうけ、また0.1 ppm 以下の NO_2 についてはさらに検討を要するとしている。この指摘は非常に重要であり、わが国で広く使用されている間欠式の計測器による NO_2 測定値も連続式と同程度の O_3 の干渉があるならば、 O_3 濃度が高くなる夏の日に測定される NO_2 濃度は、 O_3/NO_2 によって実際の濃度を過少に評価することになり、干渉の程度によっては補正が必要となろう。

このような観点から著者らは、間欠式の計測器二機種(A, B)、連続式一機種及び手分析法について、 O_3 の影響に関する実験を行い有益な知見を得たので報告する。

Table 1. Comparison of analytical conditions in the continuous analyzers and manual method for nitrogen dioxide in ambient air

Analytical conditions	Continuous analyzers			Manual method
	Batch type [A]	Batch type [B]	Continuous type	
Composition of a absorbing solution	Saltzman reagent	Saltzman reagent	Saltzman reagent and Lyshkow reagent	Saltzman reagent
Sampling time of sample air (min)	57 (one cycle)	59 (one cycle)	Continuous	60 (one cycle)
Flow rate of absorbing solution	43.2 ml (one cycle)	15 ml (one cycle)	0.3 (ml/min)	10 ml (one cycle)
Flow rate of sample air (ml/min)	300	200	315	300
Mixing ratio of sample air and absorbing solution per minute	7 : 1	13 : 1	1050 : 1	30 : 1
Types of absorbing bottle	Glass filter (max. dia. of the hole 60 μ m)	As indicated in [A]	Spiral type	As indicated in [A]
Use of dust filter	Yes and No	Yes	No	No
Setting position of flow meter	Flow meter is up stream	Flow meter is up stream	Flow meter is down stream	Flow meter is down stream
Calibration of scale	Calibrated by equivalent solution with saltzman factor 0.72	As indicated in [A]	As indicated in [A]	As indicated in [A]

実験方法及び結果

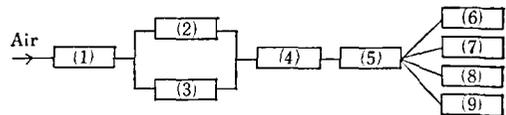
1. NO₂ 測定に及ぼす O₃ の影響

1.1 実験方法

実験に供した計測器等の比較を Table 1 に示す。吸収発色液については、米国の環境庁では通常のザルツマン試薬でもリスコ試薬(改良ザルツマン試薬)でもよいとしているので、連続式については両方の試薬を使用した。試験用ガスは、Fig. 1 に示す NO₂ パーミュイションチューブと O₃ 発生器を用いて、それぞれ各濃度の NO₂ 及び O₃ を発生させ、よく混合してからマニホールドを通して、各計測器ならびに手分析用の装置に同時に導入して、O₃ の影響を検討した。なお、試験用ガスの濃度は NO₂ が 0.03~0.35 ppm、O₃ が 0.03~1.61 ppm で、NO₂ に対する O₃ の共存比 (O₃/NO₂ 比) として 0.3~1.20 のものを用いた。

1.2 実験結果

結果は Table 2 に示すように、連続式ではリスコ試薬とザルツマン試薬のいずれを用いた場合でも O₃ の影響は大きく、NO₂ 測定値の減少率は、O₃/NO₂ 比が同程度の場合でも 15~36% を示し、O₃ 共存比が

Fig. 1. Diagram of O₃-NO₂ reaction system

- (1): Clean air system
- (2): Permeation system
- (3): O₃ generator
- (4): Reaction flask
- (5): Sample manifold
- (6): Batch type analyzer A
- (7): Batch type analyzer B
- (8): Continuous type analyzer
- (9): NO₂ sampler for manual method

大きくなるとさらに高くなる。一方、間欠式では NO₂ が 0.05 ppm 程度の場合、O₃/NO₂ 比が 10 程度になっても O₃ の干渉は全くない。NO₂ が 0.1 ppm 以上で、O₃/NO₂ 比が 3 程度から干渉が現われる。また、手分析法では O₃/NO₂ 比が 3 以上になると干渉がみられるが、その割合は間欠式より大きく、連続式より小さい。Fig. 2 は Table 1 の NO₂ 0.35 ppm に O₃ 0.84 ppm を共存させた場合と、NO₂ 0.35 ppm のみの試験ガスを、それぞれ連続式及び間欠式 (A)

Table 2. Interference of O₃ in the continuous analyzers and manual method

NO ₂ Conc. (1) (ppm)	O ₃ Conc. (2) (ppm)	(2)/(1)	Continuous type		Batch type		Manual method	
			Saltzman reagent	Lyshkow reagent	A	B		
					Saltzman reagent			
			Use of dust filter					
			No	No	Yes	No	Yes	No
Decrease of NO ₂ (%)								
0.03	0		0		0	0	0	0
	0.03	1.0	16		0	0	0	0
	0.07	2.3	26		0	0	0	0
	0.14	4.7	33		0	0	0	6
	0.36	12.0	46		0	0	0	24
0.06	0		0		0	0	0	0
	0.02	0.3	0		0	0	0	0
	0.03	0.5	4	6	0	0	0	0
	0.05	0.8	10	11	0	0	0	0
	0.07	1.2	15		0	0	0	0
	0.13	2.2	27	22	0	0	0	0
	0.25	4.2	35	36	0	0	0	12
0.61	10.2	46	45	0	0	0	44	
0.15	0		0		0	0	0	0
	0.05	0.3	11	8	0	0	0	0
	0.08	0.5	16		0	0	0	0
	0.11	0.7	22	17	0	0	0	0
	0.15	1.0	27		0	0	0	0
	0.23	1.5	35	32	0	0	0	0
	0.48	3.2	48		2	3	1	18
0.81	5.4	53	53	6	12	8	40	
0.21	0		0		0	0	0	0
	0.21	1.0	28	20	0	0	0	0
	0.29	1.4	36	27	0	0	0	0
	0.65	3.1	50	48	0	7	3	20
	1.16	5.5	58	59	10	21	20	46
0.28	0		0		0	0	0	0
	0.17	0.6	16		0	0	0	0
	0.28	1.0	29		0	0	0	0
	0.39	1.4	38		0	0	0	3
	0.81	2.9	54		5	12	7	21
	1.40	5.0	60		15	25	19	49
0.35	0		0		0	0	0	0
	0.25	0.7	27	19	0	0	0	0
	0.39	1.1	36	28	0	0	0	0
	0.84	2.4	54	45	0	6	5	19
	1.61	4.6	65	63	14	22	19	53

の計測器に導入して得られた呈色液の吸収スペクトルを示したものである。O₃ 共存時における吸光度の減少は、間欠式ではわずかであるが連続式では大きいことが分る。

2. O₃ 濃度に及ぼす試料ガス採取系の影響

試料ガス採取系のうち、試料導入管、計測器内の配管及び吸接管の形状が O₃ 測定値にどのような影響を与えるかを検討した。

2.1 試料導入管

内径 6 mm のテフロン管に、濃度 0.09~1.1 ppm の O₃ を毎分 0.3 l の流量（計測器 A の設定流量）で導入して、試料導入管の長さとおよそ O₃ 濃度の減少の関係を調べた。この結果は Fig. 3 に示すように O₃ 濃度の減少率は O₃ 濃度が低く、かつ試料採取管は長いほど増加する傾向がみられた。O₃ 濃度の減少率は、およそ試料採取管 1 m の場合 7~10%、3 m の場合

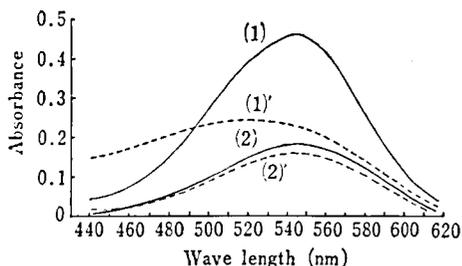


Fig. 2. Absorption spectra of the colored solutions due to NO_2 and $\text{NO}_2 + \text{O}_3$ mixtures introduced into the saltzman's absorbing solutions in respectively

Continuous type

(1) NO_2 0.35 ppm only (1)' NO_2 0.35 ppm + O_3 0.84 ppm

Batch type

(2) NO_2 0.35 ppm only (2)' NO_2 0.35 ppm + O_3 0.84 ppm

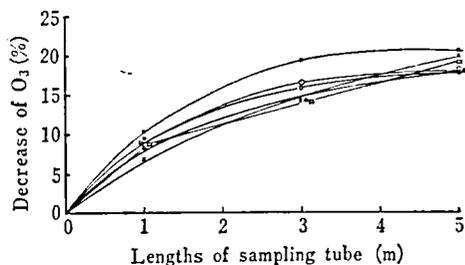


Fig. 3. Effects of lengths of sampling tube O_3 concentration

● : 0.09 ppm, ○ : 0.16 ppm, ◎ : 0.24 ppm
× : 0.31 ppm, △ : 0.80 ppm, □ : 1.1 ppm

11~19%, 5 m の場合 20% であった。

2.2 計測器内の配管等

連続式の計測器は、試料大気を直接スパイラル吸収管に導入しているので計測器において O_3 の分解はほとんどない。しかし間欠式ではその試料導入口から吸収発色びんまでの間にダストフィルタ、流量計、配管などがセットされているので、これらによって O_3 の分解が考えられる。間欠式の計測器AおよびBについて、それぞれの試料導入口から濃度 0.07~1.2 ppm の O_3 をAの場合は毎分 0.3 l (Aの設定流量)、Bは毎分 0.2 l (Bの設定流量) で導入して、吸収発色びん直前における O_3 濃度を測定した。Fig. 4 は O_3 濃度と各計測器の試料導入口から吸収発色びんまでの間における O_3 濃度の減少率を示したものである。この

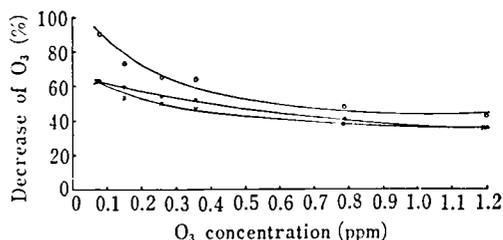


Fig. 4. Decrease of O_3 in between sample air inlet port and NO_2 absorbing bubbler in batch type analyzer

Batch A type analyzer

○ : dust filter yes, ● : dust filter no

Batch B type analyzer

× : dust filter yes

結果、間欠式では計測器内の試料採取系において O_3 はかなり分解されることが分った。 O_3 の減少は O_3 濃度が低く、かつダストフィルタ付の方が高い傾向がみられた。減少率は、 O_3 濃度約 0.1 ppm ではダストフィルタ付は約 90%、なしは約 60%、約 1 ppm ではダストフィルタ付は約 45%、なしは約 35% であった。

2.3 吸収管の形状

間欠式では NO_2 を吸収発色させるための吸収管としてバブラの先端にガラスフィルタ付の吸収発色びんを使用している。一方、 O_3 の手分析法では吸収管はミゼットインビンジャ (バブラの先端はノズル) を用いている。この実験では両タイプの吸収管を用いて O_3 の同時測定を行い測定値を比較検討した。なお、 O_3 の測定は中性よう化カリウムを用いる吸光光度法で行い、1回の測定条件は通気流量毎分 0.3 l、通気時間は 60 分である。結果は Table 3 に示すように間欠式に用いられている吸収発色びんによる O_3 測定値はミゼットインビンジャに比して 10~30% 低かった。このことは多分吸収発色びんではバブラの先端のガラスフィルタ部において O_3 が分解されたためと考えられる。

3. O_3 の NO_2 呈色液に及ぼす影響

計測器の日盛校正に使用する呈色液 (NO_2 を使用したのと同様の指示値を得よう調製した標準呈色液) を運転中の連続式計測器の吸収発色液のタンクに置換して、 O_3 を含む空気を導入して O_3 導入前後の呈色液について吸収スペクトルを測定した。同様の操作を同時に手分析法 (1回の測定条件は呈色液量 10 ml、通気流量毎分 0.3 l、通気時間 60 分) についても行った。呈色液としては NO_2 0.1 ppm と 0.35 ppm

Table 3. Effect of types of absorbing bubbler on O₃ determination

Types of absorbing bubbler		$\frac{(1)-(2)}{(1)} \times 100$ (%)
Nozzle type used in manual method (1)	Glass filter type used in batch type NO ₂ analyzer (2)	
0.12	0.08	33.3
0.12	0.08	33.3
0.25	0.20	20.0
0.57	0.35	16.7
0.57	0.51	10.5

Table 4. Effect of O₃ on colored solutions

NO ₂ equivalent conc. of colored solutions (ppm)	O ₃ conc. (ppm)	Absorbance of 545 nm	
		Continuous type analyzer	Manual method
0.10	0	0.167	0.245
	0.07	0.165	0.247
	0.26	0.171	0.255
	0.46	0.177	0.266
0.35	0	0.450	0.766
	0.26	0.460	0.775
	0.88	0.467	0.780
	1.5	0.500	0.805

に対応するものを調製して、O₃濃度を前者には 0 ppm, 0.07 ppm, 0.26 ppm, 0.46 ppm, 後者には 0 ppm, 0.26 ppm, 0.88 ppm, 1.5 ppm のものをそれぞれ導入した。一般に呈色液は O₃によって退色するといわれていたが、結果は Table 4 に示すように呈色液は O₃によってわずかに増色する傾向がみられた。Fig. 5 は Table 4 の NO₂ 0.35 ppm に対応する呈色液に 0.88 ppm の O₃を導入した場合と、しない場合の吸収スペクトルを示したものである。

考 察

NO₂測定に及ぼす O₃の影響は、連続式は非常に大きく、間欠式は小さいことが分った。その原因としては次のことが考えられる。

1. 試料ガス採取系の相違 間欠式の計測器では本体の試料導入口から吸収発色びんまでの間に取り付けられているダストフィルタ、流量計、配管などや吸収発色びんの先端のガラスフィルタによって O₃が分解される。一方、連続式においては本体の試料導入口か

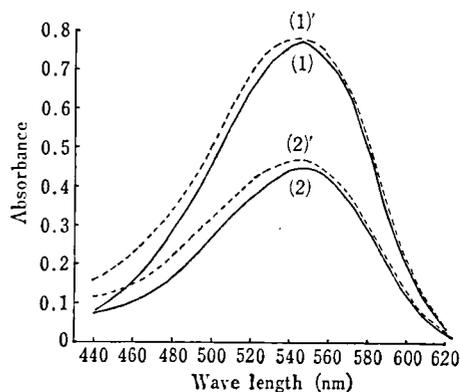


Fig. 5. Absorption spectra of the colored solutions due to O₃ introduced into the colored solutions

Continuous type

(1) Colored solution only, (1)' colored solution + O₃ 0.88 ppm

Manual method

(2) Colored solution only, (2)' colored solution + O₃ 0.88 ppm

らスパイラル吸気管までの間に O_3 を分解させるダストフィルタ、流量計、配管などが取り付けられていない。

間欠式の計測器に 0.1 ppm の O_3 が導入された場合、試料ガス採取系(約 3m の試料導入管を含む)において、ほぼ 100%、0.2 ppm の O_3 では約 90%、1 ppm の O_3 では約 60% が分解されることになる。吸収発色びんのガラスフィルタの影響を考慮すれば O_3 の分解はさらに大きいものとなる。

2. 試料ガスと吸収発色液の混合比(気液混合比)の相違 1分間当りの気液混合比は、間欠式のAは7:1、Bは13:1でいずれも低い値に設定されているのに対して連続式は1050:1で非常に高い。混合比が大きくなるとそれだけ吸収発色液と試料ガス中の O_3 との接触も大となるので、 O_3 による発色妨害が顕著となるものと考えられる。

む す び

大気中の NO_2 を連続測定するために、わが国で広く使用されている間欠式の自動計測器と米国で使用されている連続式の自動計測器について、それぞれの NO_2 測定値に及ぼす O_3 の影響と O_3 濃度に及ぼす

諸因について検討を行った結果、次の知見を得た。

1. 米国で使用されている連続式の計測器は O_3 による影響を大きくうけるが、わが国で使用されている間欠式の計測器は少なかった。したがって、米国で指摘されているような O_3 によって減少した NO_2 の補正は、通常わが国の間欠式の計測器による NO_2 測定値については必要としない。

2. 連続式と間欠式の計測器の O_3 による影響の相違は、試料ガス採取系および試料ガスと吸収発色液の混合比に起因している。

本研究の要旨は第16回大気汚染研究全国協議学会大会(1975.11.7)において発表した。

文 献

- 1) B.E. Saltzman: *Anal. Chem.*, 26, 1949 (1954)
- 2) B.E. Saltzman: *ibid.*, 32, 135 (1960)
- 3) U.S. Dept. of HEW, PHS: *Selected Method for the Measurement of Air Pollutants*, C-1 (1965)
- 4) 環境庁: 窒素酸化物等の環境基準に関する資料 (1972)
- 5) Environmental Protection Agency: *Federal Register*, 38 (110) 15174, June 8 (1973)

染毛剤の突然変異性に関する研究

吉川邦衛・内野晴美・倉田 浩

Studies on the Mutagenicity of Hair Dye

Kunie YOSHIKAWA, Harumi UCHINO and Hiroshi KURATA

The mutagenic activities of commercial hair dyes and its raw materials were certainly demonstrated by the metabolic activation system using *Salmonella typhimurium* TA98 strain (B.N. Ames).

The revertant of the TA98 strain was significantly induced by 2-nitro-*p*-phenylenediamine, 4-nitro-*o*-phenylenediamine and 1,4-diaminoanthraquinone.

p-Methoxy-*m*-phenylenediamine, *m*-phenylenediamine, *p*-chloro-*o*-phenylenediamine, toluene-2,4-diamine, picramic acid, picric acid, 2,6-diaminopyridine, *N*-phenyl-*p*-phenylenediamine and sodium-2-hydroxy-5-nitro-2,4-diaminoazobenzene-5-sulfonate were mutagenic in the TA98 in the presence of S9 mixture. However, the strain did not generally respond to the chemicals having only hydroxy group, color modifier of hair dye.

From these results, it was suggested that the mutagenicity of hair dye caused by the metabolites of aromatic amino or nitro compounds in redox reaction.

On the other hand, 80.7% of the mutation-positive rate was observed in three hundreds kinds of hair dye, and those dyes containing *p*-methoxy-*m*-phenylenediamine, 2-nitro-*p*-phenylenediamine and 4-nitro-*o*-phenylenediamine, respectively, were recognized as most potent mutagens in this assay method.

(Received May 31, 1976)

米国で市販されている染毛剤に変異原性を示す事実が B.N. Ames ら¹⁾ によって報告された。これらの染毛剤の多くは芳香族ジアミン類を原料とし過酸化水素で酸化して用いられている。そこで我々は B.N. Ames らの方法²⁾ に従い、我国で市販されている 300 種類の業務用染毛剤と 27 種類の染毛剤原料について、サルモネラ菌を指標とした突然変異試験を実施し、染毛剤原料の変異原性の有無および市販染毛剤における変異原性陽性率の把握を目的として実験した。

実験方法

1. 使用菌株および培地

Salmonella typhimurium TA98³⁾ を 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアンピシリンナトリウムを含む Difco Nutrient Broth 中で 37°, 18~20 時間、培養しこれを指標菌とした。一方、誘発変異株の検出は 2% のグルコースを含む Vogel-Bonner 培地⁴⁾ で実施した。

2. 肝マイクロゾームの調製

B.N. Ames らの方法²⁾ に従い雄ラット (200~250g) の肝臓をホモジナイズした後、その 9,000 G 上清の 0.5 ml に 2.3 μmole の NADPH, 2.3 μmole のグルコース-6-リン酸, 165 μmole の塩化カリウム, 4 μmole の塩化マグネシウムおよび 100 mM のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を添加したものを S9 mixture²⁾ とした。

3. 染毛剤およびその原料に対する過酸化水素の処理

すべての染毛剤とその原料は 1 容または 2 容の 6% 過酸化水素で処理され、30分間、放置後、リン酸緩衝液 (pH 7.4) で希釈し、その 0.1 ml を被検薬物溶液として用いた。

4. 代謝活性化試験

0.5 ml の S9 mixture あるいは 0.5 ml のリン酸緩衝液にそれぞれ 0.1 ml の指標菌液および 0.1 ml の被検薬物溶液を混和し 37°, 20分間、インキュベーションした後、1 μmole のピオチンおよび 1 μmole のヒスチジンを含有する 2 ml の軟寒天を入れ前記の培地に重層した。これを、37°, 2日間、培養後、誘発変異株数を測定した。

5. 染毛剤およびその原料

300 種類の市販染毛剤および 27 種類の原料はすべて日本ヘアカラー工業会から供給された。

6. 変異原性の判定基準

一枚の平板あたり約 1×10^8 個の指標菌を接種し、その変異株数が 50 から 99 個の場合を +, 100 から 999 個の場合を ++, 1,000 個以上の場合を +++ とし、

49 個以下を (陰性) と判定した。

実験結果

染毛剤原料による変異原性の実験結果を表 1 に示す。(+, ++, +++ の判定は至適濃度で評価した)。

一般に染毛剤原料として使用されるアミノ基, ニトロ基を置換した色素中間剤に変異原性陽性結果が認められた。一方、水酸基を置換した調色剤に陰性結果が多く認められる。変異原性陽性結果を示す原料の中で、2-ニトロ-*p*-フェニレンジアミン, 4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミンおよび 1,4-ジアミノアントラキノンを除き、他は S9 mix. による代謝活性化を経由して変異原性を示した。

過酸化水素を処理することで、変異原性の増加を示す原料の色素中間剤は 2-ニトロ-*p*-フェニレンジアミン, 4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミン, *p*-メトキシ-*m*-フェニレンジアミン, トルエン-2,4-ジアミン, *m*-フェニレンジアミンおよび *p*-フェニレンジアミンであった。一方、過酸化水素処理によって変異原性の減少および消失を示す色素中間剤はピクラミン酸, ピクリン酸および 2-ヒドロキシ-5-ニトロ-2',4'-ジアミノアゾベンゼンであった。*p*-クロール-*o*-フェニレンジアミン, *N*-フェニール-*p*-フェニレンジアミン, 1,4-ジアミノアントラキノンおよび 2,6-ジアミノピリジンらは過酸化水素を処理することで何らその変異原性に変化が認められない。

これら多くの染毛剤原料は S9 mix. を添加しない実験条件において、特に過酸化水素の処理によって *S. typhimurium* TA98 株に対し、強い静菌作用が認められた。

業務用染毛剤についての実験結果を表 2 に示す。

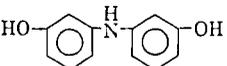
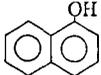
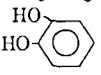
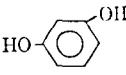
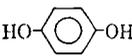
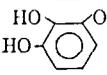
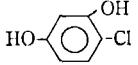
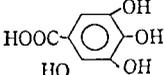
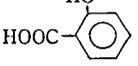
300 校体の業務用染毛剤は一般に 1 ないし 4 種類の色素中間剤と 1 から 3 種類の調色剤を含有している。これらの染毛剤成分の代表的な例を表に示した。すなわち Group I. は変異原性 ++, Group II. は + あるいは ++, および Group III. は変異原性陰性結果を示す染毛剤成分である。これらの染毛剤の中で変異原性陽性結果を示すものは 242 種類であった。その中で 181 種類は S9 mix. による代謝活性化を必要とした。また変異原性 +++ を示す検体は 23 種類であった。

考察および結論

1. B.N. Ames ら¹⁾ はサルモネラ菌の突然変異性に関与している因子は芳香族ジアミンが酸化されて生成される Bandrowski の塩基であることを示唆した。本実験からも明らかのように一般に芳香族ジアミン類

Table 1. The mutagenic activities of the raw materials for hair dye

Chemicals	Structure	Conc. ($\mu\text{g}/$ plate)	Number of revertant colonies				Criteria
			+S9 mix.		-S9 mix.		
			HP	Buffer	HP	Buffer	
2-Nitro- <i>p</i> -phenylene-diamine		15	45	33	102	26	+++
		50	93	110	226	97	
		150	2198	1660	400	269	
4-Nitro- <i>o</i> -phenylene-diamine		15	147	98	986	450	+++
		50	680	352	1596	1306	
		150	772	774	3926	1988	
<i>p</i> -Methoxy- <i>m</i> -phenylene-diamine		15	336	272	28	13	+++
		50	1024	1104	12	9*	
		150	1952	1136	26	6*	
Toluene-2,4-diamine		15	51	23	29	20	++
		50	58	31	36	20	
		150	238	75	0*	13	
<i>m</i> -Phenylene-diamine		15	44	43	8*	26	++
		50	85	85	0*	23	
		150	384	242	0*	34	
<i>p</i> -Phenylene-diamine		15	24	26	1*	20	++
		50	52	21	0*	21	
		150	100	85	0*	9*	
<i>p</i> -Chloro- <i>o</i> -phenylene-diamine		15	24	26	34	47	+
		50	36	33	22	27	
		150	88	86	0*	30	
Picramic acid		15	24	35	12	15	++
		50	41	41	0*	23	
		150	42	118	0*	5*	
Picric acid		15	35	23	0*	16	++
		50	52	55	0*	13	
		150	53	123	0*	0*	
<i>N</i> -Phenyl- <i>p</i> -phenylene-diamine		15	37	41	1*	25	+
		50	16	35	8*	41	
		150	67	78	0*	46	
1,4-Diamino-anthraquinone		15	40	58	11	51	+
		50	41	60	15	58	
		150	70	81	0*	80	
Sodium-2-hydroxy-5-nitro-2',4'-diamino-azobenzene-5'-sulfonate		15	28	23	11	29	+
		50	22	39	0*	33	
		150	39	64	0*	47	
2,6-Diaminopyridine		15	26	28	17	27	+
		50	57	35	6*	10	
		150	52	53	0*	21	
<i>o</i> -Aminophenol		15	20	26	0*	20	-
		50	18	15	0*	20	
		150	15	26	0*	24	
<i>m</i> -Aminophenol		15	22	23	2*	25	-
		50	27	24	4*	22	
		150	22	23	0*	27	
<i>p</i> -Aminophenol		15	16	22	10	25	-
		50	16	20	15	22	
		150	15	28	13	29	
<i>p</i> -Methylaminophenol		15	32	34	1*	3*	-
		50	26	25	0*	1	
		150	40	21	0*	0*	
4-Amino-2-hydroxytoluene		15	34	32	8*	20	-
		50	26	27	8*	26	
		150	2*	21	0*	4*	

Chemicals	Structure	Conc. ($\mu\text{g}/$ plate)	Number of revertant colonils				Criteria
			+S9 mix.		-S9 mix.		
			HP	Buffer	HP	Buffer	
3, 3'-Imino-diphenol		15	34	34	44	41	—
		50	46	38	46	44	
		150	34	38	0*	18	
α -Naphthol		15	19	27	0*	30	—
		50	18	24	0*	20	
		150	18	13	0*	1*	
Catechol		15	18	14	6*	6*	—
		50	16	38	0*	0*	
		150	15	23	0*	0*	
Resorcin		15	17	21	0*	26	—
		50	19	22	0*	23	
		150	26	18	0*	11	
Hydroquinone		15	19	35	0*	0*	—
		50	17	25	0*	0*	
		150	15	17	0*	0*	
Pyrogallol		15	26	26	23	35	—
		50	42	39	9*	21	
		150	46	42	0*	13	
4-Chloro-resorcin		15	26	25	0*	24	—
		50	18	15	0*	19	
		150	17	21	0*	11	
Gallic acid		15	20	19	5*	15	—
		50	31	25	8*	8*	
		150	25	27	0*	0*	
Salicylic acid		15	22	38	2*	15	—
		50	35	17	0*	5*	
		150	14	9*	0*	0*	

HP: Hydrogen peroxide, (*): Bacteriostatic effects

Table 2. Mutagenic activity of hair dyes

Hair dyes components

Group I.

<i>p</i> -Methoxy- <i>m</i> -phenylenediamine Sulfate	0.40 w/v%
Toluene-2, 4-diamine Hydrochloride	0.20 "
<i>p</i> -Nitro- <i>o</i> -phenylenediamine	0.20 "

Group II.

<i>p</i> -Methoxy- <i>m</i> -phenylenediamine Sulfate	0.25 w/v%
Toluene-2, 4-diamine Hydrochloride	2.00 "
<i>m</i> -Phenylenediamine	0.80 "
Resorcin	1.00 "

Group III.

Nitro- <i>p</i> -phenylenediamine Sulfate	0.001 w/v%
Toluene-2, 4-diamine Hydrochloride	0.04 "
<i>m</i> -Aminophnol	0.01 "
Resorcin	0.10 "

Groups	Mutagenic activity	Hair dye exhibited mutagenic activity		
		+S9 mix.	-S9 mix.	%*
I	卅	15/300	8/300	7.7
II	+ or 卅	166/300	53/300	73.0
III	-	(58/300)		19.3

Concentration: +S9 mix., 20 mg/plate, -S9 mix., 100 μ g/plate

* % was calculated from the sum of +S9 mix. and -S9 mix.

は過酸化水素と処理することで、変異原性の増加が認められた。一方、アミノ基、ニトロ基の置換した色素中間剤は過酸化水素の酸化を受けることなく単独で変異原性を示すことから、これらの変異原性に関与する因子は S9 mix. あるいは細菌細胞内における酸化還元過程で生成される代謝物によるものと考えられる。

2. *p*-メトキン-*m*-フェニレンジアミン、*p*-ニトロ-*o*-フェニレンジアミンおよびニトロ-*p*-フェニレンジアミンを成分とする染毛剤に変異原性卅が多く認められた。これらの色素中間剤はいずれも強い変異原性を示すことから、製品においても一致した実験結果が得られた。一方、変異原性+あるいは卅を示す染毛剤は一般に前記3種類の成分含有が少量な製品に多く認められた。また変異原性陰性結果を示した染毛剤は一般に微量の色素中間剤を含む製品に多く認められた。

3. 以上の結果から、染毛剤原料の遺伝毒性および

癌原性を十分に考慮する必要がある。従って、今後、これらの化学物質による染色体異常試験、経皮吸収試験および厳密な発癌実験を実施し、特に染毛剤における色素中間剤の安全性をさらに検討する必要がある。

本研究は厚生省医療助成費によって実施した。

文 献

- 1) B.N. Ames, H.O. Kammern, E. Yamasaki: *Proc. Natl. Acad. Sci., (U.S.A.)* **72**, 2243 (1975)
- 2) B.N. Ames, J. McCann, E. Yamasaki: *Mutation Res.*, **31**, 347 (1975)
- 3) J. McCann, N.E. Spingarn, J. Kobori, B.N. Ames: *Proc. Natl. Acad. Sci., (U.S.A.)* **72**, 979 (1975)
- 4) H.J. Vogel, D.M. Bonner: *J. Biol. Chem.*, **218**, 97 (1956)

キノホルム亜鉛キレート of the ウサギ神経組織への分布について

浦久保五郎・城戸靖雅・永松国助

Distribution of Chinoform-Zinc Chelate Compound in Rabbit's Nerves

Goro URAKUBO, Yasumasa KIDO and Kunisuke NAGAMATSU

Solutions of ^{14}C -chinoform, $^{65}\text{Zn}\text{-ZnCl}_2$ and their chelate compound consisted of 2:1 molecular ratio were given intraperitoneally once a day for 3 days, and at 24 hours after the last injection, the radioactivities of ^{14}C and ^{65}Zn in central and peripheral nerves, liver, kidneys and blood were determined by β - and γ -measurements.

An outstanding result was that the higher concentration of chinoform was detected in tibial nerve, especially in the lower part, in the case of the chelate compound dosing, though the concentrations in other nerves and tissues were in almost same levels to the corresponding parts of the animal administered chinoform only.

No difference of zinc concentration in all tissues investigated was found between the chelate compound and zinc chloride dosings. So, the probability that zinc might serve as the carrier for the accumulation of chinoform to the terminal of the peripheral nerve was suggested.

(Received May 31, 1976)

緒 言

さきにキノホルム (Chinoform, 以下 Ch と略す) を長期連続経口投与し, 神経症状を発症したイヌの坐骨神経中の亜鉛および鉄含量が, 対照群にくらべて著明に増加する知見を得た。一方, Ch の代謝物である 5-Chloro-8-quinolinol (以下 5-ClHQ と略す) はイヌに対してスモン特有の神経症状を発現させることはなく, しかも 5-ClHQ の投与は Ch の場合と全く相違して坐骨神経中の亜鉛および鉄含量に変化を与えないという所見をも報告した¹⁾。

Ch および 5-ClHQ はいずれも強いキレート試薬であるが, Ch-Zn キレートは 5-ClHQ-Zn キレートにくらべてより安定である²⁾。そこで著者らはイヌに対する Ch および 5-ClHQ の影響の差は, 両者のキレート生成能の差が, 少なくとも原因の一つではないかと考えた。

今回, Ch-Zn キレートの形で Ch と亜鉛を動物に投与した場合, それぞれを単独に投与した場合にくらべて, Ch と亜鉛の体内分布, とくに神経組織へのとりこみに差がみられるのではないかという観点から, スモン発症性動物のウサギを用いて実験を行ない知見を得たので以下に報告する。

実 験 方 法

1. 投与試料

(1) ^{14}C -Ch- ^{65}Zn キレート溶液

- ① ^{14}C -Ch 30.39 mg を DMSO 9.62 ml に溶かした。
- ② 塩化亜鉛 18.11 mg を $^{65}\text{ZnCl}_2$ の塩酸溶液 0.1 ml に溶かし, DMSO 1.25 ml を混和した。
- ③ ①の 9.62 ml に ②の 0.5 ml を加えて ^{14}C -Ch: ^{65}Zn =2:1 キレート溶液を調製した(この溶液 1 ml は 3.00 mg の Ch, 0.32 mg の亜鉛を含む)。この溶液 1 ml は 6.94×10^7 dpm の β 放射能および 1.27×10^7 cpm の γ 放射能を示した。

(2) ^{65}Zn -塩化亜鉛溶液

塩化亜鉛 (ZnCl_2) 4.22 mg を 0.46 ml の $^{65}\text{ZnCl}_2$ 溶液に溶かし, これに DMSO 5.57 ml を混和した(この溶液 1 ml は 0.34 mg の Zn を含む)。この溶液 1 ml は 1.23×10^7 cpm の γ 放射能を示した。

(3) ^{14}C -Ch 溶液

^{14}C -Ch 20.57 mg を DMSO 3.88 ml に溶か

し, 水 0.1 ml と DMSO 1.25 ml の混液 0.2 ml を加えた(この溶液 1 ml は 4.49 mg の Ch を含む)。この 1 ml は 6.99×10^7 dpm の β 放射能を示した。

2. 投与方法

各投与試料を日本白ウサギ(♀, ♂ 体重 3 kg)に 1 ml/2.5 kg ずつ連日 3 回腹腔内投与した。

3. ^{14}C および ^{65}Zn の血中濃度の測定

耳静脈から経時的に 0.2 ml を採血し, 円形小ろ紙 2 枚に 0.1 ml ずつ吸収させ, 乾燥して測定用試料とした。

(1) ^{14}C -Ch- ^{65}Zn キレート投与群

血液を吸収させたろ紙をポリエチレン試験管に入れてウエルタイプシンチレーションカウンタで γ 線を測定したのち, ろ紙を湿式酸化して発生する $^{14}\text{CO}_2$ をシンチレーター溶液 (ppo 5 g, popop 0.3 g をエタノールアミン 100 ml, メチルセロソルブ 300 ml, トルエン 600 ml の混液に溶かした液) に吸収させ, 液体シンチレーションカウンタで β 線を測定した。

(2) 他の群

^{65}Zn -塩化亜鉛投与ウサギについては γ 線を, ^{14}C -Ch 投与ウサギについては β 線を, それぞれ(1)と同じ操作で測定した。

4. ^{14}C および ^{65}Zn の体内分布の測定

3 回目の最終投与 24 時間後にウサギを放血死させ, Table 1 に示す臓器, 組織を採取した。その 50~200 mg を精秤して小円形ろ紙に包み, 3 と同じ方法で β , γ 放射能を測定した。1 個の臓器, 組織から 2 個の試料を採取し, 各測定値の平均値を求めた。

実 験 結 果

1. 血中濃度

各群のウサギについて投与中の 3 日間に, 投与後から 24 時間までの各時間に測定して得られた値を Fig. 1, 2, 3 に示す。Ch-Zn キレート, Ch 投与ウサギの比較では, 血中 β 放射能の経時的消長について両群間に差が認められなかった。

γ 放射能の消長についても, Ch-Zn キレート, Zn 投与ウサギの両方とも投与後から 24 時間後までゆるやかな曲線を示し, 両群間に差が認められなかった。

2. 臓器, 組織内分布

分布の測定は神経系組織および肝, 腎, 血液について行なった。その結果を Table 1 に示す。測定した臓器, 組織について, Ch-Zn キレート, Ch 投与ウサギ間の β 放射能分布の比較では, 数値のばらつきはいくらかみられたが, 最も注目すべき所見は坐骨神経系の試料測定値について得られた。すなわち, 坐骨神経

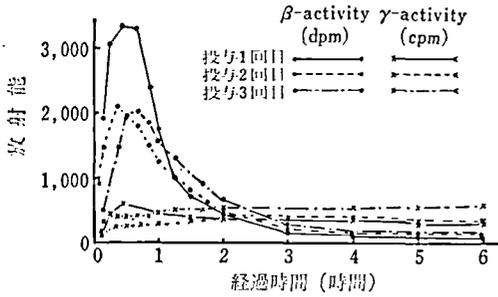


Fig. 1. ¹⁴C-Ch-⁶⁵Zn キレート 3回連続投与ウサギの血中放射能

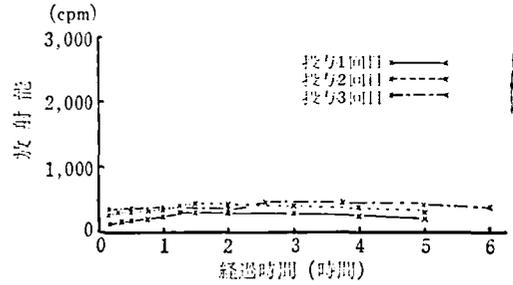


Fig. 3. ⁶⁵Zn 3回連続投与ウサギの血中放射能

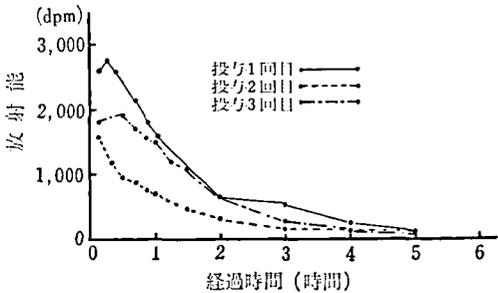


Fig. 2. ¹⁴C-Ch 3回連続投与ウサギの血中放射能

系の試料は、坐骨神経、採取した脛骨神経の上半部、同下半部の3部分において測定したが、Ch-Zn キレート投与群のみにて、β放射能は末梢に近いほど高い値を示した。

一方、γ放射能分布は測定した臓器、組織全般について、Ch-Zn キレート、亜鉛投与ウサギの間に明らかな差はみられなかった。また坐骨神経系の試料3部について Ch-Zn キレート投与ウサギにおいても差が認められなかった。

考 察

1. 投与試料および投与方法について

本実験では Ch-Zn キレート、Ch および Zn の3試料のそれぞれ対応量を定量的に投与することが必要である。DMSO は局所に対して若干的作用をもつことが知られているが³⁾、Ch-Zn キレート、Ch は水に難溶であり、ZnCl₂をも溶かす三者共通の溶媒として、生体に対して毒性が弱く⁴⁾、溶質の吸収が多くなることも考えられる⁵⁾という観点から DMSO を選んだ。実際には解剖時に、注射局所に発赤、軽い糜爛が

Table 1. ウサギ臓器の放射能測定結果

投与試料	β-activity (×10 ² dpm/g・湿重量)			γ-activity (×10 ² cpm/g・湿重量)			β(dpm)/γ(cpm) ratio	
	Ch-Zn	Ch-Zn	Ch	Ch-Zn	Ch-Zn	Zn	Ch-Zn	Ch-Zn
ウサギ No.	1	2	3	1	2	4	1	2
大 脳	2.7	0.8	0.2	24.0	35.3	28.5	0.113	0.023
小 脳	3.0	0.3	0.7	38.9	36.9	33.3	0.077	0.008
延 髄	2.0	0.7	1.5	31.4	39.4	35.8	0.064	0.018
脊 髄	1.9	1.3	1.4	23.0	25.0	19.2	0.083	0.052
正中神経	4.8	3.1	2.0	25.1	31.3	32.4	0.191	0.099
坐骨神経	4.1	1.5	2.7	18.4	24.8	24.1	0.223	0.060
脛骨神経								
上部	5.7	3.5	2.3	18.0	24.6	26.3	0.317	0.142
下部	8.2	5.4	1.4	19.1	25.3	27.1	0.429	0.213
肝	19.3	14.6	12.9	523.0	983.5	563.6	0.037	0.015
腎	23.9	14.7	20.3	315.4	408.8	339.6	0.076	0.036
血 液	2.4	3.0	3.0	27.0	44.9	49.5	0.089	0.067

認められたが、同一条件下における3種の試料の投与実験には差支えないものと考えた。

今回の実験目的から、投与方法はできるだけ試料が吸収され易い手段を用いるのが理想であったが、静注では血液中で薬物が析出し、毛細血管内で血栓をおこすことが懸念された。DMSO 溶媒を用いた点からも腹腔内投与が妥当と考えた。

きわめて難移行性と思われる神経系内へのとりこみをみることを目的としたので、明確な結果を得るためにはできるだけ長期間の連続投与が理想と思われた。しかし¹⁴C-Ch がきわめて高価な化合物であるという制約から投与回数は3回にとどめた。

2. 血中濃度の消長について

Ch-Zn キレート投与および Ch 単独投与のいずれの場合も、投与 20~40 分後に¹⁴C 血中濃度は最高値を示した。そして吸収率にも両者の間に大差は認められなかった。Ch は強いキレート生成能をもつため、Ch 単独投与の場合も生体中の金属とキレートを形成して吸収される可能性がある。一方 Ch-Zn キレートは希薄な塩化ナトリウム溶液中でも解離する²⁾。したがって Ch-Zn キレートとして投与したものが Ch として吸収される可能性も考えられる。いずれにしても Ch に関しては Ch-Zn キレートとして、または Ch 単独で投与しても吸収形には差がないことが予想された。

生体中の亜鉛は鉄について高い含量を示し⁶⁾、したがって Ch-⁶⁵Zn キレートが投与された場合、同位体交換反応によって、あるいはまた、Ch-⁶⁵Zn と生体中の他の金属との交換反応によって⁶⁵Zn が遊離する可能性がある。

Ch-Zn キレートの投与は、亜鉛単独投与の場合と同様、亜鉛の血中濃度にはピークは認められず、経時的血中濃度曲線は両投与形のいずれの場合も一致した結果が得られた。これは Ch の場合と同様、両者の亜鉛が同じ化学形で吸収されている可能性を示すとも考えられる。

3. 臓器、組織内分布について

Ch-Zn キレートの体内挙動を追跡するために、Ch-Zn 群の投与試料について β (dpm)/ γ (cpm) の値を求めると、 $\beta/\gamma=5.45$ であった。この値と分布結果とを比較すると、各臓器、組織中の β/γ ratio は Table 1 に示すようにきわめて小さい値を示している。これは2で考察したように、Ch-Zn キレートが投与後大部分が解離して吸収分布されるか、またはキレートの

⁶⁵Zn と生体中の亜鉛などの金属との競合的交換がおこっていることによるとみられる。したがって投与されたキレートがすべてそのままの形で吸収、分布されるとは考えられないような結果であった。しかし、坐骨神経および脛骨神経についてみると、 β/γ ratio は末梢の方が大きな値となっている。 γ 放射能すなわち亜鉛濃度は各部とも同程度であり、Ch を連続投与したイスで坐骨神経中の亜鉛含量が増大したという結果¹⁾を含めて考察すると、亜鉛などの金属により Ch が神経の末梢に濃縮される可能性が考えられる。なお Ch を体内に導入すると、Ch は金属の carrier の役目をするというものも考えられ、上記の考察はこれの逆のようにも思われるが、このいずれをとり上げるかという問題については今後の検討が必要であろう。

ま と め

¹⁴C-キノホルムと⁶⁵Zn-塩化亜鉛を用いて、Ch-Zn キレート、Ch、亜鉛の3種の溶液を調製し、ウサギに3回連続腹腔内投与して、神経系、肝、腎、血液への Ch と亜鉛の分布を調べた。

その結果、坐骨神経および脛骨神経において、Ch-Zn キレートを投与した場合にのみ、Ch が末梢ほど濃く分布していることが認められた。また亜鉛濃度については、Ch-Zn キレートおよび亜鉛投与のいずれの場合にも差は認められなかった。したがって Ch は亜鉛の共存により末梢神経に濃縮される可能性が考えられた。

終りに御援助を賜った当所毒性部戸部満寿夫部長、小林和雄技官に感謝する。なお本研究は昭和50年度厚生省特定疾患スモン調査研究班の研究費によって行った。

文 献

- 1) 浦久保五郎、長谷川明、永松国助、小林和雄、戸部満寿夫：衛生試報，93，65 (1975)
- 2) 池淵秀治：衛生試報，94，6 (1976)
- 3) J.M. Arena: "Poisoning, Toxicology Symptom Treatment", 3rd ed., Charles C. Thomas Publisher, Springfield USA, p. 567 (1973)
- 4) M.N. Gleason: "Clinical Toxicology of Commercial Products", 3rd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore USA, p. 58 (1969)
- 5) J.J. Brink, D.G. Stein: Science, 158, 1479 (1967)
- 6) "体内放射線の許容線量" (ICRP シリーズ, 2), 日本アイソトープ協会, p. 172 (1960)

マウスにおける内毒素の致死効果と体温に対する効果および
両効果に対する reserpine 前処置の影響

西尾 晃・加納晴三郎

Potential of Mortality and Reversal of Hypothermia
in Reserpinized Mice by Endotoxin

Akira NISHIO and Seizaburo KANOH

Mortality and body temperature change induced with LPS, DNP, epinephrine, norepinephrine and serotonin were studied in control and reserpinized mice, and following results were obtained:

- 1) Reserpine injected intraperitoneally into conscious unrestrained mice produced hypothermia.
- 2) Toxicity of drug was potentiated in reserpinized mice. The degree of potentiation was ordered as follows: epinephrine, LPS, serotonin and DNP. Toxicity of norepinephrine was not potentiated.
- 3) LPS, serotonin, epinephrine, norepinephrine and DNP produced hypothermia in normal mice. In reserpinized mice DNP, LPS, serotonin and norepinephrine reversed the hypothermia but epinephrine did not.

(Received May 31, 1976)

内毒素は生体に広汎にわたり様々な作用をおよぼすことがよく知られている^{1,2)}。そのなかでも致死作用と発熱作用が全身反応としてよく研究されている。

副腎摘除マウスは内毒素投与により無処置正常マウスよりも死亡率が著しく上昇すること³⁾、マウスに tryptophan hydroxylase の阻害剤である *p*-chloro-hydroxyphenylalanine を投与して serotonin を減少させると内毒素による死亡率が減弱すること⁴⁾、ラットに内毒素を投与すると脳をはじめ諸臓器の norepinephrine が減少すること⁵⁾、および中枢神経内に catecholamine および serotonin を投与すると体温の昇降がみられること⁶⁾等から内毒素による致死作用と発熱作用に生体内アミンが主要な役割を果しているのではないかと想像されている。しかし副腎摘除家兎でも内毒素投与により無処置家兎と同程度の発熱反応を示すと報告されており⁷⁾、内毒素の両作用発現に catecholamine や serotonin が関与しているかどうかは明らかでない。

本論文はマウスに対する内毒素の致死作用と体温に対する作用が reserpine 前処置によりどのように変るかを検討したものである。

実験材料と方法

1) 実験動物と室温: dd 系雄性マウス(体重 15~20g)を使用した。飼育ならびに実験は室温 24±1°、

相対湿度 40~60% の条件下で行った。

2) マウスの体温測定: 動物に対する薬物投与ならびに体温測定は体温の日内変動の影響を避けるためすべて同一の時刻(午後0時)に開始した。体温は多くの字型水銀体温計にて直腸温を30分毎に測定した。

3) 内毒素: E. Coli UKT-B より Westphal と Lüderitz⁸⁾ の方法に準拠した加納ら⁹⁾ の方法に従って抽出したリポ多糖(lipopolysaccharide; LPS)を用いた。

4) 使用薬物: Reserpine (Serpasil[®]), *l*-epinephrine, *l*-norepinephrine, 5-hydroxytryptamine creatine sulfate (serotonin), α -(2,4)-dinitrophenol (DNP)

5) その他: 使用する器具はすべて常法により pyrogen-free とした。

実験結果

[I] LPS, DNP, epinephrine, norepinephrine および serotonin の致死効果と reserpine 前処置の影響

LPS (1 mg/kg, i.v.), DNP (20 mg/kg, i.p.), epinephrine (2 mg/kg, i.p.), norepinephrine (20 mg/kg, i.p.) および serotonin (430 mg/kg, i.p.) を夫々一群 10 匹のマウスに投与して7日間観察して致死率を求めた。同様の実験を reserpine (5 mg/kg,

i.p.) 投与 24 時間後のマウスを用いて行った。その成績を Fig. 1 に示した。図に示すように norepinephrine を除き他の薬物による致死率は reserpine 前処置により著しく増強された。そのなかでも epinephrine が顕著であった。なお catecholamine 投与により死亡する例では 24 時間以内の結果と 7 日後の結果が一致していた。

〔II〕 LPS, DNP, epinephrine, norepinephrine および serotonin の体温に対する効果と reserpine 前処置の影響

マウスに reserpine を投与するとどのような体温変化が起るのかを明らかにするため、一群 10 匹のマウ

Drugs (mg/kg)	Dose (mg/kg)	Route	Normal mice Mortality (%)			Reserpimized mice*		
			0	50	100	0	50	100
LPS	1.0	I.V.	0	0	0	100	100	100
DNP	20.0	I.P.	0	0	0	100	100	100
Epinephrine	2.0	"	0	0	0	100	100	100
Norepinephrine	20.0	"	0	0	0	100	100	100
Serotonin	430.0	"	0	0	0	100	100	100
Reserpine	5.0	"	0	0	0	0	0	0

Fig. 1. Increase of mortality in reserpimized mice

* Reserpine (5 mg/kg, i.p.) was administered, and 24 hr later LPS, DNP, catecholamines and serotonin were injected. Mouse; dd-strain, male weighing 15-20 g

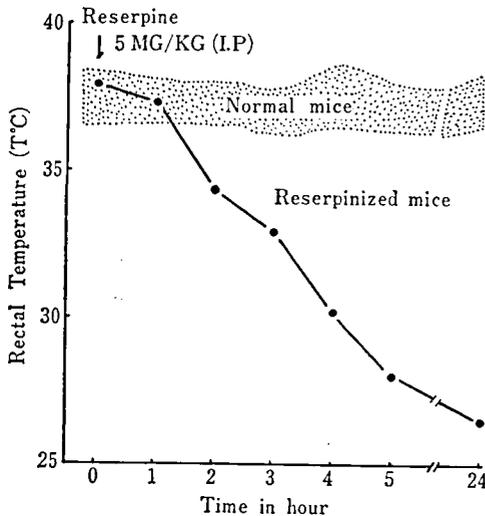


Fig. 2. Effect of reserpine on rectal temperature in mice

* Injected time was 12.00 a.m. Ten mice were used in each experiment $T_a: 24 \pm 1^\circ$

スに reserpine (5 mg/kg, i.p.) を投与した。対照群として 10 匹のマウスに生理食塩水 (2 ml/kg, i.p.) を投与した。その成績を Fig. 2 に示した。図に示すように生理食塩水を投与した対照群では測定時間内では体温の著明な日内変動はみられなかった。Reserpine 投与群では投与約 1 時間後より 5 時間後までほぼ直線的に体温が下降した。5 時間後と 24 時間後の下降度との間には有意の差はなかった。

Reserpine 前処置後のマウスに LPS (1 mg/kg, i.v.), DNP (20 mg/kg, i.v.), epinephrine (2 mg/kg, i.p.), norepinephrine (2 mg/kg, i.p.) および serotonin (21.5 mg/kg, i.p.) を夫々投与して体温変化を調べ、無処置マウスでの変化と比較検討した。その成績を Fig. 3-a, b に示した。Fig. 3-a に示すように無処置マウスでは LPS により体温が下降し、DNP によっても多少体温の下降がみられた。しかし reserpine 前処置マウスでは LPS および DNP により体温上昇がみられた。

Epinephrine, norepinephrine および serotonin により Fig. 3-b に示すように無処置マウスではこれらアミンにより多少程度を異にするが体温下降がみられた。しかし reserpine 前処置マウスでは epinephrine を除きこれらのアミンにより体温の上昇がみられた。Epinephrine を投与したとき 5 匹中 4 匹が 60 分以内に死亡し、残りの 1 匹も 24 時間以内に死亡した。

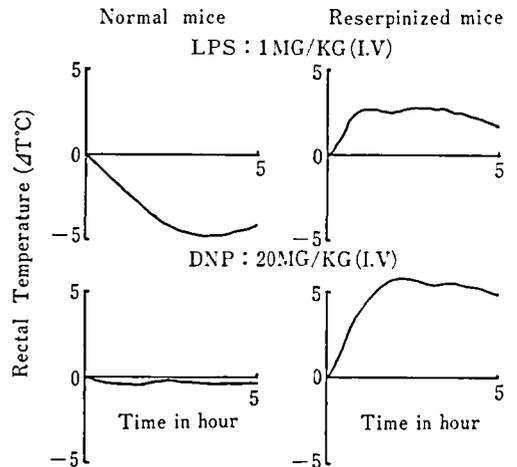


Fig. 3-a. Comparison of rectal temperature change in normal and reserpimized mice* by LPS and DNP

* Reserpine (5 mg/kg, i.p.) was administered before 24 hr
Five mice were used in each experiment $T_a: 24 \pm 1^\circ$.

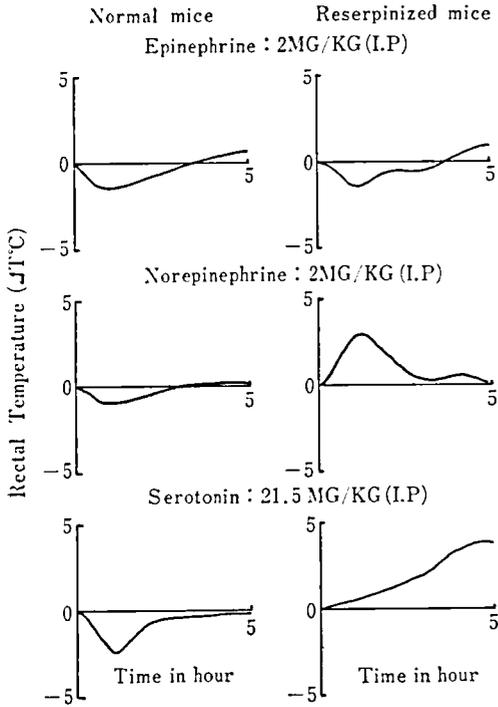


Fig. 3-b. Comparison of rectal temperature change in normal and reserpinized mice by catecholamines and serotonin

Ta: $24 \pm 1^\circ$

考 察

内毒素の致死効果は種差¹⁰⁾、年齢¹¹⁾、環境温度とそれに依存する体温^{12,13,14)}等により影響されることが知られている。

マウスは Fig. 1 および Fig. 3-a に示したように内毒素の致死作用も弱く、体温も下降反応を示し、著者ら¹⁵⁾が先に示した家兎での成績と異なる。Fig. 1 に示したように内毒素の致死効果に対する reserpine 前処置の増強効果は serotonin による致死効果の増強と増強率および死亡にいたる時間で類似であった。Epinephrine の致死効果は reserpine 前処置により著しく増強されたが、epinephrine による死亡は投与 24 時間以内に起り、LPS および serotonin による場合とは異っていた。Agarwal (1974)¹⁶⁾ は幼若ラットに 6-hydroxydopamine, guanethidine および bretylium を投与して chemical sympathectomy した後も内毒素の致死効果は無処置ラットと差がなかったと報告しており、Fig. 1 の成績からも内毒素の致死効果における catecholamine の関与は少ないのではないかと考えられる。

Catecholamine や serotonin の体温に対する効果は環境温度により逆転することが知られている¹⁷⁾。Fig. 2 で示したようにマウスに reserpine を投与すると体温は室温近くまで下降する。これは動物を低環境温に曝露した時と類似の効果である。このような状態のマウスに LPS をはじめ他の薬物を投与すると Fig. 3-a, b に示すように無処置時に投与したときと逆の反応がみられた。逆転効果が夫々の薬物の致死効果とどのように関係するかは断定できないが、逆転が認められなかった epinephrine が最も致死効果が増強されたのは興味ある問題である。

内毒素の致死効果と中枢神経系との関係については Kass ら (1964)¹²⁾ が posterior hypothalamus を破壊した家兎では内毒素の致死効果が減弱すると報告しているにすぎず、内毒素と神経細胞との相互作用を含め中枢神経系に対する内毒素の作用を明らかにすることが重要であろう。

総 括

1) Reserpine (5 mg/kg) を腹腔内投与して 24 時間後のマウスに LPS (1 mg/kg, i.v.), DNP (20 mg/kg, i.p.), epinephrine (2 mg/kg, i.p.), norepinephrine (20 mg/kg, i.p.) および serotonin (430 mg/kg, i.p.) を投与して致死率を無処置マウスでのそれらと比較した。その結果、reserpine を前処置すると epinephrine による致死率が 0 から 100% に増強された。LPS および serotonin は 20 から 80% へ、DNP は 0 から 40% へ増強された。しかし norepinephrine による致死率は影響されなかった。

2) Reserpine (5 mg/kg) を腹腔内投与するとマウスの体温は約 1 時間後より下降しはじめ、24 時間後では約 10°C も下降した。このように体温の下降したマウスに LPS (1 mg/kg, i.v), DNP (20 mg/kg, i.v.), epinephrine (2 mg/kg, i.p.), norepinephrine (2 mg/kg, i.p.) および serotonin (21.5 mg/kg, i.p.) を夫々一群 5 匹のマウスに投与した。その結果、epinephrine を除き体温の上昇がみられた。体温上昇の程度は DNP, LPS, serotonin, norepinephrine の順であった。無処置マウスでは LPS および serotonin により体温は有意に下降した。Epinephrine, norepinephrine および DNP も多少体温を下降させた。

文 献

- 1) H. Rašková, J. Vaněček: *Pharmacol. Rev.*, **16**, 1 (1964)
- 2) M.K. Agarwal: *Naturwissenschaften*, **62**,

- 167 (1975)
- 3) L. Chedid, M. Parant, F. Boyer, R.C. Skarnes: In "Bacterial Endotoxins", ed. by M. Landy, W. Braun, p. 500 (1964)
 - 4) M.K. Agarwal: *Path. Microbiol.*, **40**, 56 (1974)
 - 5) L.A. Pohorecky, R.J. Wurtman, D. Taam, J. Fine: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **140**, 739 (1972)
 - 6) W. Feldberg, R.F. Hellon, V. Lotti: *J. Physiol.*, **191**, 501 (1967)
 - 7) P. Haider: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **136**, 514 (1971)
 - 8) O. Westphal, O. Lüderitz: *Angew. Chem.*, **66**, 407 (1954)
 - 9) 加納晴三郎ら：日薬理誌, **62**, 135 (1966)
 - 10) I. Berczi, L. Bertók, T. Bereznai: *Can. J. Microbiol.*, **12**, 1070 (1966)
 - 11) I. Miler, J. Šterzl, J. Kostka, A. Lanc: In "Bacterial Endotoxins", ed. by M. Landy, W. Braun, p. 291 (1964)
 - 12) E.H. Kass, R.P. Atwood, P.J. Porter: In "Bacterial Endotoxins", ed. by M. Landy, W. Braun, p. 596 (1964)
 - 13) L.J. Berry: *Fed. Proc.*, **25**, 1264 (1966)
 - 14) R.P. Atwood, E.H. Kass: *J. Clin. Invest.*, **43**, 151 (1964)
 - 15) 西尾 晃, 吉田 稔, 加納晴三郎：日薬理誌, **64**, 314 (1968)
 - 16) M.K. Agarwal: *Path. Microbiol.*, **40**, 268 (1974)
 - 17) H. Borison, W.G. Clark: *Advances in Pharmacol.*, **5**, 129 (1967)

トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) の合成

永松国助

Synthesis of Triphenyltin acetate (^{113}Sn)

Kunisuke NAGAMATSU

To be offered to the biological tracer study, triphenyltin acetate (^{113}Sn) was synthesized using $^{113}\text{SnCl}_2$ as the starting material. Dry chlorine gas was passed through the benzene solution of $^{113}\text{SnCl}_2$ to obtain $^{113}\text{SnCl}_4$, which was converted to tetraphenyltin (^{113}Sn) by the reaction with phenylmagnesium bromide. Triphenyltin acetate (^{113}Sn) was obtained by heating the labeled tetraphenyl compound with SnCl_4 , followed by the reaction with sodium acetate. The chemical and radiochemical yields of the final product gained from the starting material were 30.1% and 40.3%, respectively.

(Received May 31, 1976)

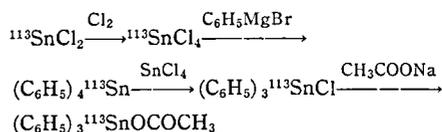
1. 緒言

有機スズ化合物は、一般的に殺菌性を持っており殺菌剤として用いられている。トリフェニルスズアセテートは、農業用殺菌剤として開発され、パレイショの疫病やテンサイのかっ斑病などに使用されている。最近、繊維類のかびによる劣化防止、肌着や靴下の悪臭防止や病原菌の繁殖防止の目的で、トリブチルスズ化合物、トリフェニルスズアセテートなどでこれらの日用品が衛生加工されている。今回トリフェニルスズアセテートの経皮吸収、代謝について動物実験を行なう目的で、放射能標識したトリフェニルスズアセテートを合成した。スズのアイソトープには多数の核種があるが、合成してさらに動物実験を行なうため、半減期が比較的長く、測定が容易な γ 線を放出する核種である ^{113}Sn を使用してトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) を合成した。以下に報告する。

2. 合成方法

有機スズの合成は、無水塩化第二スズにグリニヤール試薬を反応させて行なうのが一般的な方法である。今回入手した ^{113}Sn の化学形は、塩化第一スズ (^{113}Sn) の 4N-塩酸溶液であった。そこでまず塩化第一スズ (^{113}Sn) 液を反応容器に移し、乾燥剤に水酸化ナトリウム、五酸化リンを用いたデシケーター中で乾燥したのち、無水ベンゼンを加えてベンゼン溶液とした。これに乾燥塩素ガスを通じ、酸化して塩化第二スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液を得、以下 Herok らの方法¹⁾にしたがって合成した。

すなわち、塩化第二スズ (^{113}Sn) ベンゼン溶液にフェニルマグネシウムブロマイドを反応させ、テトラフェニルスズ (^{113}Sn) を合成し、これに塩化第二スズを加えて加熱分解して、トリフェニルスズクロライド (^{113}Sn) とし、さらに酢酸ナトリウムと反応させて、トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) を合成した。合成経路を次に示す。



3. 結果および考察

1) 塩化第二スズ (^{113}Sn) の合成

塩化第二スズは通常スズに塩素を反応させて合成する。Herok¹⁾らは金属スズ (^{113}Sn) に塩素ガスを反応させて塩化第二スズ (^{113}Sn) を合成し減圧蒸留により精製している。今回入手した ^{113}Sn は塩化第一スズ (^{113}Sn) の 4N-塩酸溶液であったために Herok¹⁾らの合成法が応用できない。そこで塩化第一スズに塩素を反応させて塩化第二スズとする方法²⁾で塩化第二スズ (^{113}Sn) を合成した。合成した塩化第二スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液は塩素を含み淡緑色を呈する発煙性液体である。合成した塩化第二スズ (^{113}Sn) は高比放射能の目的化合物を得るためマイクロスケールで反応を行なったため Herok¹⁾らが試みたように減圧蒸留で精製することは不可能であった。それで水酸化ナトリウ

ムを入れたデシケーター中に2日間放置して塩素を除いた。この塩化第二スズ (^{113}Sn) をベンゼン溶液のまま次の反応に用いた。

2) テトラフェニルスズ (^{113}Sn) の合成

Herok¹⁾ らの方法により合成した。実験の部 1) で得られた塩化第二スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液は、微量の水分や塩素の含有が考えられたので、フェニルマグネシウムブロマイドを大過剰に用いた。合成品は薄層クロマトグラム上の放射性スポットと標準品の紫外ランプ下の吸収スポットの *Rf* 値が一致したこと、および両者の融点が一致したことからテトラフェニルスズ (^{113}Sn) であると確認した。またラジオ薄層クロマトグラムを Fig. 1 に示す。

3) トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) の合成

塩化第二スズを用い、テトラフェニルスズから脱フェニルしてトリフェニルスズクロライドを合成する条件を検討した。まずこの反応ではジフェニルスズクロライドも副反応で生じるので塩化第二スズの量と加熱は慎重に行なう必要が考えられ、特にこの点に留意した。

結晶水を含む塩化第二スズ ($\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) を用いると収量はよくなかった。また有機溶媒を用いてテトラフェニルスズと塩化第二スズを均一に混ぜた後加熱し、溶媒を留去した後 220° まで加熱したが、この方法も収量が悪かった。合成したトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) には、未反応のテトラフェニルスズ (^{113}Sn) や副生したジフェニルスズ化合物 (^{113}Sn) が含まれていて再結晶では除けなかったため、カラムクロマトグラフィーにより精製した。精製したトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) は、ペーパークロマトグ

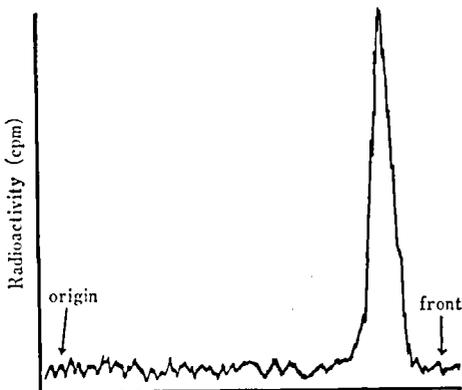


Fig. 1. Thin-layer radiochromatogram of tetraphenyltin (^{113}Sn)
develop. solvent; acetone: chloroform (2: 1)

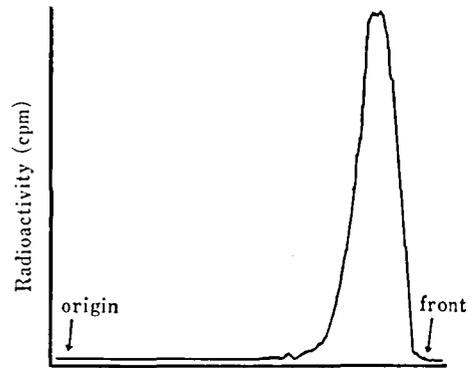


Fig. 2. Radiopaperchromatogram of triphenyltin acetate (^{113}Sn)
develop. solvent; 80% MeOH: n-BuOH (95: 5)

ラム上の放射性スポットおよびジチゾンによる呈色スポットが標準品の呈色スポットと *Rf* 値が一致すること、両者の融点が一致することからトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) であると確認した。

トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) のラジオペーパークロマトグラムを Fig. 2 に示す。

実験の部

1) 塩化第二スズ (^{113}Sn) の合成

塩化第一スズ (^{113}Sn) 4N-塩酸溶液 (New England Nuclear Corp 製) 3 mCi をマイクロ二頸フラスコにとり、水酸化ナトリウムおよび五酸化リンを入れたデシケーター中に5日間放置して乾燥させた。無水ベンゼン 0.5 ml を加えて塩化第一スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液としたのち乾燥塩素ガスを通じて酸化し、塩化第二スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液を得た。

2) テトラフェニルスズ (^{113}Sn) の合成

3 mCi の塩化第二スズ (^{113}Sn) のベンゼン溶液に担体として無水塩化第二スズ 330 mg、および 2 ml の無水ベンゼンを加えて均一な溶液とした。2 M-フェニルマグネシウムブロマイド無水テトラヒドロフラン溶液 3 ml をかきまぜながら滴下したのち、5時間油浴中で加熱還流して反応を完結させた。反応液を室温まで冷却後 2 ml の水を注意しながら滴下し過剰のグリニャー試薬を分解したのち、有機溶媒を留去した。残留物に 2N-硫酸を加えて無機塩をとかし、氷冷後吸引ろ過して粗テトラフェニルスズ (^{113}Sn) を得た。クロロホルムメタノールから再結晶して 2 mCi, 375 mg の白色針状結晶を得た。mp. 225°

3) トリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) の合成

2 mCi/375 mg のテトラフェニルスズ (^{113}Sn) に無水塩化第二スズ 76 mg を加えて油浴中で、おだやかに加熱ながら2時間で 220° まで浴温を上げ、220° で1時間、さらに 150° で4時間加熱した。冷後 2 ml のメタノールを加えて不溶物をろ去し、ろ液に無水酢酸ナトリウム 150 mg と無水ベンゼン 5 ml を加えて2時間還流した。過剰の酢酸ナトリウムと塩化ナトリウムをろ去し、ろ液を減圧濃縮してトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) の粗結晶を得た。粗結晶をメタノール 2 ml にとかし、これを微結晶セルロースカラム (微結晶セルロース 1×15 cm に活性炭を 1 cm 積層させた) に流したのちメタノールで溶出し、溶出液を減圧濃縮してトリフェニルスズアセテート (^{113}Sn) を得た。収量 1.21 mCi, 208 mg, mp. 124°

4) 放射能測定

^{113}Sn は $T_{1/2}=115$ d, $\gamma: 0.225$ MeV (1.8%) で、崩壊すると ^{113m}In , $T_{1/2}=100$ m, $\gamma: 0.393$ MeV (64%)

となり、 ^{113}Sn は約 18 時間放置すると ^{113m}In と放射平衡の状態になる。 ^{113}Sn の γ 線のエネルギーは ^{113m}In のそれにくらべて極めて低く、したがって ^{113}Sn の γ 線エネルギーレベルで放射能を測定することはきわめて不利であることが予想された。そこで測定試料を 18 時間以上放置して ^{113}Sn — ^{113m}In の放射平衡成立後 ^{113m}In の γ 線を主体に測定することとした。

測定には日本無線医理学研究所製：キューリーメーター、日本無線医理学研究所製：薄層クロマトグラムスキャンナー、日本無線医理学研究所製：ペーパークロマトグラムスキャンナーを使用した。

文 献

- 1) J. Herok, H. Gotte: *Internat. J. Appl. Radiation and Isotopes*, **14**, 461 (1963)
- 2) 柴田雄次ら：無機化学全書 XII-I-I, スズ (1963), 丸善

3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-Oxide および 1,2-Dioxide
とナトリウムメトキシドの反応

末吉祥子・鈴木郁生

Reactions of 3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-Oxide and
1,2-Dioxide with Sodium Methoxide

Shoko SUEYOSHI and Ikkuo SUZUKI

3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide [I] was reacted with sodium methoxide under cooling in an ice bath, to give 3,6-dimethyl-4-methoxy-pyridazine 1-oxide [II] and 3,6-dimethyl-4-nitro-5-(3-methyl-4-nitro-1-oxido-6-pyridazinylmethyl) pyridazine 1-oxide [III]. On the other hand, when 3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1,2-dioxide [V] was treated with sodium methoxide, V afforded resinous substances under the atmosphere of nitrogen gas or not.

(Received May 31, 1976)

ニトロ基を有する異項環のなかには生物活性を示すものが知られている。例えば 4-nitroquinoline 1-oxide や 4-nitrocinnoline 1-oxide などの発ガン性¹⁾ や微生物に対する活性²⁾ が報告されている。筆者らはこれらと構造が類似しているニトロピリダジン誘導体の合成を試みてきたが、3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1,2-dioxide [V] の合成に成功した³⁾。V は未知化合物であり、その性質を調べるために還元反応やハロ

ゲン置換反応を行ない、その結果は既に報告した⁴⁾ がさらに今回はナトリウムメトキシドとの反応を検討した。一般にニトロピリダジン N-オキシド類をナトリウムメトキシドと室温または加温の条件下で反応させるとニトロ基がメトキシ基により置換されてメトキシピリダジン N-オキシド類が合成される。例えば 4-nitropyridazine 1-oxide は室温で 64% の収率で 4-methoxy-pyridazine 1-oxide を生じ⁵⁾、また 3,6-

dimethyl-5-nitropyridazine 1-oxide [IV] は室温で 5-メトキシ体を 78% 生ずる⁶⁾。一方 3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide [I] に関しては中込⁷⁾がナトリウムメトキッドと反応させても樹脂化して目的とする 4-メトキシ体 [II] を得ることができなかったと報告している。そこでまずモノオキシド [I] の反応を検討した。

I をメタノール中で 1 モルまたは 1.5 モルのナトリウムメトキッドと反応させると Table 1 に示したように低収率ながら 3,6-dimethyl-4-methoxypyridazine 1-oxide [II] が得られた。この化合物は I を塩酸で 3,6-dimethyl-4-chloropyridazine 1-oxide⁸⁾ とし、さらにナトリウムメトキッドと反応させて得られた 4-メトキシ体と同定することにより構造を決定した。II のほかに分解点 265° で $C_6H_6O_3N_3$ の組成をもつ帯黄白色の結晶が副生した。この化合物は赤外吸収スペクトル (IR) でメトキシ基に相当する吸収を示さず 1570 cm^{-1} と 1350 cm^{-1} にニトロ基と同定できる吸収および 1320 cm^{-1} に N-オキシドと見なされる

強い吸収を示す。核磁気共鳴スペクトル (NMR: DMSO- d_6 , pyridine- d_5) で 3 個のメチル基および 1 個のメチレン (4.78 ppm) と 1 個の核プロトン (8.95 ppm) の存在が確認され、またマスペクトルで分子イオンピークが 336 であることから、その構造は Chart 1 に示したように 2 分子の I が酸化的に縮合した III であると決定した。N-オキシドの位置については 3,6-ジメチルニトロピリダジン類と塩化アセチルとの反応において 4-ニトロ体 [I] および 5-ニトロ体 [IV] のいずれも N-オキシド基に隣接する側のメチル基が活性で反応を受け易いという報告^{6,9)} があるので、この反応の場合も N-オキシドに隣接する 6 位のメチル基の方が活性であるとした。反応機構としては 6 位のメチル基の水素引抜きにより生じたカルバニオンが他の分子の最も電子密度の低い 5 位の炭素を求核的に攻撃して縮合したと考えられる。そこで活性メチレンをもつマロン酸ジエチルと I をナトリウムメトキッドの存在下で反応させたが生成物が樹脂化して結晶を得ることができず、反応機構についてはなお検討

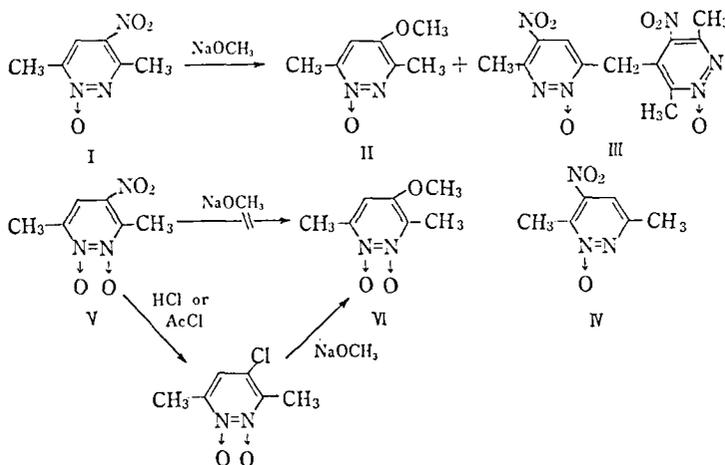


Chart 1.

Table 1. Reaction of 4-nitro-3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (I) with sodium methoxide at 0°.

No.	Material I (g)	Reagent (Na, mol.)	Reaction time (min.)	Product II (%)	Product III (%)	Recovery (%)
1	0.2	1	15	2.1	—	—
2	1.0	1.5	30	—	3.6	20
3	1.5	2	20	—	2.5	46
4	2.0	1.5	20	—	1.0	3
5	1.5	1	20	—	0.8	51
6	2.0	1.5	4 hr	19.4	0.6	40

中である。

3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1,2-dioxide [V] とナトリウムメトキシドの反応の場合は大気中または窒素ガス気流中で氷冷しながら反応させたが、生成物は樹脂様となり目的とする 4-メトキシ誘導体を得ることができなかった。4-メトキシ体 [VI] は Chart 1 に示したように V を一たん 4-クロル体に変え、さらにナトリウムメトキシドと反応させることによって低収率ながら合成できる⁹⁾。したがってモノオキシド [I] においてニトロ基がメチル基の活性を増大させメトキシ化のほかにメチル基における副反応が起こり III が生成したように、ジオキシド [V] の場合もさらに 1 個の N-オキシド基が導入されているので、両方のメチル基の活性が増大し、ニトロ基の置換反応よりもメチル基における反応が優先して起こるために VI が得られず樹脂化すると考えられる。

実験の部

3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-Oxide [I] とナトリウムメトキシドの反応

I 2.0 g をメタノール 50 ml に溶かし、ナトリウム 0.2 g とメタノール 20 ml より製したナトリウムメトキシド溶液を氷冷しながら滴加し、0° を保ちながら 4 時間攪拌する。メタノールを減圧下室温で蒸発させたのち残渣に水を加えクロロホルムで抽出し芒硝で乾燥する。クロロホルムを留去した残渣をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーに付す。ベンゼン流出部より原料 I を回収する。回収量 0.8 g (40%)。最初のクロロホルム流出部より III を得る。帯黄白色板状晶 (CHCl₃-MeOH 再結晶)。mp 265° (decomp.)、収量 25 mg (0.6%)。Anal. Calcd. C₈H₈O₂N₃: C, 42.86; H, 3.60; N, 24.99. Found: C, 42.89; H, 3.74; N, 24.96. IR (Nujol) cm⁻¹: 1570 (NO₂), 1350 (NO₂), 1320 (N→O). NMR (ppm), pyridine-d₅: 2.38 (3H, s, -CH₃), 2.42 (3H, s, -CH₃), 2.53 (3H, s, -CH₃), 4.92 (2H, s, -CH₂-).

DMSO-d₆: 2.37 (s, -CH₃), 2.44 (s, -CH₃), 4.78 (2H, s, -CH₂-), 8.95 (1H, s, arom.-H). Mass. M⁺, m/e 336.

クロロホルム第 2 流出部より II を得る。mp 146° (アセトン)。収量 353 mg (19%)。II は文献⁹⁾ に従って 4-クロル体より合成した 3,6-dimethyl-4-methoxypyridazine 1-oxide と IR, NMR が一致し融点降下も認められなかった。なお実験 1~5 についてはクロロホルム抽出物をカラムクロマトグラフィーに付することなく再結晶により精製した。反応条件および結果は Table 1 に示した。

3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1,2-Dioxide [V] とナトリウムメトキシドの反応

V 0.3 g をメタノール 100 ml に懸濁し、ナトリウム 50 mg とメタノール 10 ml より製したナトリウムメトキシド溶液を氷または寒剤 (食塩一氷) を使用して冷却しながら加え、大気中または窒素ガスを通じながら攪拌する。以下 I の場合と同様に処理したが結晶は得られなかった。

文 献

- 1) H. Endo *et al.*: *Recent Results in Cancer Research*, 34th Ed., p. 32 (1971), Springer-Verlag Berlin. 4-Nitrocinnoline 1-oxide については白須泰彦博士の私信による。
- 2) 越沼きみえら: 衛生試報, 86, 157 (1968)
- 3) 鈴木郁生, 末吉祥子: 薬誌, 93, 59 (1973)
- 4) S. Sueyoshi, I. Suzuki: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 2767 (1975)
- 5) T. Itai, S. Natsume: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 11, 83 (1963)
- 6) T. Itai, S. Natsume: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 12, 228 (1964)
- 7) 中込孟也: 薬誌, 82, 253 (1962)
- 8) S. Sako: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 11, 337 (1963)
- 9) M. Ogata: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 11, 1511 (1963)

幻覚剤に関する研究(第10報) Phenethylamine 系化合物の確認

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Studies on Hallucinogens. X Identification of Phenethylamine and its Derivatives

Masako ŌNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

Fourteen phenethylamine compounds and 16 α -methylphenethylamine (amphetamine) compounds were synthesized and studied.

For the identification of these phenethylamines, color tests, thin-layer and gas chromatography, measurements of UV spectra and microcrystal tests were carried out.

Results of each test were tabulated in table 1~5.

(Received May 31, 1976)

著者らは第1報¹⁾でのべた目的に従って、厚生省依託の「幻覚剤の物理的、化学的研究」を行なっており、鑑定用標準品として合成した Phenethylamine 系化合物であるメスカリン¹⁾、STP²⁾のほかにも30種の同系化合物を合成し、このうちすでに IR, NMR, Mass スペクトル等が文献^{3),4),5),6),7)}に記載されているものについてはこれらと比較確認を行なっている。

ここではこれら新たに合成した30種の化合物についての呈色反応、薄層クロマトグラフィー (TLC)、ガスクロマトグラフィー (GC)、紫外線吸収スペクトル (UV)、マイクロクリスタルテスト等による確認を試みた結果をまとめた。

実験方法

試料

次ページに示す化合物 P-1~14, A-1~16 (30種) を用いた。

試験

1. 呈色反応

試液

- (1) ホルマリン・硫酸試液 日局九
- (2) 亜セレン酸・硫酸試液 日局九
- (3) モリブデン酸アンモニウム・硫酸溶液：
モリブデン酸アンモニウム 0.1g を硫酸 10ml に溶かす。

方法

試料数 mg を滴板上にとり、試液(1)~(3)それぞれ1滴ずつを加える。

2. TLC

- (1) 試料の調製：P-1~14, A-1~16 のメタノール溶液 (1→500)

(2) プレート

A) シリカゲル GF₂₅₄：厚さ 0.3 mm, 常法により調製し, 110°, 1時間乾燥後保存

B) リプレート：ヤマト科学製, 厚さ 0.2 mm, 110° 1時間乾燥後保存

(3) 展開溶媒

- a) メタノール：28%アンモニア水=100：1.5
- b) クロロホルム：メタノール：28%アンモニア水=27：3：0.1
- c) アセトン：28%アンモニア水=29.5：0.5
- d) アセトン：ジメチルホルムアミド：28%アンモニア水=26：3.8：0.2
- e) クロロホルム：アセトン：メタノール：28%アンモニア水=15：12：3：0.1
- f) ピリジン：28%アンモニア水=27：3
- g) シクロヘキサン：アセトン：28%アンモニア水=15：15：0.1
- h) ヘキサン：アセトン：28%アンモニア水=27：3：0.1
- i) ベンゼン：アセトン：28%アンモニア水=27：3：0.1
- j) シクロヘキサン：アセトン：28%アンモニア水=27：3：0.1

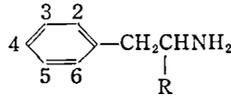
(4) 発色剤

1%過マンガン酸カリウム溶液

3. GC

(1) 試料の調製

- A) 試料のエタノール溶液 (1→1000)
- B) 試料 (base) のアセトン溶液 (1→1000)
- C) 試料の無水酢酸溶液 (1→1000)
- D) 試料 (base) のシクロヘキサノン溶液 (1→1000)



Compound No.	Substitution Pattern					R	Salt
	2	3	4	5	6		
P- 1	H	H	H	H	H	H	sulfate
2	OCH ₃	H	H	H	H	H	''
3	H	OCH ₃	H	H	H	H	''
4	H	H	OCH ₃	H	H	H	''
5	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	H	''
6	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H	H	''
7	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	H	''
8	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	''
9	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H	''
10	H	O—CH ₂ —O	H	H	H	H	''
11	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	''
12	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	''
13	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	''
14	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	''
A- 1	H	H	H	H	H	CH ₃	''
2	OCH ₃	H	H	H	H	CH ₃	''
3	H	OCH ₃	H	H	H	CH ₃	''
4	H	H	OCH ₃	H	H	CH ₃	''
5	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	CH ₃	''
6	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H	CH ₃	''
7	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	CH ₃	''
8	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	CH ₃	''
9	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	CH ₃	''
10	H	O—CH ₂ —O	H	H	H	CH ₃	''
11	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	CH ₃	''
12	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	CH ₃	''
13	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	CH ₃	''
14	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	CH ₃	''
15	OCH ₃	H	CH ₃	OCH ₃	H	CH ₃	hydrochloride
16	OCH ₃	H	C ₂ H ₅	OCH ₃	H	CH ₃	''

(2) Condition

Apparatus : Shimadzu GC 4BM PF (connected with Digital Integrator TR-2215 A, TAKEDA RIKEN)

Column : 1) OV-1, 3%, Gas-Chrom Q, 60~80 mesh

2) SE-30 (GC grade), 3%, Gas-Chrom Q, 60~80 mesh

3) PEG 20 M, 2%, Chromosorb G (AW-DMCS)

(5% KOH), 80~100 mesh I. D. 3 mm, L. 2 m, glass column

Temp. : Column 100~220°, Det. 240°

N₂ 45 ml/min, H₂ 50 ml/min, Air 1 l/min

Sens : 100 MΩ Range : 0.08 V

4. UV

Apparatus : HITACHI EPS-3T

試料の調製 : 各試料のメタノール溶液 (1→1000) をさらにうすめて用いる。

5. マイクロクリスタルテスト

試液

(1) 2%酢酸溶液

(2) 臭化金溶液: 塩化金 1g に臭化水素酸 (40%) 1.5 ml を加える。

(3) 臭化金試液: 臭化金溶液 1 ml にうすめた硫酸 (2→3) 2 ml を加え, これに氷酢酸 1 ml を加える。

(4) 塩化金試液: 5%塩化金溶液 1 ml にうすめたリン酸 (1→2) 1 ml を加える。

方法⁸⁾

実験結果および考察

1. 呈色反応

各試液による呈色反応の結果を Table 1 に示す。同一置換基をもつ phenethylamine (P-1~14) と

 α -methyl phenethylamine (A-1~14) の各試液による呈色を対比するときほとんど差は認められないが, 試液を組み合わせて用いることにより, A-15 と A-16 の場合をのぞき P, A 各グループ内ではたがいに判別することができた。

2. TLC

前述の条件における各試料の Rf 値は Table 2 に示すとおりである。

展開溶媒の選択はプレートが Silica Gel GF₂₅₄ の場合とリプレートとは異なり, 両者に有利な溶媒はなかった。(例 Solvent a) また Table 2 で明らかのように化合物間の Rf 値の差はリプレートを用いた場合のほうが大きく, 各化合物の分離確認に適しているように思われる。試料 A-15 および A-16 はいずれの条件でもたがいに区別することができなかった。

Table 1. Colors of phenethylamines given with Marquis, Mecke and Fröhde reagents

Compound	Reagent Formalin-Sulfuric Acid TS	Selenious Acid-Sulfuric Acid TS	Ammonium Molybdate- Sulfuric Acid Solution
P- 1	RBr→dark Br	Colorless	Colorless
2	R→RBr	pale YG→pale P	Colorless→pale P
3	V	Colorless→pale P	pale V
4	Colorless	Colorless	Colorless
5	V	BV→GV	V
6	R→P	pale RBr	G→YBr
7	YG	G→GBr	YBr→Br
8	Br→V	YG→Gy-P	BG→Gy
9	Y	Colorless	dark Br
10	dark V	RBr→YBr	BG→dark V
11	O	pale R→Gy-V	V→dark V
12	Y	G→Br	YBr
13	O	Colorless	Gy-V
14	O	Y→YG	YG→Br
A- 1	Br→dark Br	Colorless	Colorless→pale Y
2	RBr	pale YG→pale P	Pale YG→pale P
3	dark V	Colorless→pale P	pale B
4	Colorless	Colorless	pale Gy
5	P	dark V	V
6	R→P	pale YG→pale P	YG→dark YG
7	YG	YG→GBr	Br
8	YG→V	pale YG→BV	BG→Gy-BG
9	Y	Colorless	dark Br
10	dark V	dark V→dark YBr	dark V
11	O	Gy-V	dark V
12	pale Y	YG→YBr	YG→YBr
13	O	pale P	pale Br
14	O	pale YBr	YG→YBr
15	pale Y	YG	YBr
16	pale Y	YG	YBr

B : Blue Br : Brown G : Green Gy : Gray O : Orange P : Purple R : Red V : Violet
Y : Yellow

Table 2. *R_f* values of phenethylamines (×100)

Compound	Plate		A						B				
	Solvent		a	b	c	d	e	f	g	a	h	i	j
P- 1			37	31	58	63	58	44	57	92	50	58	58
2			32	34	58	65	61	48	58	78	43	60	57
3			38	37	57	63	61	45	53	78	38	56	52
4			34	34	56	62	59	42	51	75	18	50	43
5			40	35	58	67	62	48	51	75	30	49	41
6			33	31	58	63	58	45	50	71	25	50	35
7			33	38	57	65	60	50	53	78	32	52	42
8			28	33	49	52	55	35	36	68	15	38	24
9			36	43	55	60	60	46	48	78	28	52	38
10			35	35	57	63	60	42	50	75	35	52	41
11			22	36	55	61	61	44	48	78	27	48	33
12			28	35	48	58	54	45	38	74	17	39	22
13			26	28	58	63	57	46	48	74	18	43	27
14			27	36	44	63	53	34	35	70	13	32	18
A- 1			45	45	59	65	55	58	58	92	56	60	61
2			36	40	58	65	60	59	55	80	43	54	52
3			41	50	57	63	60	58	52	81	36	51	45
4			41	43	54	60	54	55	50	76	40	50	47
5			42	44	57	63	55	61	51	78	38	47	45
6			36	40	55	60	53	59	48	75	33	47	40
7			37	43	59	65	60	62	49	80	35	46	40
8			35	47	47	54	48	50	39	76	17	35	26
9			40	52	58	61	60	60	46	80	26	46	36
10			44	46	57	63	53	56	50	78	38	51	46
11			38	46	54	60	56	58	46	81	25	44	35
12			27	40	50	56	54	53	35	76	18	33	21
13			28	30	48	52	44	57	40	76	17	38	24
14			38	46	46	51	50	47	35	73	15	30	21
15			34	44	59	62	53	63	53	84	35	50	50
16			34	44	59	62	54	63	52	85	36	52	52

Plate : A) Silica Gel GF₂₅₄

B) Replate (Yamato Scientific Co., LTD)

Solvent : a) Methanol : 28% Ammonia Water = 100 : 1.5

b) Chloroform : Methanol : 28% Ammonia Water = 27 : 3 : 0.1

c) Acetone : 28% Ammonia Water = 29.5 : 0.5

d) Acetone : Dimethylformamide : 28% Ammonia Water = 26 : 3.8 : 0.2

e) Chloroform : Acetone : Methanol : 28% Ammonia Water = 15 : 12 : 3 : 0.1

f) Pyridine : 28% Ammonia Water = 27 : 3

g) Cyclohexane : Acetone : 28% Ammonia Water = 15 : 15 : 0.1

h) Hexane : Acetone : 28% Ammonia Water = 27 : 3 : 0.1

i) Benzene : Acetone : 28% Ammonia Water = 27 : 3 : 0.1

j) Cyclohexane : Acetone : 28% Ammonia Water = 27 : 3 : 0.1

Location reagent : 1% Potassium permanganate spray

3. GC

前記の各条件で GC を行なった結果を Table 3 に示す。

充填剤の OV-1 と SE-30 とでは分離能にあまり

Table 3. Retention times of phenethylamines under above mentioned conditions

Column Solution Compound	OV-1						SE-30						PEG 20 M									
	100°		150°		180°		100°		150°		180°		150°		180°		210°		220°			
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
P-1	2.4	6.0	1.4	2.5	1.1	1.8	2.2	6.5	1.6	3.2	1.5	2.7	3.1	4.8	4.0	6.0					3.3	7.3
2	7.2	18.9	1.5	2.7	2.1	2.1	7.8	20.8	1.8	3.5	3.1	3.1	10.1	16.1	5.0	7.2					8.6	8.6
3	8.2	21.9	1.5	2.7	2.3	2.3	8.8	23.9	1.8	3.7	3.3	3.3	13.4	20.6	5.2	7.7					9.2	9.2
4	8.7	23.1	2.4	4.5	2.9	4.3	9.5	25.6	2.9	5.9	4.3	4.3	13.8	22.3	8.5	12.					13.8	13.8
5			3.3	6.3	4.3	4.3			3.9	8.2	6.0	6.0			13.8	20.9					21.1	21.1
6			3.2	5.8	3.7	3.7			3.8	7.5	5.5	5.5			13.0	18.6					19.0	19.0
7			3.2	6.0	3.9	3.9			3.8	7.8	5.9	5.9			14.9	21.0					20.8	20.8
8			3.7	6.8	4.3	4.3			4.3	8.7	6.5	6.5			17.5	24.3					23.6	23.6
9			2.2	4.2	3.1	3.1			2.6	5.4	4.6	4.6			10.3	14.7					15.8	15.8
10			4.1	7.9	4.9	4.9			4.9	10.2	7.2	7.2			16.0	23.7			5.8	7.9	23.0	23.0
11			6.2	11.8	6.9	6.9			7.4	15.2	10.3	10.3			33.3	46.6			10.5	13.8	39.2	39.2
12			7.4	14.4	7.7	7.7			8.8	18.9	11.5	11.5			36.8	60.4			11.5	17.3	49.6	49.6
13			5.6	10.9	6.5	6.5			6.8	13.9	9.6	9.6			31.0	41.2			9.8	12.4	35.2	35.2
14																						
A-1	2.7	5.2			1.1	1.1	2.8	5.5			1.4	1.4	2.8	3.2							2.2	2.2
2	7.8	15.0	1.7	2.4	1.8	1.8	8.4	16.3	1.7	2.5	2.5	2.5	8.4	9.5	3.4	3.8					4.6	4.6
3	9.3	17.8	1.8	2.6	2.0	2.0	10.1	19.3	1.8	2.9	2.9	2.9	11.5	11.8	4.4	4.8					5.5	5.5
4	9.8	19.5	1.9	2.8	2.1	2.1	10.6	21.1	1.9	3.0	3.1	3.1	12.2	13.1	4.6	4.9					6.0	6.0
5			2.8	4.1	2.8	2.8			2.9	4.1	4.0	4.0			7.1	7.5					8.4	8.4
6			3.9	5.6	3.9	3.9			4.0	6.1	5.5	5.5			12.1	12.4					12.7	12.7
7			3.6	5.1	3.5	3.5			3.8	5.6	5.0	5.0			10.7	10.3					11.2	11.2
8			3.8	5.5	3.8	3.8			3.9	6.0	5.4	5.4			12.8	12.7					12.9	12.9
9			4.3	6.1	4.1	4.1			4.5	6.7	5.9	5.9			14.7	13.8					14.3	14.3
10			2.7	4.0	3.0	3.0			2.8	4.3	4.4	4.4			9.2	9.2					10.7	10.7
11			4.8	7.0	4.5	4.5			5.1	7.7	6.5	6.5			12.9	12.9			4.9	4.8	13.1	13.1
12			7.3	10.2	6.1	6.1			7.7	11.1	9.1	9.1			26.6	25.4			8.7	8.1	21.7	21.7
13			7.6	12.6	6.5	6.5			8.7	13.9	9.5	9.5			30.1	33.5			9.7	10.5	27.6	27.6
14			6.8	9.7	6.0	6.0			7.2	10.8	8.9	8.9			25.1	22.5			8.2	7.5	20.2	20.2
15			3.5	5.0	4.2	4.2			5.2	7.7	6.1	6.1			10.2	9.5			3.9	3.8	9.1	9.1
16			4.5	6.3	5.0	5.0			6.7	9.6	7.4	7.4			11.1	10.1			4.1	3.9	9.4	9.4

A : ethanol sol. (1→1000)

B : acetone sol. (base 1→1000)

C : acetic anhydride sol. (1→1000)

D : cyclohexanone sol. (base 1→1000)

Table 4. Data of ultraviolet absorption spectra of phenethylamines

Compound	$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeHO}}$		$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeHO}}$		Compound	$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeHO}}$		$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeHO}}$		
	nm	E 1% 1cm	nm	E 1% 1cm		nm	E 1% 1cm	nm	E 1% 1cm	
P- 1	254	9.2	242*	4.7	A - 1	254	7.5	241*	3.0	
	261.5	8.8	247*	6.9		261.5	7.1	247*	5.4	
			252	9.6					251.5	8.0
			257.5	11.7					257	10.3
			263	9.2					263	8.0
			266*	6.5					266*	5.2
2	242	4.7	215	319.0	2	242	1.8	215	365.9	
			271.5	88.8				271	97.7	
			277*	82.4				277*	90.9	
3	243	6.7	215	337.8	3	243	1.7	215	360.4	
			271	77.1				271.5	81.1	
			277*	71.6				278.5*	74.8	
4	245	4.6	223	529.0	4	245	2.9	223	490.6	
			274	83.3				275	70.7	
			280*	72.8				280*	62.7	
5	244	5.4	216*	361.0	5	244	3.7	215*	346.9	
			274	66.0				274	56.3	
6	217	318.5	225	333.5	6	216	314.3	224.5	343.1	
			250	10.5				277	110.7	
			282*	100.0				277	111.2	
7	253	10.9	225	383.8	7	252	8.4	225	310.2	
			289	142.1				290	129.8	
			283*	111.2				282*	104.7	
8	215	265.9	228	341.2	8	214.5	254.4	228	348.8	
			278	124.5				278	115.8	
9	248	9.3	222*	321.9	9	248	5.4	221*	348.1	
			276	76.0				277	71.5	
			279	76.5				274	72.1	
10	220.5	139.5	233.5	189.1	10	220.5	122.9	234	167.9	
			285	182.1				255.5	18.1	
11	248	7.8	223*	315.9	11	248.5	6.7	223*	333.3	
			275	38.2				274	34.4	
12	217	263.6	230	323.6	12	217	261.5	229.5	341.5	
			289	174.9				257.5	21.8	
13	255	16.0	230*	317.5	13	256	14.9	230*	296.5	
			269	26.9				269.5	24.6	
14	252.5	13.3	225*	377.8	14	253	12.8	227*	291.6	
			269	28.5				269.5	25.8	
				15	215	328.6	224	342.9		
					253	16.8	289	171.9		
				16	217	307.4	225	321.8		
					254	18.0	292	174.2		

* inflexion

Table 5. Crystal forms of phenethylamines

Compound	Crystal Forms & Habits	
	Auric Bromide Rgt.	Auric Chloride Rgt.
P- 1	no crystal forms	no crystal forms
2	brown square-cut crystals, CP reddish & birefr., no elong. with RP	skeletonized large branching crystals, CP whitish blue, neg. elong. with RP
3	huge square-cut orange-brown crystals, CP orange & green, birefr., no elong. RP (ON)	composite of square plates, CP whitish, positive elong. with RP
4	no crystal forms	no crystal forms
5	dichroic crosses & square-cut crystals, red & yellow, birefr., CP, no elong. with RP	composite of thick, yellow square-cut crystals, & diamonds, CP very bright, no elong., with RP
6	clusters of elongated rods & plates, forms immediately, CP red, no elong. with RP	brown rosettes & sheaves, CP bright, neg. elong. with RP
7	clusters of blades, dichroic, yellow to brown, CP green-yellow, neg. elong. RP	branching stems & feather skeletons, CP whitish, neg. elong. with RP
8	dichroic needles, short & fairly stout, CP reddish & green; dichroic square crystals, CP birefr. (dimorphic), RP no elong.	dichroic complex branching aggregates, CP blue to yellow, no elong. with RP; dendritic crystals, neg. elong. with RP (dimorphic)
9	dichroic clusters of blades & branching stems, CP green & orange, no elong. with RP	clusters of rods, CP brownish, no elong. with RP; Clusters of plates CP whitish blue, birefr., positive elong. with RP (dimorphic)
10	curled dark brown dendrites, CP orange-green, neg. elong. with RP	dendrites of blades and grains & small rosettes, CP yellowish, neg. elong. with RP
11	dichroic skeletonized crystals & rods, CP brownish, no elong. with RP	characteristic skeletonized crystals, somewhat X's, CP whitish, neg. elong. with RP
12	colorless clusters of blades, CP bluish, positive elong. with RP; dark brown grains, CP orange, no elong. with RP (dimorphic)	no crystal forms
13	brown rosettes of curled crystals, CP brownish, positive elong. with RP	blades, CP yellow-brown, birefr. neg. elong. with RP
14	jointed diamonds & skeletonized crystals, CP red-orange, positive elong. with RP	serrated blades, CP brownish, no elong. with RP; needles, CP whitish, neg. elong. RP (dimorphic)
A- 1	no crystal forms	no crystal forms
2	brown dense blades, CP red, birefr., no elong. with RP	clusters of curled hairy crystals, dense, CP brownish, somewhat neg. elong. with RP
3	no crystal forms	no crystal forms
4	"	no good, very small brown rosettes (ON)
5	"	small clusters of plates & needles, CP brownish, neg. elong. with RP
6	clusters of dense square-cut crystals & elongated rods, CP reddish, birefr., no elong. with RP	no good
7	no crystal forms	"
8	"	light brown dendrites of threads & needles, brownish & yellowish CP, neg. elong. with RP (dimorphic)
9	clusters of brown leafy crystals, CP orange-green, positive elong. with RP; dense rosettes CP red, no elong. with RP (dimorphic)	small dense rosettes, CP weak; rosettes of needles, whitish CP, neg. elong. with RP

Compound	Crystal Forms & Habits	
	Auric Bromide Rgt.	Auric Chloride Rgt.
10	no crystal forms	rosettes & sheaves, CP yellowish, neg. elong. with RP and clusters of blades, CP purple & yellow-green, birefr., no elong. with RP
11	clusters of dense diamonds, CP red, birefr., no elong. with RP	dichroic blades & clusters of blades, CP yellow, no elong. with RP
12	clusters of rods, CP greenish, positive elong. with RP; dense rods, CP red, no elong. with RP; rosettes of needles, CP greenish, positive elong. with RP (trimorphic)	small brown rosettes, CP weak, neg. elong. with RP
13	dichroic blades, loosely jointed, CP reddish, birefr., no elong. with RP	small dark brown rosettes, CP weak, neg. elong. with RP
14	characteristic dichroic dendrites of plates, CP yellow-brown, positive elong. with RP; dichroic blades, CP orange, no elong. with RP (dimorphic)	skeletonized crystals, CP brownish, positive elong. with RP
15	dichroic segmented crystals, CP orange & yellow-green, very bright, no elong. with RP	rosettes of needles, CP bluish, no elong. with RP
16	skeletonized dichroic crystals, CP greenish, very bright, positive elong. with RP	small rosettes of needles, CP brownish, neg. elong. with RP; X's crystals, CP white, neg. elong. with RP (dimorphic)

PC : observation with polarizers crossed

RP : observation with red plate

ON : overnight

差はなく、アセトンによるシッフ塩基 (B)、無水酢酸によるアセテート (C) がともによく分離され、用いた試料 30 種のすべてがたがいに区別できた。

シッフ塩基にした場合 t_R は通例遅れるがアセトンによるシッフ塩基は PEG 20 M のカラムを用いたときこの特長を示さなかった。

4. UV

前記条件で測定して得た結果を Table 4 に示す。

それぞれ対応する同一の置換基をもつ phenethylamine と α -methyl phenethylamine とは極小、極大波長および吸収スペクトルがともにほとんど変わらなかった。しかしそれぞれについては P-2 と P-3, A-2 と A-3 のような例外もあるがほとんどが個々に判別可能な吸収スペクトルを示した。

5. マイクロクリスタルテスト

ここで用いている結晶形成試液は, phenethylamine グループの確認に適した 8 種中の 2 つであるが, 比較のため全試料に適用し, 結果を Table 5 にまとめた。

30 種の phenethylamine 化合物も, 以上にのべた方法のいくつかずつを組み合わせれば, 容易に鑑別することができる。

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **91**, 33 (1973)
- 2) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **91**, 41 (1973)
- 3) R. J. Warren, P. P. Begosh, J. E. Zarembo: *J. A. O. A. C.*, **54**, 1179 (1971)
- 4) K. Bailey: *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1232 (1971)
- 5) K. Bailey, D. Legault, D. Verner: *J. A. O. A. C.*, **57**, 70 (1974)
- 6) K. Bailey, H. D. Beckstead, D. Legault, D. Verner: *J. A. O. A. C.*, **57**, 1134 (1974)
- 7) K. Bailey, A. W. By, K. C. Graham, D. Verner: *Can. J. Chem.*, **49**, 3143 (1971)
- 8) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **93**, 95 (1975)

高速液体クロマトグラフィーによる臭化プロパンテリン錠の定量

柴田 正・中原 裕・伊阪 博・持田研秀

Determination of Propantheline Bromide Tablets by High-speed Liquid Chromatography

Tadashi SHIBATA, Hiroshi NAKAHARA, Hiroshi ISAKA and Kenshu MOCHIDA

High-speed liquid chromatography for the determination of propantheline bromide (PB) in the tablets was studied.

In the case of the tablets with 2-methyl-5-vinyl pyridine methyl acrylate methacrylic acid copolymer (MPM-47) coating, acetonitrile extraction was performed to separate PB and the coating.

A relationship between injected amount and peak height was linear in the range of 2.5—10 μ g of PB.

(Received May 31, 1976)

緒 言

臭化プロパンテリンは消化性潰瘍の治療薬として使用されている。日局八では定量法に非水滴定法が用いられているが¹⁾、ほかにスルホフタレイン系色素を用いる比色法²⁾、臭素を測定する方法³⁾などがある。

著者らは昭和 50 年度一斉収去にあたり、ある種の製剤で錠剤に被膜成分 (2-methyl-5-vinyl pyridine methyl acrylate methacrylic acid copolymer : MPM-47) を添加されているために非水滴定の過塩素酸を過剰に消費し、日局八の定量法を適用することが出来なかった。そこで抽出溶媒にアセトニトリルを用い、MPM-47 を除去して非水滴定をおこなった。また簡便かつ迅速な定量法として高速液体クロマトグラフィーによる定量法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試料、試薬および装置

臭化プロパンテリン (PB) および錠 (15 mg 錠) : 日本薬局方品

錠剤の被膜成分 : 2-Methyl-5-vinyl pyridine methyl acrylate methacrylic acid copolymer (MPM-47)

クロロホルム、アセトニトリルは試薬特級品を精製して用いた。

Diisopropyl aminoethanol methyl bromide (DAM) : Robinson の方法⁵⁾にしたがい合成した。

Xanthene-9-carboxylic acid (XCA) : 日局八の方

法⁴⁾にしたがい調製した。

紫外線吸収スペクトルは日立二波長自記分光光度計 556 型を使用した。

高速液体クロマトグラフ装置は UV (254 nm) 検出器付日本分光 FLC-100 型を使用した。

2. 実験操作

日局八「臭化プロパンテリン錠」の定量法 : 本品 20 個以上をとり、その重量を精密に量り、粉末とする。PB 約 0.5 g に対応する量を精密に量り、クロロホルム 30, 10, 10 ml で抽出し、溶媒を留去したのち、残留物に非水滴定用氷酢酸 20 ml および非水滴定用酢酸第二水銀試液 20 ml を加えて溶かし、0.05 N 過塩素酸液で滴定する。

別法 : 本品 20 個以上をとり、その重量を精密に量り、粉末とする。PB 約 0.5 g に対応する量を精密に量り、アセトニトリル 30, 10, 10 ml で抽出し、溶媒を留去したのち、残留物を日局八「臭化プロパンテリン錠」の定量法に従い非水滴定する。

高速液体クロマトグラフ法 (HSLC) : 錠剤の PB 約 15 mg に対応する量を精密に量り、アセトニトリル 5, 2, 2 ml で抽出し、アセトニトリルを加え正確に 10 ml とし、試料溶液とする。この液を 5 μ l 注入し、絶対検量線法により定量した。実験条件は JASCO-OPACK SV-02 カラム (2.1 mm \times 500 mm) を用い、流速 1.5 ml/min, カラム圧 50 kg/cm², 溶出溶媒にアセトニトリルを用いた。

結果と考察

定量結果を Table 1 に示す。

Table 1. Determination of propantheline bromide in tablets

Method	Determination value (%)	
	Propantheline bromide	MPM
J. P. VIII*	134.0	—
Modified J. P. VIII*	103.9	31.9
High-speed liquid chromatography**	99.7	—

* Value determined by non-aqueous titration

** Value determined by absorbance at 254 nm

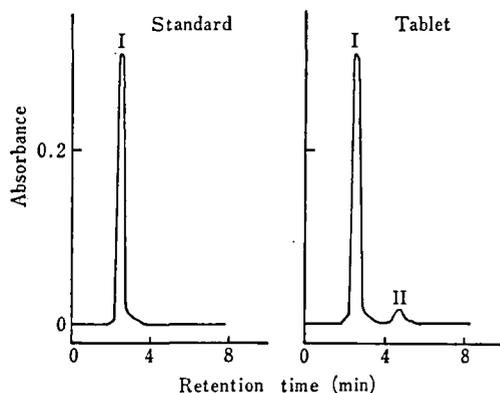


Fig. 1. Chromatogram of standard and tablet of propantheline bromide

column JASCO PACK SV-02-500
 2.1 mm × 500 mm
 eluent acetonitrile
 column pressure 50 kg/cm²
 detector UV (254 nm)
 sensitivity 0.32 AUFS
 chart speed 5 mm/min
 I : Propantheline bromide
 II : Xanthene-9-carboxylic acid

日局八では抽出溶媒としてクロロホルムを用いるため被膜成分である MPM-47 が同時に抽出され、滴定量が過剰となる。そこで抽出溶媒としてアセトニトリルを用いたところ、MPM-47 は抽出されず、PB が定量的に抽出されることから、別法によって非水滴定をおこなった。定量値は 103.9% で、MPM-47 を添加する前の粗錠の値 101.6% に比して少し高い値を示した。なお錠剤の MPM-47 含量は別法によってえられたアセトニトリル抽出後の残渣をクロロホルムで抽出し、溶媒留去後の残留物について非水滴定をおこない、Table 1 にその結果を示す。

HSLC では PB のクロロホルム抽出液を注入すると、溶出溶媒のアセトニトリルによりカラム中で MPM-47 が析出し、目づまりによって良好なクロマ

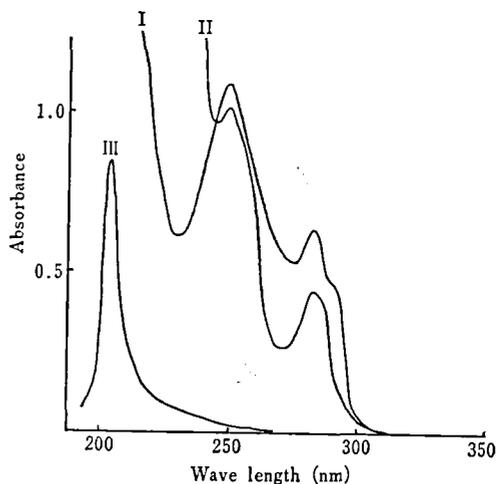


Fig. 3. Absorption spectra of propantheline bromide, xanthene-9-carboxylic acid and diisopropyl aminoethanol methyl bromide

I : Xanthene-9-carboxylic acid
 50 μg/ml in MeOH
 II : Propantheline bromide
 75 μg/ml in MeOH
 III : Diisopropyl aminoethanol methyl bromide
 25 μg/ml in MeOH

トグラムが得られず、アセトニトリル抽出法を用いて良好な結果をえた。

PB はしばしば加水分解し、DAM と XCA を生成すること^{3,6)} が知られているが、PB のアセトニトリル試料溶液につき HSLC を適用したところ、Fig. 1 の Standard に示すように単一ピークがえられ、分解されずに微量定量化を可能にした。ピーク高による検量線は Fig. 2 に示すように 2.5~10 μg の範囲で直線性を示した。加水分解物である DAM は Fig. 3 に示すように吸収極大波長が 205 nm で、254 nm に吸収はなく、PB の定量値におよぼす影響は無視しうる。また XCA は Fig. 1 に示すように PB とはク

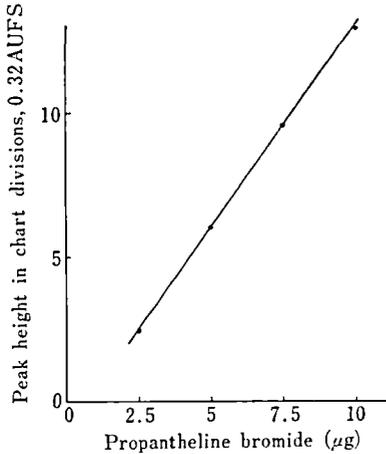


Fig. 2. Calibration curve for propantheline bromide by high-speed liquid chromatography

ロマトグラム上で分離溶出されるため、定量値に影響をおよぼさない。

なお PB 錠は一錠中の含有量が 50 mg 以下であり、USP XIX に含量均一性試験法が記載されているが、MPM-47 を用いた錠剤では妨害される。したが

って HSLC は含量均一性試験に適応した分析法であると考えられる。

結 語

日局八「臭化プロパンテリン錠」の定量法を妨害する被膜成分の MPM-47 を用いた錠剤にあっては、MPM-47 を除去するためにアセトニトリル抽出をおこなったのち、簡便かつ迅速な分析法として、HSLC を用いて定量した。検量線は PB 2.5~10 μg の範囲で直線性がえられ、注入量は 7.5 μg で定量しえた。

文 献

- 1) 第八改正日本薬局方第一部, p. 359 (厚生省) (1971)
- 2) 野上寿, 堀岡正義, 加藤百合子, 長谷川淳, 松岡兌, 栗津荘司: 薬理学, **19**, 162 (1959)
- 3) 堀岡正義, 青山敏信: 厚生科学研究報告, 昭和46年度, p. 389.
- 4) 第七改正日本薬局方第一部, p. 333 (厚生省) (1961)
- 5) Richard. A. Robinson: *J. Org. Chem.* **16**, 1911 (1951)
- 6) 第八改正日本薬局方第一部解説書, p. 902 (1971), 広川書店

ギトキシンの比色定量

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

Colorimetric Determination for Gitoxin

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was established that gitoxin was colorimetrically determined with the mixture of hydrochloric acid-propylene glycol (2:1) at 358 nm. By using of the above method, the content per cent of gitoxin was determined against the British Pharmacopoeia Standard "Gitoxin Standard". It was found that the absorbance at 473 nm was increased in propotion to the added concentration of hydrochloric acid. Also, it was clair that the addition of propylene glycol gave the decrease of the absorbance at 473 nm.

(Received May 31, 1976)

1. 緒 言

ギトキシンは、*Digitalis purpurea* 葉および *Digitalis lanata* 葉中に含有される強心配糖体の一種であるが、医薬品として使用されていない。第九改正日本薬局方では、ジゴキシンの純度試験¹⁾に用いる標準品と

して使用されており、ギトキシンの定量法としては、前述のジゴキシンの純度試験に用いられているけい光定量法¹⁾および高速液体クロマトグラフを用いる方法²⁾がある。

著者らは、ギトキシンの標準品の製造に当り、ギトキシンの定量法として使用する比色定量法の検討を行

ない、新知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1. 装置

日立 EPS-3T 型自記分光光度計および日立 139 型分光光度計を用いた。

2.2. 試薬および試料

英国薬局方ギトキシン標準品、日本薬局方ギトキシン標準品 (Control No. 622) および市販のギトキシン標準品原料を用いた。

試薬は、全て特級品を用いた。

試料原液：ギトキシンを 105° で 1 時間減圧乾燥した後、約 20 mg を精密に量り、メタノール・クロロホルム混液 (1:2) 50 ml に溶解し、試料原液とする。

試料溶液：試料原液の一定量を正確に量り、メタノール・クロロホルム混液 (1:2) を加えて、1 ml 中にギトキシン 10~60 μg を含むようにする。

2.3. 定量操作

試料溶液 5 ml を正確に量り、30 ml の三角フラスコに入れ、水浴上で空気を送りながら過熱をさせて蒸発乾固する。塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) 10 ml を正確に加え、残留物を溶解する。30° でしばしば振り混ぜながら 30 分間放置する。ここに得た液につき、塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) を対照に、波長 358 nm における吸光度を測定する。

3. 実験結果および考察

3.1. 吸収スペクトル

塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) を用いたときのギトキシンの発色物質の吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

Fig. 1 より、ギトキシンの発色物質の吸収極大波長 (λ_{max}) は 358 nm であることがわかった。こ

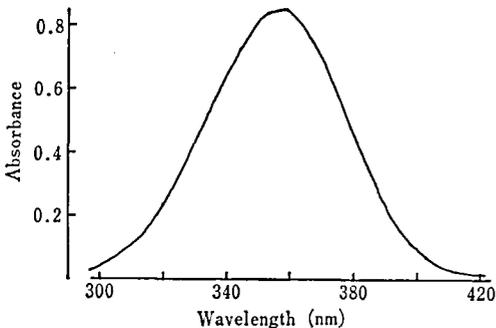


Fig. 1. Absorption spectrum of colored solution obtained from Gitoxin

には示さないが、この発色物質は発けい光性物質であり、励起波長 358 nm およびけい光波長 462 nm に極大波長を有する。

3.2. 定量条件の検討

試料溶液 (20 μg/ml) 5 ml を用い、測定波長として 358 nm を用いたときの検討結果を以下に示す。

3.2.1. 塩酸・プロピレングリコール混液

塩酸・プロピレングリコール混液として、塩酸のみ、塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) および (1:1) の三種の溶液を用いたときの吸光度と時間の関係を調べた。その結果を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 より、塩酸濃度が高くなるに従い、一定の吸光度に達する時間が早くなり、かつ、吸光度も大きくなる。また、Fig. 2 には示してないが、塩酸濃度が高くなるにしたがい、473 nm の吸収が大きくなるということがわかった。そこで、塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1)、(3:1) および (5:1) の三種の溶液を用い、反応 30 分後での 358 nm および 473 nm での吸光度の測定を行なった。その結果を Table. 1 に示す。

Table 1 より、塩酸濃度の増加にともない、473 nm の吸光度が著しく増加することがわかった。以上の結果より、使用する塩酸・プロピレングリコール混液の混合割合として (2:1) のもの 10 ml を用いることにした。

3.2.2. プロピレングリコールの影響

塩酸・水混液 (2:1)、塩酸のみ、および塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) の三種の溶液について、反応 30 分後の 358 nm および 473 nm での吸光度の測定を行なった。その結果を Table. 2 に示す。

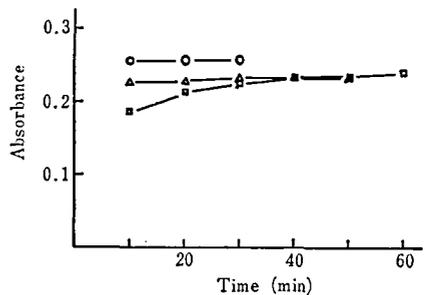


Fig. 2. Effect of the mixture of hydrochloric acid · propylene glycol at 358 nm
 —□—: hydrochloric acid · propylene glycol (1:1)
 —△—: // (2:1)
 —○—: hydrochloric acid

Table 1. Effect of the mixture of hydrochloric acid • propylene glycol at 358 nm and 473 nm

	Abs. at 358 nm	Abs. at 473 nm
A	0.227	0.03
B	0.225	0.093
C	0.237	0.215

A : hydrochloric acid • propylene glycol (2 : 1)

B : hydrochloric acid • propylene glycol (3 : 1)

C : hydrochloric acid • propylene glycol (5 : 1)

Table 2. Effect of propylene glycol at 358 nm and 473 nm

	Abs. at 358 nm	Abs. at 473 nm
A	0.211	0.120
B	0.255	0.275
C	0.227	0.03

A : hydrochloric acid • water (2 : 1)

B : hydrochloric acid

C : hydrochloric acid • propylene glycol (2 : 1)

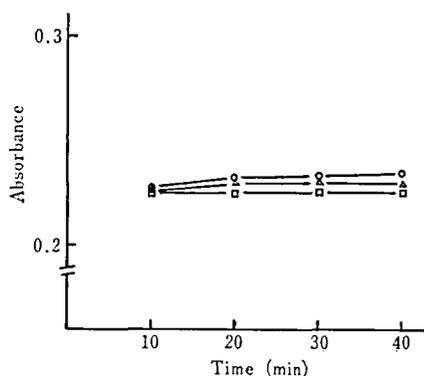


Fig. 3. Effect of reaction temperature
—□—: 30°, —△—: 40°, —○—: 50°

Table 2 より, プロピレングリコールの添加により, 473 nm に λ_{max} を持つ発色物質の生成が押えられることがわかった。

3.2.3. 反応温度

塩酸・プロピレングリコール混液 (2 : 1) を用い, 30°, 40° および 50° での 358 nm における吸光度と時間の関係を調べた。その結果を Fig. 3 に示す。

Fig. 3 より, 塩酸・プロピレングリコール混液 (2 : 1) を用い, 30° で 30 分間反応させることにした。

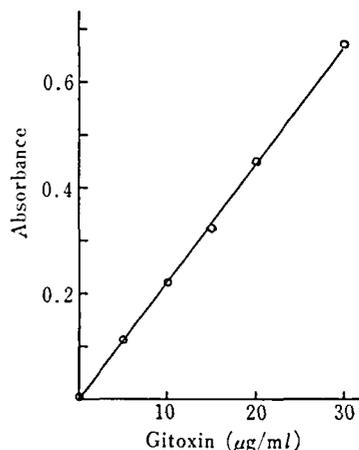


Fig. 4. Calibration curve for Gitoxin at 358 nm

また, 反応温度が上がるにしたがい, 473 nm での吸光度が上昇するのがわかった。

3.2.4. 再現性

Gitoxin の試料溶液 (30 $\mu\text{g/ml}$) 5 ml を用い, 2.3 の定量操作にしたがい, 5 回の繰り返し実験を行なったところ, 5 回の吸光度の平均値は 0.322, 変動係数は 4.3% であった。

3.2.5. 検量線

Gitoxin の試料溶液 (0~60 $\mu\text{g/ml}$) 5 ml を用い, 2.3 の定量操作にしたがい, 検量線の作成を行なった。その結果を, 塩酸・プロピレングリコール混液 (2 : 1) 1 ml 中の Gitoxin として Fig. 4 に示す。

Fig. 4 より, Gitoxin 0~30 $\mu\text{g/ml}$ の範囲においてベールの法則が成立することがわかった。

4. Gitoxin 標準品原料への応用

4.1. 定量操作

Gitoxin 標準品原料および英国薬局方 Gitoxin 標準品を 105° で 1 時間減圧乾燥し, その約 15 mg を精密に量り, メタノール・クロロホルム混液 (1 : 2) を加えて正確に 50 ml とする。この液 5 ml を正確に量り, メタノール・クロロホルム混液 (1 : 2) を加えて正確に 50 ml とし, 試料溶液および標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 5 ml ずつを正確に量り, それぞれ別の 30 ml の三角フラスコに入れる。水浴上で空気を送りながら過熱をさけて蒸発乾固する。次に, 塩酸・プロピレングリコール混液 (2 : 1) 10 ml を正確にそれぞれの三角フラスコに加え, 残留物を溶解させる。しばしば振り混ぜながら 30° で 30

Table 3. The content per cents of gitoxin in the British pharmacopoeia Standard (BP), the Japanese Pharmacopoeia Standard (JP), and the material

	content per cent
BP	100.0
JP	99.0
material	98.6

分間放置する。ここに得た液につき、塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) を対照として、波長 358 nm における吸光度 A_T および A_S を測定する。

ギトキシンの量 (mg) = 標準品の量 (mg) $\times A_T/A_S$

4.2. 測定結果

4.1 の定量操作に従い、英国薬局方ギトキシン標準品を 100.0% としたときの日本薬局方標準品および

標準品原料の測定結果を Table 3 に示す。

結 語

1. ギトキシンを塩酸・プロピレングリコール混液 (2:1) を用いて比色定量する方法を確立し、この方法をギトキシン標準品原料の定量に応用した。
2. 塩酸濃度の増加にともない、473 nm に吸収極大波長を有する発色物質が著しく増加することがわかった。
3. プロピレングリコールの添加により、473 nm に吸収極大を有する発色物質の生成がおさえられることがわかった。

文 献

- 1) 第九改正日本薬局方, p. 325 (1976)
- 2) 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: 医薬品研究, 7, 10 (1976)

牛乳中の放射性ヨウ素分析法のための基礎実験について

亀谷勝昭・河上一美

Foundamental Experiment for Analysis of Radioiodine in Milk

Katsuaki KAMETANI and Hitomi KAWAKAMI

For the purpose of the analysis of radioiodine in milk, the chemical recovery of carrier iodine in the sample was investigated by the ashing method and the ionexchange method. The chemical recovery of iodine added to 500 ml of milk was 62~82% by the ashing method, and 93% by the ionexchange method. From the results, the latter method was more excellent than the former. However, using 10 ml of anion-exchange resin, the limit of the volume of milk sample was about 500 ml.

(Received May 31, 1976)

緒 言

環境試料中の放射性ヨウ素の分析法については多くの報告があるが、多量の牛乳中の放射性ヨウ素の分析法を検討した報告は少ない¹⁾。最近、原子炉施設周辺における環境放射線量の低減化の規制²⁾ (甲状腺に対して 15 mrem/y) にともない、山県らは牛乳中の放射性ヨウ素 131 の濃度を成人に対しては 110 pCi/l, 幼児に対しては 9 pCi/l, 乳児に対しては 2 pCi/l 以下に保つべきであると報告している³⁾。

本報では、これらのレベルの放射性ヨウ素の分析法を確立するための基礎実験として、比較的多量の牛乳にヨウ素の担体を加え、灰化法あるいはイオン交換樹脂法を行なってヨウ素担体の回収率を求め、その結果から灰化法あるいはイオン交換樹脂法が、微量放射性ヨウ素の分析法に応用し得るか否かを検討した。以下にその結果を報告する。

実 験

1. 試薬

1) ヨウ素担体溶液: NaI 1.181 g を水にとかして 100 ml とする。この溶液 1 ml はヨウ素 10 mg を含む。

2) 5% 亜硫酸水素ナトリウム溶液: NaHSO_3 5 g を水にとかして 100 ml とする。この溶液は使用時に調製する。

3) 10% 亜硝酸ナトリウム溶液: NaNO_2 10 g を水にとかして 100 ml とする。この溶液は使用時に調製する。

4) 四塩化炭素: 試薬特級品をそのまま使用する。

5) 1 M 塩化ナトリウム溶液: NaCl 58.5 g を水にとかして 1000 ml とする。

6) 1 M 過塩素酸ナトリウム溶液: NaClO_4 122.5 g を水にとかして 1000 ml とする。

7) 1% 硝酸銀溶液: AgNO_3 1 g を水にとかして 100 ml とする。

8) イオン交換樹脂カラム: Dowex 1×8 Cl 型, 50~100 メッシュの 10 ml を内径 1.5 cm, 高さ 20 cm のクロマトグラフィー用カラムにつめる。使用に先だって, N HCl 50 ml, 水 50 ml を順次に通して精製する。

2. 分析法

1) 灰化法: 牛乳 500 ml を磁製蒸発皿にとり, ヨウ素担体溶液 1 ml および炭酸ナトリウム 1 g を加えて赤外線ランプのもとで蒸発乾固する。この乾固物をガスバーナーで徐々に加熱し炭化させる。さらに電気炉中 500° 以下で白色となるまで灰化する。灰分をビーカーに移し, 水 100 ml, HNO_3 (1+1) 10 ml および 5% 亜硫酸水素ナトリウム溶液 5 ml を加えて加熱溶解する。不溶物があればろ過する。ろ液は冷却して分液ロートに移す。この溶液に 10% 亜硝酸ナトリウム溶液 2 ml および四塩化炭素 30 ml を加え, 2 分間振盪してヨウ素を抽出する。ヨウ素を抽出した四塩化炭素層を別の分液ロートに移す。水層に再び 10% 亜硝酸ナトリウム溶液 1 ml および四塩化炭素 30 ml を加え, 残ったヨウ素を 2 分間振盪して抽出する。この四塩化炭素層を前の四塩化炭素層に合せる。この合せた四塩化炭素層に水 20 ml, 5% 亜硫酸水素ナトリウム溶液 2 ml を加え, 2 分間振盪してヨウ素を水層に逆抽出する。四塩化炭素層を除いたのち, 水層を綿をつめたロートでろ過し, 100 ml のビーカーに移す。分液ロートを水 20 ml で洗い, 洗液もロートを通してビーカーに移す。この溶液に濃アンモニア水 2 ml および 1% 硝酸銀溶液 1 ml を加え, ヨウ化銀を生成させ, 重量既知のミリポアフィルターをはさんだろ過棒でろ過する。沈殿およびミリポアフィルターを 1%

アンモニア水 20 ml および水 20 ml で順次洗い, 乾燥したのち沈殿およびミリポアフィルターの重量を測定して, ヨウ化銀の重量を求め, さらに計算によってヨウ素の回収率を求める。

2) イオン交換樹脂法: 牛乳 500 ml にヨウ素担体溶液 1 ml を加え, 1 時間攪拌する。この牛乳をイオン交換樹脂カラムに 20 ml/min の速度で通す。つぎに 50° の温水 500 ml, さらに 1 M 塩化ナトリウム溶液 100 ml を同じ速度で通す。いずれの洗液もすてる。ついで 1 M 過塩素酸ナトリウム溶液 120 ml に 1 N NaOH 溶液 2 ml および 5% 亜硫酸水素ナトリウム溶液 1 ml を加えた混液を溶離液として 2 ml/min の速度で通す。この溶離した溶液を分液ロートに移し, HNO_3 (1+1) 10 ml, 10% 亜硝酸ナトリウム溶液 2 ml および四塩化炭素 30 ml を加え, 2 分間振盪してヨウ素を四塩化炭素層に抽出する。ヨウ素を抽出した四塩化炭素層を別の分液ロートに移す。水層に再び 10% 亜硝酸ナトリウム溶液 1 ml および四塩化炭素 30 ml を加え, 2 分間振盪して残ったヨウ素を抽出する。この四塩化炭素層を前の四塩化炭素層に合せ, 以下灰化法のヨウ素の逆抽出の操作以下にしたがってヨウ素を定量する。

結 果

市販の牛乳 500 ml にヨウ素担体溶液 1 ml を加え, 灰化法およびイオン交換樹脂法を行なってヨウ素の回収率を求めた。その結果は Table 1 および Table 2 の通りである。ただし, 添加したヨウ素担体溶液中のヨウ素含量はヨウ素担体溶液 1 ml に水 40 ml, 濃アンモニア水 2 ml および 1% 硝酸銀溶液 1 ml を加えてヨウ化銀を生成させ, その沈殿の重量からその値を求めた。

考 察

牛乳中のヨウ素はほとんど無機イオンとして存在す

Table 1. Chemical recovery of iodine separated from 500 ml of milk by the ashing method

Taken iodine (mg)	Found iodine (mg)	Recovery (%)
9.68	7.76	80.2
"	7.18	74.2
"	7.97	82.3
"	6.64	71.7
"	6.01	62.1

Table 2. Chemical recovery of iodine separated from 500 ml of milk by the ionexchange method

Taken iodine (mg)	Found iodine (mg)	Recovery (%)
9.68	9.10	94.0
"	9.02	93.2
"	8.93	92.2

るので^{4,5)}、牛乳中の放射性ヨウ素の定量法としては、牛乳を濃縮灰化したのち、その灰分についてヨウ素を分離定量する方法あるいはイオン交換樹脂に牛乳中のヨウ素を一旦吸着させたのち、アンチホルミン¹⁾または過塩素酸ナトリウム⁶⁾で溶離して、この溶離液からヨウ素を分離定量する方法が考えられる。

本報では、灰化法とイオン交換樹脂法とどちらが放射性ヨウ素の分析法として適しているかを、ヨウ素担体のみを用いて多量の牛乳からその分析法を検討した。すなわち、灰化法ではあらかじめ牛乳を濃縮する以前に炭酸ナトリウム 1g を加えて、灰化時におけるヨウ素の揮散を防御して灰化法の実験操作を行ないヨウ素の回収率を求めた。その結果は Table 1 の通りで、ヨウ素の回収率は 62~83% を示し、やや変動する値を示した。

一方 Gabay¹⁾ らおよび岩島⁶⁾ らの方法を参考としたイオン交換樹脂法の場合では、ヨウ素の回収率は、Table 2 に示すように、平均 93% の値を示し、ほぼ一定の値を示した。したがって、灰化法の場合よりもイオン交換樹脂法の方がヨウ素の分析法としてはすぐれているが、牛乳量をさらに増加した場合を検討すると、イオン交換樹脂容量を 10 ml と一定にした場合、その回収率は Fig. 1 に示すように徐々に低下し、1500 ml の場合では、添加量の約 50% しか回収することができなかった。

一方多量の牛乳からのヨウ素の回収率を上昇させるために、イオン交換樹脂容量を増加させることも考えられるが、10 ml のイオン交換樹脂容量からのヨウ素 (10 mg) の溶離は、Fig. 2 に示すように 1 M 過塩素酸ナトリウム溶液の場合 120 ml を必要とするので、イオン交換樹脂容量を増加する場合には、過塩素酸ナトリウム溶液の増量かあるいはその濃度をさらに増加しなければならないであろう。以上、灰化法とイオン交換樹脂法とを比較した結果、灰化法よりもイオン交換樹脂法の方が安定した回収率を示し、多量の牛乳からの放射性ヨウ素の分離定量の目的には、イオン交換樹脂法を応用した方がすぐれていると考えられた。

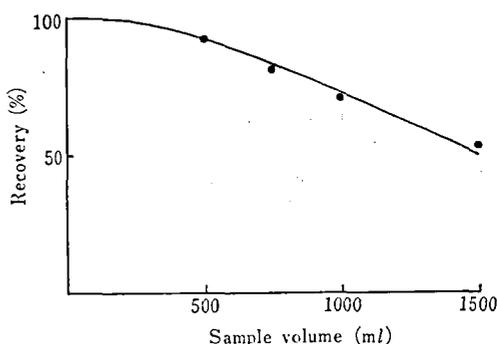


Fig. 1. Recovery of 10 mg of iodine added to milk by the use of 10 ml of anion exchange resin (Dowex 1×8 Cl type 50~100 mesh)

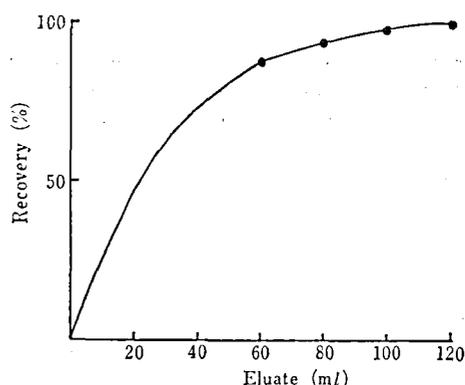


Fig. 2. Separation of iodine absorbed to the column of 10 ml of anion exchange resin

Column: 10 ml of Dowex 1×8 Cl type 50~100 mesh

Eluant: Mixture of 1 M sodium perchlorate solution, 2 ml of 1 M sodium hydroxide solution and 1 ml of 5% sodium bisulfite solution

結 語

牛乳 500 ml に安定ヨウ素を加え、灰化法およびイオン交換樹脂法を行ないその回収率から微量放射性ヨウ素の分析法を検討した。その結果、イオン交換樹脂法では、ヨウ素の回収率が 93% と、ほぼ一定の値を示し、灰化法よりもすぐれていることが明らかとなった。しかし、イオン交換樹脂容量を 10 ml とした場合、分析に用いられる牛乳の容量は、500 ml が限度で、1500 ml を使用した場合には、その回収率は約 50% と低下した。

文 献

- 1) J. J. Gabay, C. J. Paperiells, S. Goodyear, J. C. Daly, J. M. Matuzek : *Health physics*, 26, 89 (1974)
- 2) 原子力委員会, 環境・安全専門部会 : 環境・安全専門部会報告書, 昭和 49 年 7 月; 原子力委員会発電用軽水型原子炉施設周辺の線量目標値

に関する指針について

- 3) 山県 登 : 放射線被曝線量の評価に関する研究, 厚 (放) 資料第 5 号, 昭和 50 年 3 月
- 4) R. F. Glascock : *J. Dairy Res.*, 21, 318 (1954)
- 5) G. K. Murthy, J. E. Gilchrist, J. E. Campbell : *J. Dairy Sci.*, 45, 1066 (1962)
- 6) K. Iwashima, N. Yamagata : *Bull. Inst. Publ. Health*, 13, 126 (1964)

Detection and Determination of Sorbic Acid in Dried Fig

Masahiro IWAIDA, Yoshio ITO, Masatake TOYODA and Takako KANAMORI

The prepared homogenate of dried fig was made acidic and extracted with ether, from ether extract sorbate was removed into methanolic potash, then the alkaline layer was extracted again with ether. After evaporation, the residue was dissolved in acetone and injected into an FID gas chromatograph fitted with a column packed with 5% DEGS+1% H₃PO₄. Gas chromatography of methyl ester was also carried out by use of 3% SE-30 column. The presence of about 5.7 ppm of sorbic acid was confirmed.

(Received May 31, 1976)

Sorbic acid is a kind of fatty acid having conjugated double bond in its skeleton. Sorbic acid and/or sorbate is widely used as a food preservative. In Japan, however, the use of sorbic acid and/or potassium sorbate is allowed for 24 kinds of foods within the permitted level prescribed for each food.

In February, 1976, dried fig which was suspected to have been either added or contaminated with sorbate, was imported from the United States through Kobe Harbor. Sorbic acid and/or sorbate is not allowed to use on dried figs in Japan. Accordingly, a pursuit of sorbate was carried out in our laboratory.

1. Reagents

a; salting out solution: 200 g of sodium chloride and 33 g of anhydrous sodium acetate were dissolved in water, then made up to 1000 ml.

b; methanolic potash: Prepared by dissolving 2.2 g of potassium hydroxide into 100 ml of 50% methanol.

2. Extraction of sorbate

90 ml of salting out solution was added to 10 g of sample, the mixture was then subjected to

homogenization. After the addition of 1 ml of 20% sulfuric acid to the homogenate for the adjustment of pH around 1, the homogenate was extracted twice with each 100 ml of ether, then the two layers were combined together and, after being washed with 30 ml of salting out solution, extracted twice with 25 ml of methanolic potash. The combined alkaline layer was diluted with twice as much volume of water, acidified with 20% H₂SO₄, then reextracted with 140 ml of ether. After emulsion broke, the lower layer was discarded, anhydrous sodium sulfate was added to the upper layer, and was decanted through rapid folded paper.

After almost complete evaporation of ether, the residue was made up to 1 ml with acetone and was subjected for the gas chromatographic determination.

Conditions for gas chromatography are as shown in Table 1.

Gas chromatography of the sorbic acid was carried out in free form on 5% DEGS+1% H₃PO₄ column, and then the acid was methylated with diazomethane by the method already adopted on

Table 1. Techniques for gas chromatography

Column packing	5% DEGS+1% H ₃ PO ₃	3% SE-30
Column temperature (°C)	144	58
Injection port temperature (°C)	230	200
Sensitivity	$1/2 \times 10^{-1} \sim 1 \times 10^{-2}$	$1/8 \times 10^{-1} \sim 1/4 \times 10^{-2}$
Carrier gas (N ₂) flow rate (ml/min)	25	25

Note. Gas chromatograph, Yanaco G-80 FID; column 4 mm×2 m, support, Chromosorb G

Table 2. Sorbic acid content in dried fig

Column packing	5% DEGS+1% H ₃ PO ₄	3% SE-30
Sorbic acid content (ppm)	5.7	5.0
Recovery of sorbic acid from dried fig spiked at the level of 200 ppm (%)	97.4	96.5
Recovery of sorbic acid from dried fig spiked at the level of 20 ppm	93.7	93.0
Detection limit (ppm)	1	1

the gas chromatography of saccharin¹⁾. The prepared methyl ester was analyzed on 3% SE-30 column in the next time. The results obtained are shown in Table 2. It was confirmed that about 5.7 ppm of sorbic acid was present in the

dried fig.

References

- 1) Y. Ito, Y. Tonogai, M. Iwaida: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 17, 89 (1976)

2,6-ジクロロキノクロイミドを使用するかんきつ中の o-フェニルフェノールの簡易測定法の改良

慶田雅洋・伊藤蒼志男・豊田正武

Improvements in the Simplified Method for the Detection of o-Phenylphenol (OPP) in Citrus Fruits by Use of 2,6-Dichloroquinonechloroimide

Masahiro IWAIDA, Yoshio ITO and Masatake TOYODA

Reexaminations were carried out on the official provisional procedure for a rapid and simple inspection of OPP in citrus fruits at the import ports and air ports by use of 2,6-dichloro-quinonechloroimide. From the results, it became clear that the intensity of blue color developed was affected, more or less, by the kind of citrus fruits on which the inspection was carried out.

The finally established standard for judgement was as follows.

0.5 ppm of OPP in lemon is equivalent to 1.8% of copper sulfate solution.

0.5 ppm of OPP in grapefruit is equivalent to 1.4% of copper sulfate solution.

0.5 ppm of OPP in orange is equivalent to 0.42% of copper sulfate solution.

Color development is strongly affected by some constituents in orange. In case more than 0.5 ppm of OPP is present in the fruit, it is judged to have been intentionally treated with OPP.

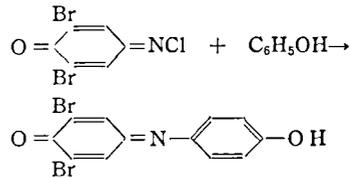
(Received May 31, 1976)

わが国では 1971 年にかんきつの保存料として、レモン、オレンジ類およびグレープフルーツについて、ジフェニル (DP) のみが残存量 70 ppm の範囲内で使用が許可された。しかし、これらのかんきつのわが国への最大輸出国であるアメリカではジフェニルのほかに *Oidium* 属 (*Oospora* 属ともいう、不完全菌の 1 種) に対する保存料として o-フェニルフェノール (OPP) の使用も許可されており、広く用いられている。1975 年 4 月から 7 月にかけて神戸港、大阪港および大阪空港を通じて輸入されたかんきつについて、現場で OPP の残留を迅速に検査する必要を生じた。

これまでに、わが国ではかんきつ中の OPP の定量法としては、精油定量器を用いる DP の試験法に準拠した OPP の暫定的検査法¹⁾ および著者ら²⁾ のアルミナカラムにより 3 種の溶離液を用いてクлинаップを行った後、FID または FPD 付きガスクロマトグラフにより、DP、OPP およびチアベンダゾールを系統的に試験する方法がある。しかしながらこれらの方法では膨しい数の検体を処理することは不可能である。

2,6-ジプロモキノクロイミド (BQC; Gibbs 試薬とも呼ばれる) はアルカリ性でフェノールと反応して青色の化合物を生ずることが Kay と Graham³⁾ によって 1933 年に報告されている。フェニルリン酸二ナトリウムよりホスファターゼによって遊離されるフェノールを本法により測定し、牛乳中のホスファター

ゼ活性の残留を知ることによって牛乳の加熱度を鑑別する方法として開発され⁴⁾、アメリカでは公定法として採用されている⁵⁾。



厚生省食品衛生課では昭和 50 年 5 月に“2,6-ジクロロキノクロイミドを使用するかんきつ中の OPP の簡易検出法”を作製し、輸入海空港の食品衛生監視員事務所に通知した。その内容は青色の呈色度を硫酸銅溶液と比較するものであり、参考資料として、精油定量器を用いる方法との比較データが附されている (Table 1 参照)。ホスファターゼ試験の結果と比較すると、OPP と 2,6-ジクロロキノクロイミドとの反応は次式によるものと推定される。

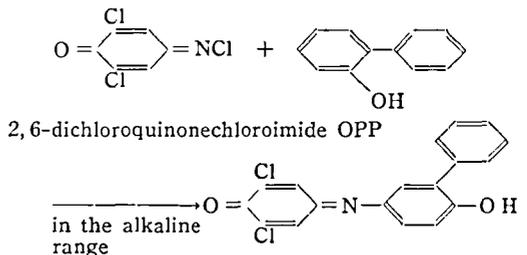
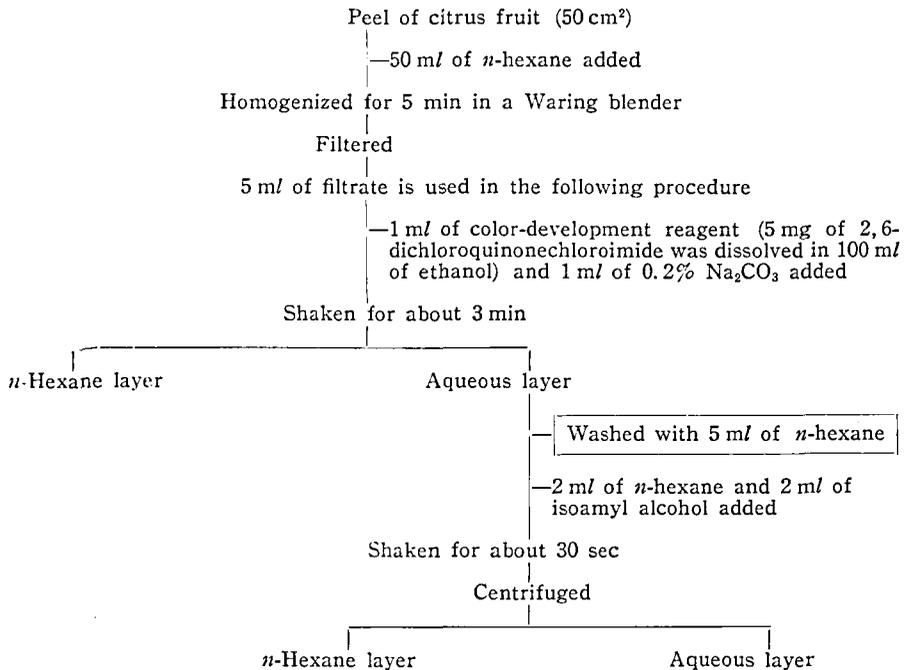


Table 1. Comparison between the quantitative analysis and the rapid detection method of *o*-phenylphenol in peels of citrus fruits

	Quantitative analysis ¹⁾ (ppm)	Concentration of color developed by the reaction with 2, 6-dichloroquinonechloro- imide (expressed as % of copper sulfate)
	Not detected	<0.4
Lemon	1.3	0.8
	1.7	1.3
Orange	1.8	2.4
Grapefruit	2.4	2.4

Note. The data were attached to the proposed procedure shown in Scheme 1, and will be surveyed, hereafter, in our experiments in detail.



Compare the blue color developed with the color intensity of copper sulfate solution. In case the color intensity of the sample is deeper than that of corresponding copper sulfate solution, the sample is judged to contain more than 0.5 ppm of OPP.

Scheme 1. An improved procedure for the detection of *o*-phenylphenol in citrus fruits

著者らは阪神地区の厚生省食品衛生監視員事務所に協力して通達法 (Scheme 1 の □ 内に示した操作を除く) について検討したところ, 2, 3 の改良を行なう必要を感じたのでこれらについての検討結果, 輸入かんきつ中の OPP の簡易検出法として使用しようという見通しを得たので, ここに報告する。

実験方法

1) OPP の簡易検出操作: 通達法に従って行なった。ただしレモンおよびグレープフルーツは果皮が硬いため, ガラス棒でつぶすのは困難であり, ホモジナイザーを用いて5分間かき混ぜて調製した。

2) OPP の添加回収率の測定: OPP 50 mg を *n*-ヘキサン 50 ml に溶かし, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度の添加用 OPP

標準溶液を調製した。

各 30 個のグレープフルーツ、レモンおよびオレンジの皮 1 cm^2 の平均重量を測定したところそれぞれ 0.5, 0.35 および 0.32 g であることがわかった。また、別に皮の総果に対する重量比を求めたところ、それぞれ 32, 38 および 32% であった。従って 1 cm^2 の果実重量はグレープフルーツ $(0.50/0.32)=1.56$ (g), レモン $(0.35/0.38)=0.92$ (g), オレンジ $(0.32/0.32)=1$ (g) に相当する。即ち、皮 1 cm^2 に総果中 1 ppm に相当する OPP 量を添加するには、OPP 標準溶液を皮 50 cm^2 に対してグレープフルーツでは $78\ \mu\text{l}$, レモンでは $46\ \mu\text{l}$, オレンジでは $50\ \mu\text{l}$ をマイクロシリンジでそれぞれ注入すればよいことに

なる。

3) OPP の定量に当っては著者ら²⁾の系統的試験法を使用した。

実験結果並びに考察

OPP の検出限界については、総果中 0.5 ppm 以上が検出された場合には OPP が意図的に添加されたものとして不合格とするという非公式な見解が示されていた。従って 0.5 ppm の検体の青色の呈色度がどの程度の濃度の硫酸銅溶液に匹敵するかを明らかにすることが必要である。

1) レモンについての試験結果：27 種の異なる量の OPP を含むレモンについての定量値と簡易法にお

Table 2. Our result of the comparison test between the quantitative analysis and the rapid detection method of *o*-phenylphenol in lemons

No.	Quantitative analysis ²⁾ (ppm)	Concentration of color developed by the reaction with 2,6-dichloroquinonechlorimide (expressed as % of copper sulfate)
1	0.09	0.6
2	0.08	0.4
3	0.12	0.4
4	0.15	0.4
5	0.16	0.6
6	0.18	0.4
7	0.18	0.6
8	0.22	0.6
9	0.26	0.8
10	0.27	1.0
11	0.27	0.8
12	0.28	0.8
13	0.28	1.1
14	0.33	1.2
15	0.35	1.0
16	0.35	1.1
17	0.37	1.0
18	0.38	0.8
19	0.42	1.2
20	0.43	1.2
21	0.43	1.2
22	0.52	2.0
23	0.61	4.0
24	0.68	4.0
25	1.20	6.0
26	1.47	7.0
27	1.94	8.0

Note. Analyses were carried out on peels and expressed as OPP content in whole lemon.

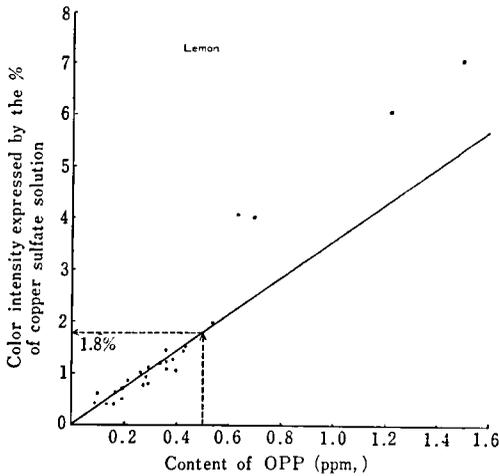


Fig. 1. Relationship between the determination values of OPP and concentrations of color developed by the reaction with 2,6-dichloroquinonechloroimide (expressed as % of copper sulfate) Results carried out on lemons

ける呈色度を比較すると Table 2 に示す通りである。監視員事務所に通知された資料では 0.4% 硫酸銅濃度は OPP 0.5 ppm に相当するとなっているが、Table 2 に示した輸入レモン 27 検体では、そのうち 21 検体は OPP 含量 0.5 ppm 以下であるにもかかわらず硫酸銅溶液相当濃度は 0.4% 以上であることが知られた。そこで、Table 2 のデータを図示し、回帰直線を求めたところ、Fig. 1 に示した結果が得られた。OPP 0.5 ppm のレモンの簡易測定法による呈色度は 1.8% に相当することが知られた。

2) グレープフルーツおよびオレンジの場合：輸入グレープフルーツ 10 検体およびオレンジ 5 検体中の OPP の定量値および簡易試験法による呈色度を比較した結果は Table 3 に示した通りである。しかしながら、厚生省通達法（原法）では、グレープフルーツの皮の赤っぽいものおよびオレンジでは試験溶液の黄色度が強く、青色度の判定は不可能であった。そこで原点に立ちかえて、通達法の操作を再検討してみると、2,6-ジクロロキノクロイミド試液を加えた後、振り混ぜ、上層の黄色の *n*-ヘキサン層をピペットで取り除いてから、水層に *n*-ヘキサンおよび青色移行

Table 3. Our result of the comparison test between the quantitative analysis and the rapid detection method of *o*-phenylphenol in grapefruits and oranges

Citrus fruit	No.	Quantitative analysis (ppm)	Concentration of color developed by the reaction with 2,6-dichloroquinonechloroimide (expressed as % of copper sulfate)		
			Original method*1	Improved method*2	
Grapefruit	Yellow-type	1	0.02	0.4	0.4
		2	0.04	0.5	0.5
		3	0.05	0.3	0.3
		4	0.01	0.4	0.4
		5	0.01	0.3	0.3
		6	0.01	0.3	0.3
		7	0.04	0.4	0.4
	Red-type	8	0.04	Not judged*3	0.4
		9	0.03	Not judged	0.5
		10	0.10	Not judged	0.6
Orange	1	0.06	Not judged	0.1	
	2	0.07	Not judged	0.2	
	3	0.06	Not judged	0.2	
	4	0.07	Not judged	0.2	
	5	0.04	Not judged	0.2	

Note. *1 Carried out by the method shown in Scheme 1

*2 Carried out by our improved procedure shown in Scheme 2

*3 It was impossible to measure the concentration of bluish color developed because the yellowish color based on the eluted carotenoids of peels was too strong

補助剤としてのイソアミルアルコールを加え、振り混ぜていた。しかしながら、赤玉グレープフルーツおよびオレンジの場合、上層の最初の *n*-ヘキサン層をピペットで除去しても、未だ水層に相当量の天然色素が残存している。そこで Scheme 1 の □ 内に示した操作（水層の *n*-ヘキサン洗浄）を追加したところ、黄色物質を完全に除去することができ、赤玉グレープフルーツおよびオレンジでも青色の比較が可能になった。また、同じく Table 3 に示したように、グレープフルーツの No. 1~7 の青色呈色度は通達法と改良法では全く相違は認められず、操作の追加・変更による青色呈色の損失はないことが確められた。念のため Table 2 に示した輸入レモン 27 検体についても Scheme 1 の改良法を適用したところ、通達法による結果と完全に一致したので、以後はすべて Scheme 1 の改良法を使用することに定めた。

3) グレープフルーツおよびオレンジへの OPP の添加実験：Table 3 の実験に用いたオレンジおよびグレープフルーツは昭和 50 年 6 月初旬から中旬にかけて搬入された検体であって、この頃になると 4~5 月の OPP レモン騒動も一段落し、0.5 ppm 以上の OPP を含む検体入手することができなかつたので、添加実験を行なって呈色度を比較した。その結果は Fig. 2 に示す通りである。グレープフルーツは普通のものと同赤玉に分け、Table 3 の検体 3 と 8 を使用した。オレンジは Table 3 の検体 1 を、レモンは

Table 2 の検体 1 を使用した。グレープフルーツの内皮（果外皮膜）の黄色の普通のものと同赤色のものとの間には有意の差は認められなかつた。しかし、OPP の定量値と簡易法による呈色性との間の関係はかんきつの種類によって明らかな差が認められ、OPP 0.5 ppm に相当する硫酸銅濃度はグレープフルーツでは 1.4%、オレンジでは 0.42%、レモンでは 1.8% であり、レモンについては Fig. 1 の限界濃度と完全に一致した。

簡易法によるオレンジの OPP の呈色度がグレープフルーツおよびレモンにくらべて極めて低いのが特徴的であるが、これはオレンジの皮のある成分が 2,6-ジクロロキノクロイミドによる OPP の呈色を妨害するためと推測される。

結 論

2,6-ジクロロキノクロイミドを使用する OPP の簡易測定法について、厚生省通知の原案に改良を加え、レモン、オレンジおよびグレープフルーツの実用試験法として使用しうる方法を設定した。アルミナカラムクリンアップ・FID または FPD ガスクロマトグラフィーによる系統的試験法による測定成績と比較検討した結果、OPP が不当に使用されたと判定する基準の 0.5 ppm は、簡易試験法ではその呈色度を硫酸銅溶液の濃度で示すとレモンは 1.8%、グレープフルーツは 1.4%、オレンジは 0.42% に相当すること

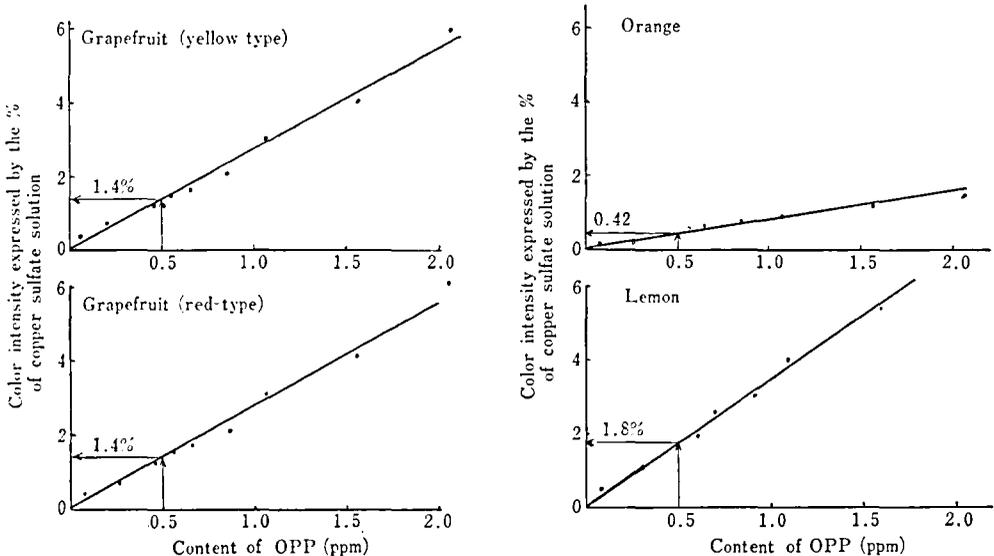


Fig. 2. Relationship between the determination values of OPP and concentrations of color developed by the reaction with 2,6-dichloroquinonechloroimide (expressed as % of copper sulfate) Note. From 0.2 to 2.0 ppm of OPP was added to each citrus fruit.

を明らかにした。オレンジにおける呈色性の低いのは、その中に OPP と 2,6-ジクロロキノクロイミドとの呈色反応を阻害する物質が存在するためであると推定される。

なお、この方法を西日本の厚生省食品衛生監視員事務所で現場検査に適用し、各かんきつについて判定基準以上の呈色を示したものを国立衛生試験所大阪支所で分析した結果、いずれも OPP の定量値は 0.5 ppm 以上であり、簡易測定法の正確性が確かめられた。

文 献

- 1) “かんきつ類のオルトフェニルフェノールの暫定的検査法について”，昭和 50 年 4 月 8 日，

厚生省食品衛生課事務連絡

- 2) 外海泰秀，佐野裕子，伊藤誓志男，慶田雅洋．食衛誌，16，397 (1975)；衛生化学，21，235 (1975)
- 3) H. D. Kay, W. R. Graham Jr. : *J. Dairy Res.*, 5, 54 (1933)
- 4) G. P. Sanders, O. S. Sager : *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.* 28, 656 (1945)
- 5) American Public Health Association : *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 9th Ed., p. 272, 344 (1948) ; Association of Official Analytical Chemists : *Official Methods of Analysis of A. O. A. C.*, 12th Ed., 16. 100-16. 118 (1975)

衣料品店における衣類へのホルムアルデヒドの移染について

小嶋茂雄・中村晃忠・鹿庭正昭・飯田和子・大場琢磨

Formaldehyde-adsorption on Various Wears in the Clothing Shop.

Shigeo KOJIMA, Akitada NAKAMURA, Masaaki KANIWA,
Kazuko IIDA and Takuma ŌBA

Children's wears made of wool, cotton and acrylics were chosen as samples. These samples, either wrapped in polyethylene bag or not, were exposed in the atmosphere of clothing shop. Portions of about 2.5 g were taken from each samples at adequate intervals, and their formaldehyde contents were determined by the method reported previously (S. Kojima and T. Ōba : *Japan Analyst*, 24, 294 (1975)).

The following results were obtained :

- 1) The extent of formaldehyde-adsorption on an unwrapped sample was dependent on material of wears as follows ; wool > cotton > acrylics.
- 2) The extent of formaldehyde-adsorption on an unwrapped sample was much greater in the shop for adult's wears than for children's wears.
- 3) Formaldehyde did not penetrate the wrapping bag.

(Received May 31, 1976)

ま え が き

衣類中の遊離ホルムアルデヒドは、衣類による皮膚障害の主要な原因の一つと考えられる。衣類がホルムアルデヒドを含むのは、主として防しわ、防縮、形態保持などを目的として施される樹脂加工のためである。特に、最もよく用いられる N-メチロール系の樹脂は不安定で、加水分解してホルムアルデヒドを発生し易い。こうしたことから、著者らは前報¹⁾におい

て、N-メチロール系の樹脂で加工した衣類を中心に、衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量法について検討し、市販の衣類についても分析を行なった。

その際、樹脂加工を行っていないものからも、若干のホルムアルデヒドが検出されることがあったが、これは主として移染、即わち、ホルムアルデヒドがこれを多量に含む衣類や家具などから発散して他の衣類に吸着されること、によるものと考えられる。移染は消費者の手に渡るまでの製造、貯蔵、流通あるいは販

売の段階²⁾だけでなく、家庭でタンスにしまっておいた場合にも起こりうる。こうした移染の実態を明らかにすることは、衛生化学的にみても重要と思われる。

加藤ら³⁾は各種の濃度にホルムアルデヒドを含むガスを実験的に調製し、その中で各種の繊維素材への移染について基礎的な検討を行なっており、

毛>ナイロン、綿>ポリエステル、アクリルといった順に移染が起こり易いことを報告している。しかし、一般の衣料品店での移染の実態については、なお明らかにされていない。そこで、著者らはこの点について検討する目的で本研究を行なった。検討したのは、①. 素材による移染の難易、②. 子供用品店ならびに婦人用品店における移染の起こり易さ、および③. ポリエチレンの袋に入れてシールすることの効果の3点である。また、高温・多湿な条件ほど、樹脂の分解とホルムアルデヒドの発生が促進され、移染が起こり易くなると考えられるので、梅雨時の一か月を選んで実験を行なった。

実験方法

1. 装置

島津 D-40R 型自記分光光度計を用いた。

2. 試薬

ホルムアルデヒド標準液：市販の特級ホルマリンをヨウ素法⁴⁾により標準し、これを希釈して 5.78 μg/ml の標準液とした。

アセチルアセトン試液：酢酸アンモニウム 150g を水に溶かし、氷酢酸 3ml およびアセチルアセトン 2ml を加えた後、水で 1l とした。

3. 定量法

前報⁵⁾で検討し、家庭用品規制法中のホルムアルデヒドの試験法⁶⁾となっているアセチルアセトン法によった。その概略は次のとおりである：試料 2.5g に水 100ml を加え、40° で 1 時間抽出し、温めろ過する。抽出液および標準液各 5ml をとり、それぞれにアセチルアセトン試液 5ml を加え、40° で 30 分間加温する。415nm における吸光度を測定し、A および A_s とする。対照液には空試験液を用いる。別に抽出液 5ml をとり、水 5ml を加えて同様に操作したのち、水を対照として 415nm における吸光度を測定し、A₀ とする。

試料中のホルムアルデヒド量 (μg/g)

$$= 5.78 \times \frac{A - A_0}{A_s} \times 100 \times \frac{1}{W}$$

ただし、W：試料採取量 (g)

4. 移染実験

4.1. 時期：1975年6月17日～7月15日

4.2. 場所：国立衛生試験所(用賀)付近の子供用衣料品店Aおよび婦人用衣料品店B

4.3. 試料：乳幼児用品3種(毛、綿およびアクリル製)各8点、計24点

4.4. 実験方法：下記のようにA、B2店に試料を置いたのち、2、7、14、21および28日目にそれぞれより約2.5gを切りとり、一つ一つ別のポリエチレンの袋に入れて試験所に持ち帰り、ホルムアルデヒドの含有量を分析した。

①. A店(子供用品店)：次の12点を店内の客が勝手に手にとれるところに置いた。

i. むき出しの状態のもの；毛、綿、アクリル各2点、計6点

ii. ポリエチレンの袋に入れ、二つ折にしてセテープでシールした状態のもの；毛、綿、アクリル各2点、計6点

②. B店(婦人用品店)：A店の場合と同様の12点を店内の婦人用の中衣や外衣が入れてあり、店員しか取り出せない陳列棚に置いた。

結果ならびに考察

1. 移染実験の結果

Fig. 1 および 2 に実験結果を図示した。

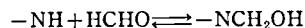
2. 素材による移染の難易

むきだしの状態のものについて、素材による移染の程度を比較してみると、A、B両店とも明らかに、

毛>綿>アクリル

という傾向を示し、アクリルではほとんど移染は起こらなかった。これは前述の加藤ら³⁾の結果と一致している。

この原因としては、水分含有率あるいはNH基の含有率の影響などが考えられる。まず、水分含有率の影響について考察すると、ホルムアルデヒドは水に易溶であるため、水分含有率の高いものほど移染され易いことが予想される。各素材の公定水分率⁶⁾は、毛15.0%、綿8.5%およびアクリル2.0%であり、移染の起こり易さとの間に相関がみられる。次に、NH基の含有率の影響については、尿素化合物がホルムアルデヒドの捕集剤として用いられる⁷⁾ように、NH基の多い素材では、



などの反応により、ホルムアルデヒドが捕集されると思われる。従って、NH基含有量の多い毛やナイロンには移染が起こり易いと考えられる。加藤ら³⁾は水分含有率が綿より低いナイロン(公定水分率⁶⁾：4.5%)

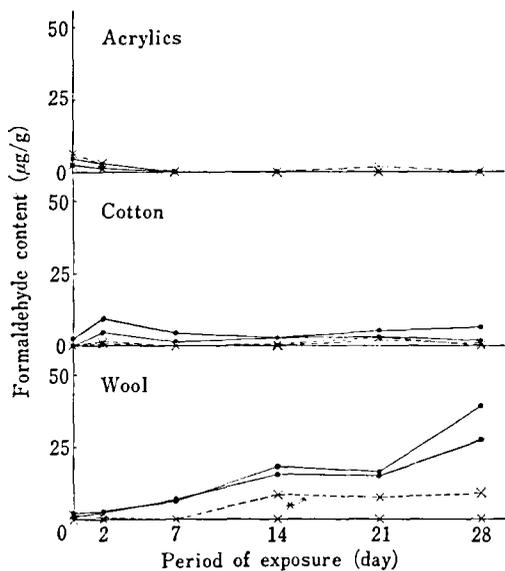


Fig. 1. Formaldehyde-adsorption in the shop for children's wears ●—● unwrapped, ×---× wrapped in polyethylene bag

* Polyethylene bag of this sample was broken by a customer between 7th and 14th days of experiment, and this sample was wrapped again in other polyethylene bag for the rest period of experiment

が綿よりも移染され易いことを報告しているが、それはこの点から説明できると思われる。

3. 子供用品店ならびに婦人用品店における移染の起こり易さ

むきだしの状態のものについて、A, B 2店を比較すれば、ほとんど移染を示さないアクリルは別として、毛および綿のいずれもB店、即ち、婦人用品店の方がかなり大きな移染を示した。

これは大人用の衣類、特に、中衣や外衣には、N-メチロール系の樹脂で加工された多量の遊離ホルムアルデヒドを含む材料(裏地など)を使ったものがあるのに対し、子供用品には樹脂加工されたものが少なくなってきていることが主要な原因と思われる。

4. ポリエチレンの袋に入れてシールすることの効果

ポリエチレンの袋に入れて軽くシールするだけで、むきだしの場合には非常に移染され易い毛も含めて、まったく移染が起こらないことがわかった。A店では、毛でポリエチレンの袋に入れておいたもの一つが、7~14日目の間に袋から出されていたことがあ

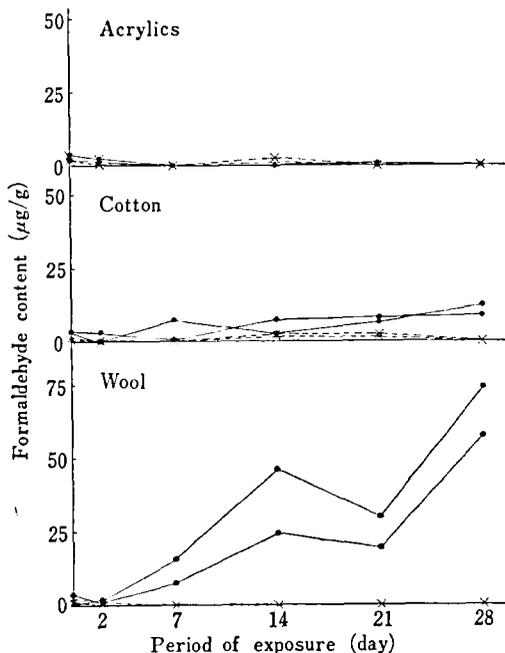


Fig. 2. Formaldehyde-adsorption in the shop for ladies' wears ●—● unwrapped, ×---× wrapped in polyethylene bag

った (Fig. 1, *)。この間には、そのホルムアルデヒドの含有量は 0 µg/g から 8 µg/g へと増加し、移染が起こっているのに対し、それ以後、再びシールされた状態では、ホルムアルデヒドの含有量は変化しておらず、移染は起こっていない。

結 び

1. 移染のされ易さは衣類を構成する繊維素材によって大きく異なり、毛、綿、アクリルについては次のようになる：

毛 ≫ 綿 > アクリル

2. 大人ものの店では、ホルムアルデヒドを発散するものも多く、移染が起こり易い。従って、子供用品、特に、乳幼児用品をむきだしの状態のまま大人ものと一緒に置くのは好ましくない。

3. ポリエチレンの袋に入れて、軽くシールすれば移染は起こらない。

本実験にご協力頂きました本所毛利潤子技官ならびに川崎市衛生研究所鈴木明子技師に感謝いたします。

文 献

- 1) 小嶋茂雄, 大場琢磨: 分析化学, 24, 294 (1975)
- 2) 日本繊維樹脂加工同業会編: ホルマリン対策のすべて, 1975, 繊維社
- 3) 加藤充哉, 中川千枝: 第3回北陸公衆衛生学会講演要旨集, 1975
- 4) 第八改正日本薬局方第一部, p. 652 (1971)
- 5) 昭和49年9月26日厚生省令第34号
- 6) 繊維学会編: 繊維便覧, 加工編, p. 967 (1974), 丸善

各種防腐・殺菌剤の Membrane Filter への吸着現象に関する研究

石関忠一・吉川邦衛・渡辺美奈子・浅賀良雄

Studies on the Adsorption of Several Preservatives onto Different Membrane Filters

Chuichi ISHIZEKI, Kunie YOSHIKAWA, Minako WATANABE
and Yoshio ASAKA

The adsorption of membrane filters to determine what kinds of filter can be applied for the checking of microbial contamination were investigated.

The thirty nine samples of commercial ophthalmic solutions and twenty kinds of preservatives as each pure compound were used for this investigation.

The results were obtained as follows:

1) Out of the thirty nine ophthalmic solutions, 18 samples were adsorbed onto nitro-cellulose membrane filter.

2) Out of the twenty preservatives, 5 samples were adsorbed onto the nitro-cellulose membrane filter, such as Hexachlorophene, Benzalkonium chloride, Cetylpyridinium chloride, Thimerosal and Chlorhexidine, but other 15 compounds did not adsorb onto the filter even at the highest concentrations used.

3) In the test using Thimerosal, the adsorption of nitro-cellulose membrane filter was shown to be positive in 100%. While quite low or negligible adsorption were indicated in the other kinds of membrane filter, such as acetate-cellulose and polycarbonate materials.

4) As for Benzalkonium chloride, positive adsorption was apparently found in three filters, e.g. nitro-cellulose, acetate-cellulose and polycarbonate materials.

(Received May 31, 1976)

ま え が き

点眼薬の微生物学的清浄度については、すでに欧米では古くから無菌性が要求されている。わが国では第九改正日本薬局方(1976)¹⁾で初めてその無菌性が規定されるようになった。医薬品の無菌性は今まで、注射薬に限定されていたが、注射薬以外にも無菌性が求められるようになったことは当然のことながら医薬品の微生物学的安全性が重視されてきたと解釈できる。

ところでこれら無菌剤の微生物学的試験法は、主として直接法、すなわち日局無菌試験法として行われて来た。これに対して最近では多量の試料中から、そ

の無菌性を確認する一方法として Membrane filter 法 (MF法) が、無菌試験法²⁾に採用されるようになってきた。この MF 法は、すでに諸外国では医薬品を含めて多くの分野で公定化されている^{3,4)}が、わが国では、まだ採用されていない。このような時期において MF 法が、医薬品の微生物学的清浄度を測定するのに、どのような利用法で用いられれば、安全確実に実施できるかを検討することに大きな意義があるものと考えられる。

著者らは液体製品中の汚染微生物を検出する目的で、この MF 法を点眼薬の試験に利用しているが、此の度、防腐・殺菌剤の MF への吸着現象が発見さ

Solution (test sample 20 ml) → Filtration (pore size 0.45 μ , diameter 47 mm) →
 Filtration (rinse fluid 250~300 ml) → Filtration (*Staph. aureus* 209 p, 10~30 cells/
 ml \times 10 ml) → Incubation (SCDA, 37°, 72 hrs) → Recovery (%)

Fig. 1. Test procedure

れた⁵⁾。このように、汚染試験を目的とした製剤の試験では、検出目的とする微生物が検出できない場合などが生じたり、無菌を目的とした製剤の調整にあたっては、処方成分中の防腐・殺菌剤の失活を起こすことが考えられる。

実験材料および方法

1. 点眼薬製品および使用薬剤

試験に供した点眼薬は 39 品目で、厚生省一斉取締り試験のため収去された検体の残品を用いた。

実験に供した薬剤は点眼薬に利用されている防腐・殺菌剤を含めて無作為に 20 種を選び、滅菌蒸留水を用いて所定の濃度、すなわち 1・2・5・10 法にそって調製した。

2. 試験菌株

実験に使用した菌株は *Staphylococcus aureus* FDA 209 P を用いた。

3. 菌液の調製

増菌用培地に Soybean Casein Digest (SCD) 液体培地を用い、これに試験菌を少量接種し、37°, 18~24 時間培養し、これより滅菌生理食塩液で希釈し、菌液を 10~30 個/ml に調製し、ろ過実験に用いた。また種菌用としては、実験毎に試験菌を SCD 寒天平板培地に分離培養し、その正常集落を斜面培地に移植し、37°, 18~24 時間培養したものを常時用いた。

4. 試験に用いた Membrane filter

実験に使用した MF は、5 社 3 種類、すなわち用いた膜を素材別に分類して、Nitro-Cellulose 3 種、Cellulose-Acetate 1 種、Polycarbonate 1 種で、それらの直径は、いずれも 47 mm、ろ孔サイズは、0.22~0.45 μ 、ろ過装置はポリカーボネート製を用いた。

5. 吸着試験法

吸着試験法は、次のような方法により行なった⁶⁾。これを図示すると Fig. 1 のようである。また、この操作は、すべてに無菌の試薬・試液、装置を用いて行なった。

MF を装着した MF 装置は、121°, 15 分間高压蒸気滅菌した。まず、この装置に試料液（製品あるいは試験用に調製した防腐・殺菌剤溶液）を 20 ml ろ過

した後、洗滌液 250~300 ml (0.1% ペプトン加生理食塩液) で装置内を洗滌しながら吸引ろ過した。次に試験菌の希釈液 10~30 個/ml を 10 ml ろ過し、膜の乾燥もかねて空引きを 1~2 分間行なった後、MF を装置から取りはずして、膜面を上にして SCD 寒天平板上に空気の入らないようにはりつけ、37°で 72 時間培養した。

結果の判定は培養後、寒天平板上の MF 面に発育増殖した試験菌の集落を計測し、これを製品または防腐・殺菌剤加溶液を通しての場合の菌数と、これら薬液をろ過させない対照の MF 上の菌数とを比較し、試験菌の回収率を % で求めた。なお薬剤の吸着のために生じる回収率の低下は、対照に比して 80% 以下の場合を吸着率 (+) とし、80% 以上回収された場合は吸着率 (-) として判定した。

実験結果および考察

1. 各種防腐・殺菌剤の吸着について

薬剤には、現在、点眼薬に用いられている防腐・殺菌剤も含めて、20 種を選び実験に供した。また、MF の素材は、Nitro-Cellulose 膜を用いた。その結果については Table 1 および 2 に示した。Table 1 に示した化合物 11 種のうち 3 種類に吸着現象が認められた。すなわち Hexachlorophene では、用いた濃度の最低 0.5 μ g/ml で、すでに 75%、2 μ g/ml では 10% の回収率にとどまり、10 μ g/ml では試験菌の回収ができなかった。Benzalkonium chloride では 100 μ g/ml で吸着が認められ始め、200 μ g/ml では、4% の回収率にとどまり、500 μ g/ml では完全に吸着している結果を得た。また同系薬剤である Cetylpyridinium Chloride では、Benzalkonium よりも低濃度で、吸着が始まり、5 μ g/ml では 8% 回収率、それが 20 μ g/ml になると、試験菌は回収できなかった。これに対し他の薬剤については、用いた薬剤の最高濃度（薬剤の溶解性も考慮した濃度）でも、いずれも約 80% 近い回収率が認められた。

次に Table 2 では、Thimerosal と Chlorhexidine だけに吸着が認められた。Thimerosal は過去において、点眼薬の防腐剤として非常に多くの利用率（1972 年現在、約 80% の製品に利用されている）を示した

Table 1. Recovery of *Staphylococcus aureus* onto membrane filter (material: nitro-cellulose) through various preservatives (I)

Compounds	Concentrations ($\mu\text{g}/\text{ml}$)													Adsorption			
	0	0.5	1	2	5	10	20	50	100	200	500	1000	2000				
Sorbic Acid	100						133	133	118								
4-Chloro-3,5-Xylenol	100	89	99	93	103	97	100	109	106	105	104						
<i>p</i> -Hydroxybenzoic Acid m.e	100						105	106	101	90							
<i>p</i> -Hydroxybenzoic Acid e.e	100						100	99	93	78							
<i>p</i> -Hydroxybenzoic Acid p.c	100						100	93	97	72							
Benzoic Acid	100						133	144	122								
4-Chloro-m-Cresol	100						86	77	91	91							
Hexachlorophene	100	75	73	10	0.6	0	0	0	0	0	0	0	0			+	
Benzalkonium Chloride	100						100	100	91	74	4	0	0			+	
Cetylpyridinium chloride	100	100	75	65	8	0.1	0	0	0	0	0	0				+	
Tego	100						100	99	85	82	77	92	90	82	72		-

Numerals in the table indicate the recovery (%)

Table 2. Recovery of *Staphylococcus aureus* onto membrane filter (material: nitro-cellulose) through various preservatives (II)

Compounds	Concentrations ($\mu\text{g}/\text{ml}$)													Adsorption			
	0	0.5	1	2	5	10	20	50	100	200	500	1000	2000				
CAEP	100						79	78	94	97	93	94					-
Thimerosal	100	100	100	89	86	74	6	0.3	0	0	0	0	0	0	0		+
Chlorhexidine	100						100	97	53	38	11	0	0	0	0		+
Tetramethylthiuram Disulfide	100	114	104	99	99	98	124	118	102								-
Chloramine T	100									79	76	100	78				-
Chlorinated Lime	100						82	99	98	105	106						-
Germal 115	100									94	88	116	113				-
Benzyl alcohol	100											102	100				-
Chloramphenicol	100						95	99	99	98	103	93	106	104	101		-

Numerals in the table indicate the recovery (%)

薬剤である。この薬剤は、10 $\mu\text{g/ml}$ で 74% であった回収率が 20 $\mu\text{g/ml}$ になると 6% まで低下し、100 $\mu\text{g/ml}$ では、まったく回収ができなかった。また Chlorhexidine は他の薬剤にくらべて吸着の程度が、比較的ゆるやかに進行するようで、5 $\mu\text{g/ml}$ で 53%、10 $\mu\text{g/ml}$ で 38%、20 $\mu\text{g/ml}$ で約 10% というように回収率が低下し、50 $\mu\text{g/ml}$ で試験菌の回収は認められなかった。

その他の化合物については Table 1 と同じように、用いた薬剤の最高濃度でも吸着は認められなかった。

このような結果から、用いた薬剤 20 種の実験を小括すると、5 種の薬剤に吸着現象が認められたことになる。

2. 薬剤と MF 素材との関係について

次に本実験において、吸着現象の認められた薬剤と、MF の素材との関係を究明するため、薬剤に Thimerosal と Benzalkonium chloride を選び、各種 MF の素材との関連について実験した。

Thimerosal の濃度は 5 $\mu\text{g/ml}$ から 200 $\mu\text{g/ml}$ の 6 段階濃度を用いた。MF 素材には、Table 3 に示すように、Nitro-Cellulose 系 3 社の膜と、Cellulose-

Acetate 膜 1 社、Polycarbonate 膜 1 社、計 5 品目を用いて実験をしたところ、Nitro-Cellulose 系の膜だけに、5 $\mu\text{g/ml}$ ~10 $\mu\text{g/ml}$ から吸着が認められた。

次に Benzalkonium chloride と MF 素材との関係について検討した。この薬剤の濃度は、5 $\mu\text{g/ml}$ から 500 $\mu\text{g/ml}$ の 7 段階濃度を用いた。MF 素材については、Thimerosal の実験と同じ素材のものを用いた。この実験結果は Table 4 に示されるように、用いた素材の膜、5 種すべてに、吸着が認められた。すなわち Nitro-Cellulose 系では、5 $\mu\text{g/ml}$ ~20 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で吸着がみられ、また Cellulose-Acetate 系では 10 $\mu\text{g/ml}$ 、それに Polycarbonate 系の膜では、50 $\mu\text{g/ml}$ で吸着が見られた。

なお表中数値で、一線のある数値は、寒天平板法による薬剤の MIC、すなわち、最小発育阻止濃度を示した値である。

考 察

防菌・殺菌剤添加製品の微生物検出試験については、はっきりと明文化された方法はない。ただ、一部については、各国とも無菌試験法のなかで、併記され

Table 3. Recovery of *Staphylococcus aureus* onto filter media through various membrane filters with several concentrations of Thimerosal

Membrane Filters	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)							Adsorption
	0	5	10	20	50	100	200	
A Nitro-Cellulose	100	86	74	6	0.4	0	0	+
B Nitro-Cellulose	100	78	35	29	11	0	0	+
C Nitro-Cellulose	100	119	17	0	0	0	0	+
D Cellulose-Acetate	100	98	98	100	101	98	97	-
E Polycarbonate	100	109	94	113	112	89	105	-

Numerals in the table indicate the recovery (%)

Table 4. Recovery of *Staphylococcus aureus* onto filter media through various membrane filters with several concentrations of Benzalkonium chloride

Membrane Filters	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)								Adsorption
	0	5	10	20	50	100	200	500	
A Nitro-Cellulose	100	100	89	18	0.5	0	0	0	+
B Nitro-Cellulose	100	75	12	8	6.6	0.3	0	0	+
C Nitro-Cellulose	100	30	14	0	0	0	0	0	+
D Cellulose-Acetate	100	83	35	5.2	2	0	0	0	+
E Polycarbonate	100	105	102	99	71	1.1	0	0	+

Numerals in the table indicate the recovery (%)

た状態で記載されている程度である。従って、その対策には多くの配慮が必要であった。近年、MF法の利用が、無菌製剤調製のための利用⁷⁾と、あいまって汚染微生物の検出に数多く利用されるようになってきた。ところが、この方法もMFの原理⁸⁾を理解せずに安易に操作すると大きな誤ちを招くことになる。著者らは、これらにも関連する問題の1つとして吸着現象を発見し、ここに報告したわけである。防腐・殺菌剤がMFの膜に吸着する問題は、製造工程上からは、無菌を目的として製剤をろ過する場合、製剤中の薬剤含量の低下が起こるかもしれない、また製品の微生物試験では、吸着のために検出目標とする微生物に悪影響をおよぼすなどの結果が予想できる。現に、ろ過後に起こる抗菌活性の失活についてはPriceら(1972)⁹⁾が報告している。また薬剤の化学的吸着について、Van Ooteghem (1969)¹⁰⁾、Chiou (1970)¹¹⁾、および Naidoo ら (1971)¹²⁾が報告しているが、今回著者らが実施したような、製品中の菌数測定において高頻度で、かつ高率に出現した吸着現象を微生物学的な面から確認した例は見当たらない。

本実験で用いた吸着現象なる言葉は、化学的、物理的現象として確認されたものでなく、微生物学的に認められた現象である。なお、生物学的に実証された結果から考える限りでは、吸着現象なる言葉として解釈できるものと推測できる。

要 約

1. 点眼薬中の汚染微生物を検出する目的で実験したMF法は、防腐剤のMF膜への吸着現象のため18/39試料(46.2%)が試験操作上、何んらかの対策を必要とする結果を得た。

2. 防腐・殺菌剤単体を用いた実験では、化合物20種のうち5種に吸着が認められた。

3. 化合物に Thimerosal を用いた場合の MF 素材と吸着との関係では、Nitro-Cellulose 系の膜だけに吸着が見られ、他の Acetate-Cellulose や Polycarbonate 系の膜では認められなかった。

4. 化合物に Benzalkonium Chloride を用いた場合には、MF 素材3種、すなわち Nitro-Cellulose 膜、Acetate-Cellulose 膜、それに Polycarbonate 膜のすべてに吸着が認められた。

稿を終るにあたり、終始ご懇篤なる御指導と校閲を賜わった衛生微生物部長、倉田浩博士に衷心より感謝いたします。

文 献

- 1) 第九改正 日本薬局方, p. 18 (1976)
- 2) F. W. Bowman: *J. Pharmac. Sci.*, 55, 818 (1966)
- 3) *U. S. Pharmacopoeia XIX*, p. 592 (1975)
- 4) *Standard methods for the examinations of water and waste water*, 13th Ed. p. 678 (1971), Publication office: American Public Health Association 1970, Broadway, New York
- 5) 石岡忠一, 吉川邦衛, 倉田浩, 他: 日本薬学会, 第34年会講演(1974)
- 6) 日本抗生物質医薬品基準, 薬業時報社, p. 512 (1974)
- 7) R. C. Crisafi: *J. Amer. Pharmac. Assoc. NS* 4, 548 (1964)
- 8) R. Ehrlich: *Ad. Appl. Microbiology*, 2, 95 (1960)
- 9) N. F. Price *et al*: *Australian J. Pharmac. Sci.* NS1, 16 (1972)
- 10) Van Ooteghem *et al*: *Pharm. Acta Helv.*, 44, 602 (1969)
- 11) L. Chiou *et al*: *J. Pharmac. Sci.*, 59, 843 (1970)
- 12) N. T. Naidoo *et al*: *Pharm. Weekblad*, 106, 509 (1971)

ケシの直接抽出に関する研究（第3報）収量構成要素の栽植密度反応

島山好雄・本間尚治郎・大野忠郎・大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Studies on Cultivation of *Papaver Somniferum L.* and Extraction of the Alkaloids III Response of Yield Component to Planting Density

Yoshio HATAKEYAMA, Naojiro HOMMA, Tadarō OHNO, Masako OHNO, Mochihiko SHIMAMINO and Kazunori TAKAHASHI

The influence of planting density or plant population on the yield component was investigated under field condition, using *P. somniferum* cv. 'Ikkan' in three different planting density; sparse (5000 plants/10 a), dense (33300/10 a) and control (11800 plants/10 a).

1) The highest yield of capsule was obtained at the high density plot as same as the former report.

It was found that the increase of capsule yield resulted more increase of the seeds, especially at the high density, than that of the husk.

2) As the plant population per unit area increased, the capsule number increased and the number per plant decreased. The mean weight of one capsule was almost constant.

3) Both of the number and weight of capsule per plant were correlated with the stem weight, but they were correlated with the leaf area and weight only in the high density and a part of the control density plot.

4) The morphine content in the capsule was not affected by the planting density. The difference of the content was not observed in three districts of different climate, Hokkaido, Kasukabe and Wakayama.

The codeine content seemed to be higher in cold district.

5) The planting density for the production of capsule seemed to be optimum at 35000 to 40000 capsules or 30000 to 35000 plants per 10 a.

(Received May 31, 1976)

ま え が き

作物は一般に密植すると個体は小さくなり目的部位の個体収量も減る。栽植密度に対する植物の反応は一定の法則下にあり^{1,2)}、イネにおいては穂数・穂重などの収量構成要素がそれぞれ特異の反応を示すことが報告されている³⁾。

ケシにおいても、前報で、栽植密度が高くなると個体の重量、1株当たり朔果重量ともに減少するが、株数つまりは果数の増加によって補償され、単位面積の収量が增大することを報告した。今年さらに春日部および北海道試験場において3密度区を設けて試験し、栽植密度に対する収量と構成要素の反応を検討すると共に、前報の結果を併せて最適栽植密度を推定してみた。また気候条件の異なる地域（北海道、春日部、和歌山）におけるアルカロイド含量の比較を行なった。

実験材料および方法

1974年6月春日部試験場で採種した「1貫種」を

同年10月21日に10アール当たり330g条播した。施肥は10アールに基肥として複合化成888を35kg、菜種油粕60kgを全面に施し、追肥として1975年3月27日に同肥料を各75kg、120kg施した。間引は同年3月13日に行ない所定の株数を残し、薬剤散布は4月11日、5月2日の2回石灰ボルドー合剤を使用した。収穫は1975年5月26日の切傷期に行なった。収量調査は各区0.6m²を12区画とり、個体調査は22~55株について行なった。モルヒネ、コデイン含有量の測定はα-ニトロソ-β-ナフトールによる比色法およびガスクロマトグラフによった。

和歌山の耕種法は春日部とほぼ同一で、北海道は寒冷地における標準栽培法によった。

各試験場の栽植密度は次の通りで条間は全て60cmとした。

春日部：10アール当り 5000, 11800, 33300株の3区

北海道：10アール当り 11000, 17000, 237000株

Table 1. Yields and yield components

Districts	Kasukabe	Hokkaido	Kasukabe	Hokkaido	Kasukabe	Hokkaido
No. of plant/10a	5000	11000	11800	17000	33300	23700
No. of capsule/10a	22917		31806		37222	
Wt. of one capsule (g)	4.6		5.4		5.2	
Wt. of one husk (g)	4.6		4.6		3.8	
Yield capsule (kg/10a)	105.8	77	154.7	93	179.4	97
husk	104.5	50	140.2	60	141.9	60
seed	1.3	27	14.9	33	37.5	37

の3区

和歌山: 10 アール当り 19300 株の1区

実験結果および考察

今年は非常に整一な発芽, 生育を示し, 各処理区とも所期の単位面積当たり株数を得られた。

第2報⁴⁾で述べたように, 収量は果数と果重の2要素によって構成され, 栽植密度が高くなるにつれて単位面積の果数は増加し, 一方平均1果重は密度に関わりなくほぼ一定なので, 密植など朔果収量が高くなることを報じたが, 本実験においても Table 1 に見られるように全く同様の結果を示した。

前報までは朔果収量は種子を含んでいたが, 今回からは収量を莢 (husk) と種子 (seed) に区別して呼ぶこととし, 両者合せたものを朔果収量とした。Table 1 において栽植密度が高くなるに従って朔果収量も増加しており, それは主として種子収量の増加に起因し, ある密度以上になると莢収量には変化なく, 種子収量のみが増加した。同様の結果は北海道における栽培にも見られた。栽植密度・1株果重・種子収量の関係を示すと Fig. 1 のようであった。

直接抽出の栽培では朔果の利用とともに, 種子の生産, 利用にも重点をおくことが合理的と考えられる。

収量構成要素である果数と果重の栽植密度に対する反応を検討した結果は次のとおりであった。単位面積当たりの果数は株数によって支配され, 株数の多い区ほど果数は増加した。疎植になるにつれて単位面積当たりの株数は減少するが, 個体が分枝を多数出すことによって果数の減少を補償した。しかし密植による株数の増加については果数の増加に見合うほど多くの分枝は出ないので, 結局株数の減少に伴ない果数も減少した。

1株果数もまた株数によって支配されるが, 単位面積当たりの果数と異なり, ほとんど直線に近い負の相関が見られ, (Fig. 2), '75年には33000株/10aでは

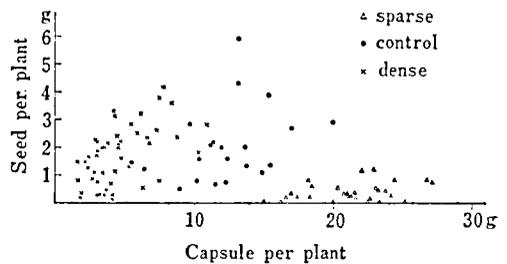


Fig. 1. Correlation between capsule and seed

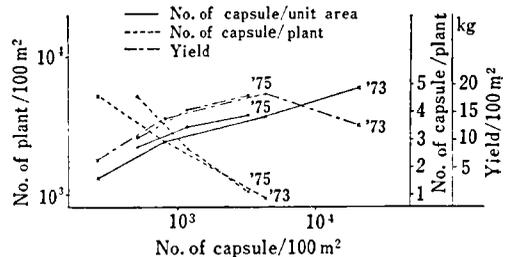


Fig. 2. Response of yield and capsule to plant population

は1株1果であった。

平均1果重は Table 1 に示した如く疎植から密植まではほぼ一定であり (1株中の朔果は主軸果が最も大きく, 上位節から第1, 2, ...分枝の順に小さくなる。ここでいう1果重はそれらの平均値である。), 1莢重は密度によってやや異なるが大差はなく, そのため1株果重と1株果数の相関はきわめて高かった。その他果数と果重との関係を密度別に調べてみると Table 2 のような結果が得られた。

果実の生産に先立って茎葉の生長があり, その結果, 果数や果重が決定されるので, それらと個体各器との相互関係を栽植密度別に調べた。(Table 3) 果数, 果重と最も密接な関連をもつのは莖重であり, 特

Table 2. Correlation between yield components

		Wt. of capsule per plant	Wt. of one capsule	No. of capsule per unit area
No. of capsule/plant	sparse	0.92***	0.33	1.00***
	control	0.91***	-0.76***	0.89***
	dense	0.73***	0.04	-0.15
Wt. of " "	sparse		0.38	0.57
	control		-0.46*	0.94***
	dense		0.72***	-0.58*
Wt. of one capsule	sparse	0.32		-0.49
	control	-0.71***		-0.73***
	dense	0.04		-0.65*
No. of capsule per unit area	sparse	0.57	-0.49	
	control	0.94***	-0.73***	
	dense	-0.58	-0.65*	

Table 3 Correlation between components and foliage

	Density	Leaf area	Wt. of leaf	Wt. of stem
No. of capsule/plant	control	0.31	0.38	0.79***
	dense	0.41***	0.41***	0.56***
Wt. of " "	control	0.43***	0.41***	0.84***
	dense	0.55***	0.77***	0.80***
Wt. of one capsule	control	-0.29	-0.19	0.40
	dense	0.74***	0.78***	0.25
Wt. of stem	control	0.56***	0.62***	
	dense	0.79***	0.85***	

Table 4 Correlation between gynophore and capsule

	Density	Wt. of capsule main stem	first-branch	second-branch
Diam. of gynophore	control	0.56***	0.69***	0.39
	dense	0.89***		

に生育後期に決定される果重はより高い相関を示した。葉重、葉面積は第2報⁴⁾と異なり、慣行区においては果数、果重と相関を示さず、密植区においてのみ見られ、莖重と同様、果重の方により関連が深かった。また他作物において枝梗が太いと子実重の大きいことが多いが、ケシにおいても果梗径と果重の間に同様の関係が認められた。(Table 4)

栽植密度反応には品種間差があり⁵⁾、最適栽植密度は気候、施肥量などによって変化する⁶⁾。ケシにおける最適密度については30000~31000株/10aといわ

れ⁷⁾ 最高朔果収量は67000株/10aで得られる⁸⁾ともいわれる。「1貫種」を用いた1973年の結果では⁹⁾、不間引の場合約200000株/10aの稚苗に競合が生じ、収穫時約60000果/10aであり、株間3cmの密植でも約43000株/10aが約33000株、37000果/10aに減っている。一方朔果収量は各130kg、180kg/10aであり、超密植状態では個体が著しく弱小になって倒伏を起し朔果も極端に小さかった。'75年の栽植密度と果数、収量との関係は'73年に驚くほどよく似ており(Fig. 2) 33300株/10a以上の区を設

けても同様の結果を示したものと推定される。

1 果重は年次間変動はあるが、2500~37000 株/10a の密度内ではあまり変異がなく、それ以上の密植になると急激な低下が起るように見受けられた。朔果/莖葉比を見ると Fig. 3 に示したように疎植の場合は約 0.5 に対し、密植になるに従って莖葉の比率が増し、'75 年には 33000 株/10a で僅か 0.3 であった。

栽植密度がアルカロイド含量に影響を及ぼすか否かも栽培上の要点なので地域別にこの関係を調べた。(Table 5) 春日部におけるモルヒネ含量については '73, '74 年には各密度間にほとんど差がなく、'75 年には密度が高くなるとやや低下したが、北海道の '75 年の結果では全く差が見られなかった。開花後 2 週間に収穫した場合、分枝の多い疎植の方が 1 株 1 果の密植よりモルヒネ含量が多いと予想されたが、栽植密度とはあまり関係がないようであった。地域的な差については '74 年には見られたが、'75 年には明らかでなかった。コデイン含量はモルヒネ含量とよく一致した値を示し、地域差は明らかに見られ北海道において高かったが、密度反応は明らかでなかった。

これらの実験結果を通して考えると「1 貫種」においては 35000~40000 果/10a (30000~35000 株/10a に相当する) が適当な栽植密度と思われる。

摘 要

1973 年から 1975 年までの成績を含めて、収量お

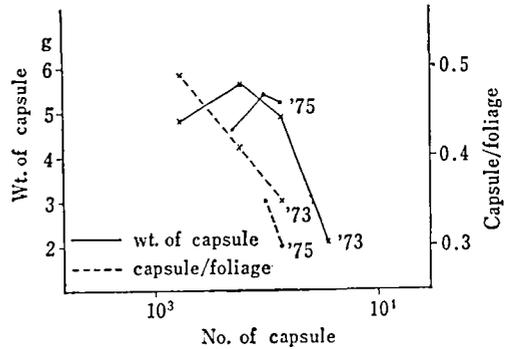


Fig. 3. Ratio of capsule to foliage

よび収量構成要素に及ぼす栽植密度の影響を調べ、最適栽植密度を推定した。

1. 栽植密度が高くなるにつれて果数は増加し、増収となった。増収は莢収量よりは種子収量の増加に起因し、ある密度以上では種子収量のみが増加した。
2. 果数は株数によって支配され、単位面積当りの株数が増えると単位面積当り果数も増えたが、1 株果数は減った。

平均果重はいずれの栽植密度においてもほぼ一定で、1 株果重は 1 株果数と相関が高かった。

3. 1 株果数、1 株果重はともに莖重と高い相関をもったが、葉重、葉面積とは栽植密度によって異なり、密植で高く、慣行で低いか相関が見られなかつ

Table 5. Effect of planting density on morphine and codeine contents in various districts

		No. of plant per 10a	Morphine %	Codeine %
Kasukabe	1975	5000	0.37	0.05
		11800	0.34	0.02
		33300	0.29	0.01
	1974	7300	0.27	
		16900	0.26	
	1973	2860	0.16*	
		8580	0.20*	
Wakayama	1975	19300	0.36	0.02
	1974	14400	0.21	
Hokkaido	1975	11000	0.36	0.07
		17000	0.36	0.07
		23700	0.36	0.09
		15700	0.34	

* capsule with peduncle of 50 cm length

- た。果重と果梗径との相関も高かった。
4. モルヒネ含量は栽植密度によって大きな影響を受けず、地域的な差については年によって変動があり明確でなかった。コデイン含量は低温地域において高い傾向が見られた。
 5. ケシの栽植密度は、果実を目的とする場合、果数 35000~40000/10 a, 株数にして 30000~35000/10 a が適当と考えられる。

文 献

1) T. Kira, *et al.* : *J. inst. Palytech. Osaka City*

Univ. D 4 (1953)

- 2) 吉良竜夫：農業及園芸, 36 (7), 1101 (1961)
- 3) 山田登：農業及園芸, 36 (1), 13 (1961)
- 4) 畠山他：衛生試報, 93, 77 (1975)
- 5) 田中他：土肥誌, 41, 363 (1970)
- 6) " " 42, 465 (1971)
- 7) I. Papp, L. Jozia. : *Debreceni Agrartud. Foisk. Tud. Kozlem.* 1965 (11), 75 (Annotated Bibliography on opium and oriental poppies and related species)
- 8) M. Bechyne, : *Rostl. Vyroba*, 11 (12), 1289 (1965) (7に同じ)
- 9) 畠山他：衛生試報, 92, 32 (1974)

N-アルキル-N-ニトロソウレタン類の製造

神谷庄造・宮原 誠

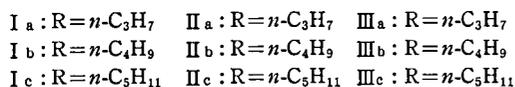
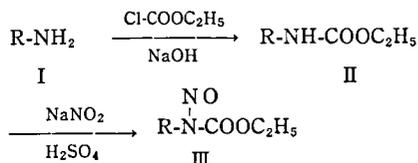
Preparation of N-Alkyl-N-nitrosourethans

Shozo KAMIYA and Makoto MIYAHARA

N-Propyl-, N-butyl- and N-amyl-N-nitrosourethan were prepared by the nitrosation of the corresponding N-alkylurethans with sodium nitrite and 30-40% sulfuric acid, in over 80% yields. They were offered for experimental carcinogenesis.

(Received May 31, 1976)

著者らは、当所薬品病理部で行なわれている「N-アルキル-N-ニトロソウレタン類の発癌作用に関する研究」において化合物の製造を担当している。これらのニトロソウレタン類は、いずれも強い発癌性と爆発性を有し、その合成は危険な作業であるのでこのタイプの化合物の一般的合成法を報告する。



相当するアルキルアミン (I) とクロル炭酸エチルを、水酸化ナトリウムの存在下に反応させ N-アルキルウレタン (II) とする。II を 30-40% 硫酸にけん濁し、氷冷下に 2.5 モル相当の亜硝酸ナトリウムを加えることによりニトロソ化し N-アルキル-N-ニトロソウレタン (III) とした。収率はいずれも 80% 以上である。

これらの N-アルキルウレタン類の IR スペクトルは 3320-3330 cm⁻¹ に NH による吸収を、また 1700 cm⁻¹ 附近に COOC₂H₅ による強い吸収を示すが、ニトロソ体となると NH による吸収は消失し、COOC₂H₅ による吸収は 1750 cm⁻¹ に大きくシフトする。

実 験

N-プロピルウレタン (IIa)-1l の三口フラスコに n-プロピルアミン、59.0 g (1.0 モル) および水 150 ml を加え、氷冷、攪拌下に水酸化ナトリウム 44.0 g

(1.1 モル) を水 300 ml を溶かした液とクロル炭酸エチル 108.5 g (1.0 モル) を約 1 時間 30 分にわたって、両者がほとんど同時に加え終るように滴加する。氷浴を取り去って、さらに 1 時間攪拌した後、反応液をエーテルで 2 回抽出する。エーテル層を氷水で 2 回洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、エーテルを留去し、ついで残留物を減圧で蒸留する。bp 65-68°/5 mm Hg. IR (cm⁻¹, liquid): 3320 (NH), 1705 (CO). 収量, 115.2 g (88%). Anal. Calcd. for C₆H₁₃O₂N: C, 54.94; H, 9.99; N, 10.68. Found: C, 54.89; H, 9.61; N, 10.48.

N-プロピル-N-ニトロソウレタン (IIIa)-2l の三口フラスコに IIa, 104.8 g (0.8 モル) をとり、氷冷 (氷-食塩)、攪拌下に 30% 硫酸 300 ml を加える。これを 0-5° に保ち、はげしく攪拌しながら亜硝酸ナトリウム 138.0 g (2.0 モル) を水 360 ml に溶かした液を約 1 時間 30 分にわたって滴加する。加え終った後、さらに 1 時間攪拌し、反応混合物をエーテルで 2 回抽出する。エーテル層を 2 回氷水で洗い、ついで無水塩化カルシウムで一夜乾燥する。エーテルを留去し、赤橙色の残留物をドラフト中で防護板を立てて、注意深く減圧蒸留する。危険であるので、一度に 25 g 以上を蒸留しないこと。特異臭のある赤橙色の液体。bp 58-62°/4 mm Hg. IR (cm⁻¹, liquid): 1755 (CO). 収量, 113.0 g (88%). Anal. Calcd. for C₆H₁₂O₃N₂: C, 44.99; H, 7.55; N, 17.49. Found: C, 44.82; H, 7.50; N, 17.31.

N-ブチルウレタン (IIb)-IIa と全く同じようにして合成した。bp 66-68°/8 mm Hg. IR (cm⁻¹, liquid): 3330 (NH), 1705 (CO). 収率, 82%. Anal. Calcd. for C₇H₁₅O₂N: C, 57.90; H, 10.41; N, 9.65. Found:

C, 57.62; H, 10.60; N, 9.48.

N-ブチル-N-ニトロソウレタン (IIIb)—この場合は40% 硫酸を用い、その他の操作は IIIa と全く同じように行った。特異臭のある赤橙色の液体。bp 67–69°/3 mm Hg. IR (cm⁻¹, liquid): 1752 (CO). 収率, 94%. *Anal.* Calcd. for C₇H₁₄O₃N₂: C, 48.26; H, 8.10; N, 16.08. Found: C, 47.81; H, 7.92; N, 15.65.

N-アミルウレタン (IIc)—IIa と全く同じようにして合成した。bp 96–97°/6 mm Hg. IR (cm⁻¹, liquid): 3320 (NH), 1700 (CO). 収率, 82%. *Anal.* Calcd. for C₈H₁₇O₂N: C, 60.34; H, 10.76; N, 8.80. Found: C, 60.15; H, 10.58; N, 8.72.

N-アミル-N-ニトロソウレタン (IIIc)—1l の三口フラスコ中に IIc, 31.8 g (0.2 モル) をとり、氷冷(氷—食塩)、攪拌下に 40% 硫酸 130ml を加える。これを 0–5° に保ち、はげしく攪拌しながら亜硝

酸ナトリウム, 34.5 g (0.5 モル) を水 100ml に溶かした液を約 1 時間30分にわたって滴加する。加え終った後、さらに 1 時間攪拌を続け、反応混合物をエーテルで 2 回抽出し、エーテル層を 2 回氷水で洗う。

ついでエーテル層を 1% 炭酸水素ナトリウム液で 2 回洗い、さらに水で 3 回洗った後、無水硫酸ナトリウムで乾燥する。エーテルを留去し、さらに減圧で吸引し完全にエーテルを除き製品とする。このものを減圧蒸留すると一部分解するので蒸留出来なかった。特異臭のある赤橙色の液体。IR (cm⁻¹, liquid): 1750 (CO). 収量, 31.6 g (84%). *Anal.* Calcd. for C₈H₁₆O₃N₂: C, 51.05; H, 8.57; N, 14.88. Found: C, 49.72; H, 8.38; N, 14.51.

ここに得られた N-アルキル-N-ニトロソウレタン類の重クロロホルム中で測定した NMR スペクトルはそれぞれの構造式によく一致した。

製剤の含量均一試験について (第一報) ジメンヒドリナート錠の分析法について

植岡澄子・古謝紀和・岡 恒・持田研秀

Studies on the Content Uniformity Test. I Analytical Methods for the Dimenhydrinate Tablets

Sumiko UEOKA, Norikazu KOJA, Hisashi OKA and Kenshu MOCHIDA

Attempts to apply the spectrophotometry and the gas chromatography to the content uniformity test of some commercial dimenhydrinate tablets, were made.

Results of statistical evaluation by the analysis of variance were as following; the difference between the values obtained by the two methods could not be regarded as significant, whereas the significant differences in content among tablets could be readily made clear.

In order to perform the content uniformity test of commercial dimenhydrinate tablets, therefore, both the methods were found to be useful. The spectrophotometry, however, was superior to the gas chromatography in simplicity and readiness.

(Received May 31, 1976)

主薬の含量が少ない製剤のばらつきを管理する方法として、重量偏差とともに含量均一性試験の適用が重視されているが、この試験には精度の良い微量分析法が要求され、さらに簡便かつ迅速である方が望ましい。USPXIX および NFXIV では、吸光度法が多く採用されているが、測定波長に吸収を示す主薬以外の成分を含有した製剤では複雑な抽出操作あるいは補正などの処理が必要であり繁雑となる。

そこで、ジフェンヒドラミン (DPH) と 8-クロルテオフィリン (CT) の塩である鎮吐剤ジメンヒドリナート市販製剤について、USP 記載の吸光度法 (UV法) をもちいて含量均一性試験を行なった。同時に、前操作の簡単なガスクロマトグラフィー (GLC 法) の適用を試み、分散分析による統計処理をもちいて両定量法の間の差異および製剤間の差異を検定し、二、三の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試薬および試料

ジメンヒドリナート原末：提供品（定量値ジフェンヒラミン 54.2%，8-クロルテオフィリン 45.6%），UV 法用標準品とした。

塩酸ジフェンヒドラミン（HCl・DPH）：提供品（定量値 99.2%）。

8-クロルテオフィリン（CT）：東京化成製試薬を使用した。

メタノール：試薬特級を使用した。

2,4-ジクロロベンゾフェノン（DCB）：東京化成製試薬を GLC 用内部標準物質とした。

ジメンヒドリナート錠（1錠中ジメンヒドリナート 50 mg を含有）：A社，B社，C社，D社，E社の製品を使用した。

2. 装置

吸収スペクトル測定：島津 マルチコンバーチブル DF-40 分光光度計を使用した。

吸光度測定：日本分光 UVIDEC-4 型可視紫外分光光度計を使用した。

ガスクロマトグラフィー：水素炎イオン検出器（FID）付島津 GC-5A 形ガスクロマトグラフを使用した。

条件

カラム：3% OV-17/Gas chrom Q (80-100 mesh) 3 mm×1.5 m ガラス製

キャリアーガス流量：窒素 60 ml/min.

カラム温度：175°

注入口，検出器温度：225°

3. 分析法

3-1. 吸光度法（UV 法）

USPXIX に従って行なった。

3-2. ガスクロマトグラフィー（GLC 法）

検量線の作成：HCl・DPH 約 25 mg を精密に量り，メタノールに溶かして正確に 100 ml として標準溶液とする。別に内部標準物質 DCB 約 50 mg を精密に量り，メタノールに溶かして正確に 50 ml として内部標準物質溶液とする。標準溶液 1 ml，2 ml，3 ml，4 ml，5 ml，6 ml を正確に量り，内部標準物質溶液 1 ml ずつを正確に加えメタノールで全量 10 ml とし，それぞれの 2 μl をもちいてガスクロマトグラフィーを行なって検量線を作成した。（Fig. 1）

操作法：ジメンヒドリナート錠 1 個を粉末とし，メタノールを加えて正確に 100 ml とする。よく振り混ぜたのち，乾燥ろ紙を用いてろ過する。初めのろ液

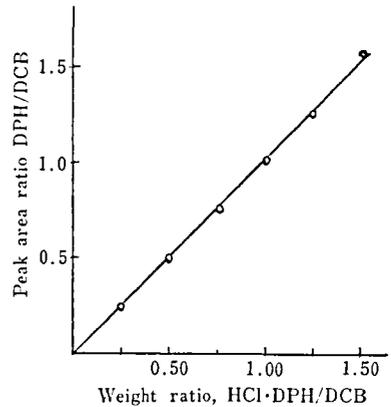


Fig. 1. Calibration curve for gas chromatography

10 ml を除き，つぎのろ液を試料溶液とする。試料溶液 4 ml を正確に量り，内部標準物質溶液 1 ml を正確に加えメタノールで全量 10 ml とし，その 2 μl をもちいてガスクロマトグラフィーを行なう。得られた DPH/DCB のピーク面積比から，上記検量線をもちいて HCl・DPH の量 x mg をもつて，つぎの換算式よりジメンヒドリナート錠の表示量に対する含量%を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{1錠中のジメンヒドリナートの含量\%} \\ & = 4.0265 \times 10^3 \times x / T \end{aligned}$$

ただし， T は 1 錠中のジメンヒドリナートの表示量 (mg) である。

実験結果および考察

1. 紫外外部吸収スペクトル

Fig. 2 にジメンヒドリナートとその構成成分である CT および HCl・DPH のメタノール中の紫外外部吸収スペクトルを示した。Fig. 2 より UV 法におけるジメンヒドリナートの測定波長 276 nm は CT の吸収極大 276 nm に基づいていることがわかる。

また各社のジメンヒドリナート錠の吸収スペクトルを測定したところ，すべて Fig. 2 に示したジメンヒドリナートの吸収スペクトルに一致し，妨害の恐れはなかった。

2. ガスクロマトグラフィー

内部標準物質 DCB を含むジメンヒドリナートのガスクロマトグラムを Fig. 3 に示した。ジメンヒドリナートは構成成分である DPH と CT の 2 つのピークが認められたが，CT のピークはテーリングを示し，FID に対する感度も非常に悪かった。

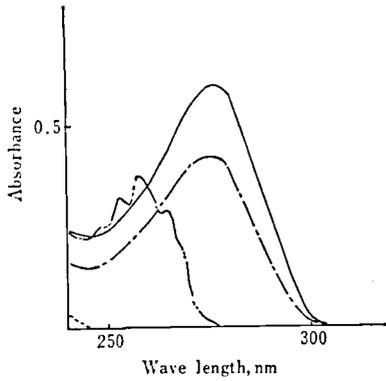


Fig. 2. Ultra-violet absorption spectra of dimenhydrinate, 8-chlorotheophilline and diphenhydramine hydrochloride in methanol

—	dimenhydrinate :	2.505×10^{-2} mg/ml
- - - -	8-chlorotheophilline :	8.12×10^{-3} mg/ml
· · · · ·	diphenhydramine hydrochloride :	2.50×10^{-1} mg/ml
· · · · ·	methanol	

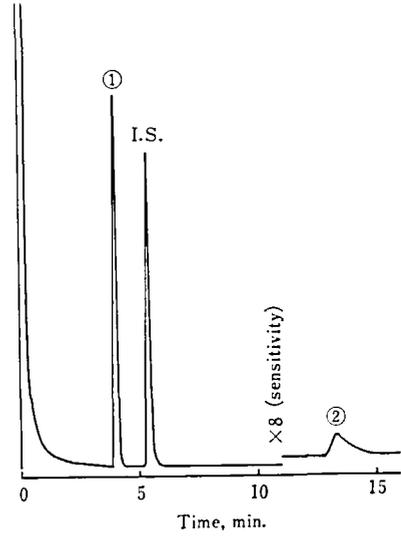


Fig. 3. Gas chromatogram of dimenhydrinate
① diphenhydramine
② 8-chlorotheophilline
I.S. 2,4-dichlorobenzophene

Table 1. Contents of dimenhydrinate tablets manufactured by various companies

Tablets	Content %									
	A		B		C		D		E	
	UV	GLC	UV	GLC	UV	GLC	UV	GLC	UV	GLC
Samp. 1	93.3	94.3	100.0	101.7	99.0	96.3	94.3	96.3	101.9	99.9
2	97.1	97.5	95.9	98.5	101.0	99.9	108.5	108.6	96.2	96.7
3	96.2	88.7	102.4	102.3	100.6	105.9	102.8	107.0	97.2	99.0
4	90.4	95.9	100.8	101.9	100.0	98.3	90.6	91.1	94.3	96.7
5	96.2	95.9	100.0	104.4	98.1	96.7	90.6	99.5	100.0	102.3
6	90.4	96.7	98.4	100.7	101.9	101.5	90.6	90.7	93.4	98.3
7	87.6	90.3	101.6	99.3	102.5	101.9	103.8	101.9	94.3	97.5
8	97.1	96.7	100.8	101.7	101.9	99.5	96.2	97.1	97.2	102.3
9	97.1	95.9	94.3	93.2	101.9	100.3	94.3	91.5	98.1	101.5
10	84.8	82.3	95.9	95.9	103.8	103.9	103.8	102.7	96.2	102.3
\bar{x}	93.0	93.4	99.0	100.0	101.1	100.4	97.6	98.6	96.9	99.7
s	4.25	4.61	2.62	3.17	1.61	2.90	6.27	6.13	2.51	2.21
V	20.10	23.67	7.61	11.14	2.89	9.10	43.72	41.74	7.00	5.42
cv	4.57	4.94	2.65	3.17	1.59	2.85	6.43	6.21	2.59	2.21

\bar{x} : mean value

s : standard deviation

V : unbiased estimate of variance

cv : coefficient of variation

Table 2. Analysis of variance for dimenhydrinate tablets (Two-way layout method)

	S	ϕ	F_0'
Analytical method	67.31	1	1.064
Tablets	635.02	4	9.758**
Experimental error	1529.04	94	
Total	2181.37	99	

S; variation

ϕ ; number of degrees of freedom

F_0' ; variance ratio without interaction

**; significant at 0.05% level

そこで、今回の実験では DPH のピークを用いてジメンヒドリナートの定量を行なった。

3. 定量結果および分散分析

ジメンヒドリナート錠の同一試料について UV 法および GLC 法をもちいて含量を測定したところ、いずれの方法をもちいても各社の錠剤の含量均一性試験は USP の規定に適合した結果が得られた。(Table 1)

次にこの定量結果に二元配置法の分散分析による統計処理を適用して、定量法間の差異および製剤間の差異を検定した。

Table 2 の分散分析表に示したように定量法間には有意差が認められなかった ($p < 0.05$)。しかし、錠剤間では有意差が認められた ($p > 0.05$)。これは錠剤 A が他の錠剤よりも含量が少ないことによるものである。

以上の結果より、紫外部吸収の妨害する成分を含まないジメンヒドリナート錠の含量均一性試験用定量法として、両定量法が適用できる。簡便さ迅速さにおいては、UV 法の方が GLC 法よりすぐれていると考えられる。しかし、GLC 法は紫外部吸収を妨害する成分が含まれたジメンヒドリナート製剤およびジフェン

ヒドラミンを含有する製剤の定量に利用でき、精度も満足しうる。

ま と め

UV 法および GLC 法をもちいてジメンヒドリナート錠の含量を測定した結果、いずれの方法をもちいても各社の製品の含量均一性試験は USP の規定に適合した。

二元配置法の分散分析をもちいて、定量法間の差違および錠剤間の差違を検定したところ、UV 法および GLC 法間には有意差が認められなかった ($p < 0.05$)。しかし製剤間では有意差が認められた ($p > 0.05$)。これは錠剤 A の含量が少なかったことによるものである。

ジメンヒドリナート錠の含量均一性試験用定量法として両定量法が適用でき、簡便さ迅速さにおいて UV 法の方がすぐれていると考えられる。しかし、GLC 法は紫外部吸収を妨害する成分が含まれたジメンヒドリナート製剤およびジフェンヒドラミンを含有する製剤の定量に利用できる。

日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品
(第9回, Control 741) の製造

川村次良・佐藤 浩・木村俊夫・三谷和子

Preparation of the Japanese Pharmacopoeia Standard Human
Chorionic Gonadotrophin (9th, Control 741)

Jiro KAWAMURA, Hiroshi SATO, Toshio KIMURA and Kazuko MITANI

The Japanese Pharmacopoeia Standard Human Chorionic Gonadotrophin (9th, Control 741) was prepared and assayed against to 2nd International Standard by rat ovarin weight method. The potency of the new Standard is defined 11.0 international units per ampoule by 10 assays in two laboratories.

(Received May 31, 1976)

日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン (HCG) の検定に用いる標準品は、昭和31年に第1回を製造¹⁾して以来、8回のロットの更新が行なわれてきた。第3回までは妊婦尿を入手し、HCGを抽出、精製したが、第4回以後は1mgが1,000単位前後の原末を購入し原料としてきた。いずれの場合も原料に乳糖を加えて1mgが10単位前後になるよう希釈し、標準品としている。ちなみに第8回までの標準品の力価等をTable 1に示す。

49年8月に、第8回標準品 (Control 711) の在庫が僅少となったため、新ロットによる標準品を製造することとし、その準備に着手した。新標準品を製造するに当っては次の2点を考慮した。第1に、従来原末をそのまま乳糖で希釈していたのを改め、溶液状態で混合したのを凍結乾燥し、製品の均一性を高めること、第2は、検定の精度を向上させるため当所以外の試験機関に協力を求めることである。

このため、ホルモン原末を供給されている三共ゾーキ株式会社に協力を依頼し、計10回の検定を行ない、新標準品の力価を11.0単位/mgと定めることができた。

実験方法および結果

1. 標準品原料：三共ゾーキ株式会社から昭和49年9月に購入した。同社による自家試験成績はつぎのとおりである。

外観 淡い茶色の粉末

卵胞ホルモン 陰性

力価 1160 国際単位/mg

2. 希釈粉末の調製：乳糖 (キンダ化学製、試薬特

級) 55g を蒸留水 1500 ml に溶かした液に、原料 850 mg を加えて溶かす。この溶液を 500 ml ずつ3個のステンレス製皿に分け、凍結し、一定の真空度まで減圧してから18時間凍結乾燥する。乾燥物を混合し、五酸化リンデシケーター中で3日間さらに減圧乾燥したのち、アンプルに1管当たり約 110 mg を量り入れ、融封し、標準品とした。

3. 単位の検定：昭和49年12月から50年3月にあたり、当衛生試験所および三共ゾーキ株式会社品川工場においてそれぞれ5回の検定を行なった。検定方法は第八改正日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法に従いがい、幼若ラットの卵巣重量増加法により行なった。ただし三共ゾーキ株式会社においては、標準品および試料をそれぞれ3用量ずつで行なり、いわゆる3-3用量検定を採用した。

対照とした標準品は、第2回国際標準品で 5300 国際単位/アンプル²⁾である。

動物は生後3週令 (体重 40 g ~ 50 g) のラットを日本医科学動物資材³⁾から購入し、納入の翌日から実験に供した。注射量は1匹当たり1日1回 0.5 ml ずつとし、5日間の投与量の合計 2.5 ml 中の全単位数または mg 数により力価の計算を行なった。

4. 実験結果：Table 2 に示すように、新標準品の力価の測定値は 9~14 単位/mg の範囲に分散した。 χ^2 検定の結果から、5% の危険率ではこの10回の測定値の分散の均一性は否定されたが、1% 水準では否定し得なかったため、10回の測定値の加重平均力価を算出し、11.05 単位/mg を得た。

以上の結果から日本薬局方標準品胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (第9回) の力価は、11.0 国際単位/mg

Table 1. Potencies of the 1st-8th HCG Standard Preparations of Japanese Pharmacopoeia

batch	date issued	Control No.	Potency (iu/mg)	prepared amount (ampoules)
1	1956. 3. 30	1956	11.0	90
2	1958. 3. 31	1957	7.7	110
3	1962. 2. 15	961	10.9	52
4	1963. 4. 30	621	10.8	80
5	1963. 10. 15	631	8.3	164
6	1965. 12. 25	661	9.7	284
7	1970. 9. 21	701	8.8	132
8	1972. 1. 10	711	9.4	155

Table 2. Combined Results of the Assays for HCG Standard Preparation

No.	Lab.	Potency u/mg	Log Potency M	L	w (4t ² /L ²)	wM	wM ²	1/w
1	A	10.7	1.1685	0.1886	455.44	532.18	621.85	0.002196
2	A	9.12	0.9602	0.1906	455.93	428.18	411.14	0.002243
3	A	14.2	1.1516	0.1928	435.81	501.88	577.97	0.002295
4	A	10.7	1.0286	0.2448	270.33	278.06	287.01	0.003699
5	A	11.1	1.0464	0.2424	275.71	288.50	301.89	0.003627
6	B	9.35	0.9708	0.1960	420.61	408.33	396.41	0.002378
7	B	10.1	1.0043	0.1480	737.76	740.94	744.12	0.001356
8	B	11.4	1.0569	0.1870	462.12	488.42	516.21	0.002164
9	B	10.7	1.0294	0.3970	102.53	105.55	108.65	0.009753
10	B	10.2	1.0086	0.2486	260.64	262.88	265.14	0.003837
Total					3,866.88	4,034.92	4,229.39	

$$\begin{aligned} \text{Approximate } \chi^2_M &= \sum (wM^2) - (\sum^2 wM / \sum w) \\ &= 4229.39 - 4210.26 \\ &= 19.13 > 16.92 \quad (p=0.05, \text{ d.f.}=9) \\ &< 21.7 \quad (p=0.01, \text{ d.f.}=9) \end{aligned}$$

$$\bar{M} = \sum (wM) / \sum w = 1.0435$$

$$\text{Antilog } \bar{M} = 11.05 \text{ (units/mg)}$$

$$L_{\text{combined}} = 0.081 \text{ (95\% confidence limit: 10.1-12.1 units/mg)}$$

と決定した。この標準品は Control 74 シリーズとし、昭和50年5月に Control 741 として配布を開始した。

終りに HCG 原料の供給ならびに検定に協力いただいた三共ゾーキ株式会社に感謝します。

文 献

- 1) 長沢佳熊ら：衛生試報，75，221 (1957)
- 2) D.R. Bangham, B. Grab: *Bull. Wld. Hlth Org.* 31, 111 (1964)

日本薬局方へパリンナトリウム標準品
(粘膜性, Control 731) 制定のための共同検定

川村次良・木村俊夫・徳永裕司・横田椅江

Collaborative Assay for Establishment of the Japanese Pharmacopoeia
Standard Heparin Sodium (mucosal origin, Control 731)

Jiro KAWAMURA, Toshio KIMURA, Hiroshi TOKUNAGA and Isue YOKOTA

The Japanese Pharmacopoeia Standard Heparin Sodium prepared from porcine intestinal mucosa (Control 731) was established in collaboration with four laboratories by the method of Japanese Pharmacopoeia. Mean potencies were both 1435 in terms of 2nd and 3rd International Standards respectively and 1505 units in terms of JP standard prepared from bovine lung (Control 671). We defined that the potency of the Standard of mucosal origin is 1450 units per ampoule and distribute it from April 1974. Protamine neutralizing capacity of the Standard was also tested. One milligram of protamine sulfate was neutralized by 0.751 mg of the new Standard, instead of 0.721 mg of the lung standard.

(Received May 31, 1976)

我が国の公定書にへパリンナトリウムが最初に収載されたのは、第2改正国民医薬品集¹⁾であり、その中では同時に標準品も規定された。実際にこの標準品が当国立衛生試験所から配布されるようになったのは昭和32年からであり、第1回の標準品の検定に関する資料が報告されている²⁾。以来、7回の標準品ロットの作り換えが行われてきたが、昭和43年から配布していたロット (Control 671~673) の在庫が僅少になったため、昭和48年5月に新標準品製造のための準備を開始した。

近年、へパリンナトリウムは、ブタ、ヒツジなどの腸粘膜から製造された製品が市場の主流を占めるようになったので、標準品の起原も腸粘膜製のものに切り換えることとした。

新標準品を確立するに当たっては、標準品起原の切り換えによって生ずるかも知れない混乱を最少限にするためと、検定場所、実験者などによる誤差を考慮して、当所を含め4個所の試験機関による共同検定を行なうこととした。

さらに、日局硫酸プロタミンの抗へパリン試験の標準品としても用いられることを考慮し、硫酸プロタミンの中和力をも検討した。

共同検定には、武田薬品工業株式会社大阪工場、株式会社ミドリ十字中央研究所、清水製薬株式会社の3社に参加を依頼した。

共同検定に用いる試料を昭和48年5月に参加各機関に配布し、同年秋に実験結果を集計、49年3月、新標

準品の単位を1管当たり1450単位と定め、配布を開始した。

1. 実験試料

1.1. 日局標準品 (Control 671) (A) : ウン肺から製造したもの。141日局単位 (国際単位)。

1.2. 新標準品原料(B) : 大洋漁業株式会社とくに依頼し、ブタ腸粘膜から製造したもの。窒素含量は2.37% (セミマイクロケルダール法)、旋光度 $[\alpha]_D^{23}$ は 45.6° (水)、アセチル基含量 1.26%³⁾ であった。本品を 1 ml 中に 8 mg を含むように蒸留水に溶かし、1 ml ずつアンブルに分注したのち、凍結乾燥した。

1.3. 第2回国際標準品 (C) : 130 国際単位/mg⁴⁾。ウン肺製。1958年から1973年までの間国際標準品として用いられた。

1.4. 第3回国際標準品 (D) : 1371 国際単位/アンブル⁵⁾。ブタ腸粘膜製。1973年から現在まで用いられている。

1.5. ウン肺製へパリン (E) : この共同検定のためにとくに大洋漁業株式会社に依頼し調製したもの。

1.6. 硫酸プロタミン : 日本薬局方硫酸プロタミン標準品

2. 実験方法

2.1. 検定方法は第八改正日本薬局方へパリン定量法および硫酸プロタミンの抗へパリン試験によった。ただし、牛血液採集の際に加える硫酸ナトリウム溶液の濃度は 18 w/v% (無水物換算 8 w/v%) とする。

2.2. 標準品と試料の組合わせについては、B対Aお

Table 1. Potency of New Heparin Standard in Terms of A, C and D

Laboratory	1			2			3		
Standard used	units/ amp	L value	B1*	units/ amp	L value	B1*	units/ amp	L value	B1*
A	1522	0.033	1	1361	0.021	1	1558	0.023	1
	1528	0.028	1	1366	0.011	1	1488	0.040	1
	1525	0.034	2	1338	0.015	2	1432	0.026	1
	1482	0.030	2	1338	0.009	2	1568	0.023	2
	1598	0.021	3	1361	0.022	3	1508	0.023	2
	1589	0.022	3	1417	0.017	3	1536	0.024	3
	1534	0.024	4				1543	0.027	3
	1504	0.021	4						
	1591	0.024	5						
	1587	0.026	5						
	1615	0.024	5						
	1564	0.026	5						
	1610	0.024	5						
	1581	0.026	5						
C	1398	0.026	1	1312	0.020	1	1411	0.033	1
	1449	0.035	1	1370	0.013	1	1401	0.026	1
	1432	0.032	1	1317	0.016	2	1463	0.024	1
	1473	0.028	1	1334	0.010	2	1472	0.034	2
	1429	0.029	2	1366	0.014	3	1529	0.027	2
	1444	0.031	2	1390	0.020	3	1626	0.056	3
	1419	0.034	2				1498	0.026	3
	1424	0.030	2						
	1511	0.028	3						
	1545	0.021	3						
D	1405	0.026	1	1331	0.013	1	1383	0.030	1
	1470	0.035	1	1339	0.013	1	1258	0.028	1
	1444	0.029	2	1331	0.011	2	1467	0.029	1
	1457	0.031	2	1323	0.015	2	1414	0.026	2
	1493	0.021	3	1342	0.018	3	1547	0.046	2
	1502	0.022	3	1370	0.019	3	1461	0.084	3
	1525	0.028	3				1459	0.025	3
	1494	0.021	3						
	1444	0.024	4						
	1442	0.021	4						
	1475	0.017	5						
	1481	0.016	5						
	1497	0.017	5						
	1476	0.016	5						
	1499	0.017	5						
1475	0.016	5							

* Batch number of blood used in the assay as substrate in each laboratory

A: JP Standard, control 671, Bovine Lung, 141 IU/mg

C: 2nd International Standard, 1958, Bovine Lung, 130 IU/mg

D: 3rd International Standard, 1973, Porcine Intestinal Mucosa, 1371 IU/ampoule

よびB対Dの関係が最も重要と考えられたので、これらの比較を血液のロットを変えて2回ずつ以上、計6回以上の検定を行なう。

2.3. A対Cの関係はAを確立した際に十分検討を行なっているため、とくに検定は行なわない。

2.4. その他の標準品と試料の組合わせについては、各2回以上の検定を行なう。できれば血液ロットを変えて行なう。

3. 実験結果

新標準品原料の力価について、現日局標準品および2種類の国際標準品を対照として求めた結果を Table 1 に示す。測定値の範囲は 1258 単位から 1615 単位とかなり広いことは、測定回数の少ない場合の危険性を暗示している。用いる牛血液による差はこの結果か

らは推定できなかった。その他の試料と標準品の組合せによる検定結果をまとめて Table 2 に示す。

原料の力価は2つの国際標準品を対照とした場合、いずれも平均 1435 単位であった。現日局標準品を対照とした場合は平均 1505 単位であった。

現日局標準品および2種の国際標準品間の相互力価は比較的良く一致していることから、新標準品原料の力価も妥当な単位が得られたものと考えられた。そこでこの原料の力価は 1) 総平均 1459 単位 2) 第3回国際標準品を対照としたときの平均値 1435 単位 3) 現日局標準品を対照としたときの平均値 1505 単位の3つの値、および有効数字を考慮に入れ 1450 単位と決定した。

なお重みつき平均を採用しなかったのは、試験機関

Table 2. Overall Mean Potency of Each Sample

Sample	Laboratory	in terms of						Overall mean	
		A		C		D		Potency	n*
		Potency	n*	Potency	n*	Potency	n*		
B	1	1559	14	1452	10	1474	16	1498	40
	2	1364	6	1348	6	1339	6	1350	18
	3	1519	7	1486	7	1427	7	1477	21
	av.	1505	27	1435	23	1435	29	1459**	79
E	1	129.4	6	122.5	10	122.9	8	124.3	24
	2	145.3	6	144.6	6	144.9	6	144.9	18
	3	133.2	7	130.9	7	127.8	7	130.6	21
	av.	135.8	19	130.8	23	130.8	21	132.3***	63
A	1	/	/	133.9	4	133.2	4	133.5	8
	2	/	/	139.0	6	135.6	6	138.8	12
	3	/	/	138.8	7	135.3	7	137.1	14
	av.	/	/	137.7	17	136.0	17	136.9***	34
C	1	137.1	4	/	/	130.4	6	133.1	10
	2	131.9	6	/	/	129.4	6	130.7	12
	3	132.5	7	/	/	124.6	7	128.6	14
	av.	133.4	17	/	/	128.0	19	130.5***	36
D	1	1451	4	1368	6	/	/	1401	10
	2	1395	6	1381	6	/	/	1388	12
	3	1432	7	1432	7	/	/	1432	14
	av.	1424	17	1396	19	/	/	1409**	36

* Numbers of assays ** Units per ampoule *** Units per milligram

A, C and D: See footnote of Table 1

B: Porcine mucosal heparin prepared for new JP standard

E: Bovine lung heparin

Table 3. Amounts of Various Heparins (mg) which are Neutralized by 1 mg of Protamine Sulfate

Sample	A	B	C	D	E
Lot of blood					
No. 1	0.724*	0.754	0.663	0.648	0.709
No. 2	0.724	0.749	0.656	0.645	0.697
No. 3	0.714	0.751	0.660	0.639	0.697
Mean	0.721	0.751	0.660	0.644	0.701

A, B, C, D and D: See footnote of Table 1 and 2

* Each figure is the average value of three observations

の差による若干のかたよがりが見られたからである。

ウシ肺ヘパリン(E)の検定値の分散の大きい原因は不明であるが、試料そのものの不均一性の可能性も考えられる。将来、肺製のヘパリン標準品が必要となった場合にこのEを原料として用いる考えであるけれども、その際再度の検討が必要であろう。

新標準品原料のプロタミン中和力は、Table 3 に示すように現標準品と著しい差がなかったので、日局硫酸プロタミンの抗ヘパリン試験に用いたとしても混乱は起らないものと考えられる。

以上の結果から、新標準品原料Aを日局ヘパリンナトリウム標準品として適当であると認定し、その力価を 1450 単位/アンブルと定め、49年4月より配布を開始した。

終りに、快く共同検定に協力いただいた武田薬品工業株式会社大阪工場品質管理部、株式会社ミドリ十字中央研究所、清水製薬株式会社製造部およびとくに原料等の製造を引き受けられた大洋漁業株式会社横須賀工場に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 第2改正国民医薬品集, P.324 (1955), 厚生省版
- 2) 長沢佳熊ら：衛生試報, 75, 207 (1957)
- 3) 徳永裕司ら：医薬品研究, 7, 483 (1976)
- 4) D.R. Bangham, M.V. Mussett: *Bull. Wld Hlth Org.*, 20, 1201 (1959)
- 5) D.R. Bangham *et al.*: *Bull. Wld Hlth Org.*, 42, 129 (1970)

シアノコバラミン標準品の乾燥減量について
—特に吸光度測定法の定量値への影響—

太田美矢子・木村俊夫・川村次良

Loss on Drying of Cyanocobalamin Reference Standard
—Particularly Influence on Found Values of the Spectrophotometry—

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

Conditions for equalization of water contents in individual ampoules of cyanocobalamin reference standard were investigated. As the result, a method of use of cyanocobalamin reference standard after drying at room temperature (16 hrs) or 60° (8 hrs) under reduced pressure over P_2O_5 is proposed, in stead of J.P. method in which found value is converted to a dry basis.

(Received May 31, 1976)

日本薬局方は第八改正から、シアノコバラミンの乾燥減量が、(0.05 g, 5 mmHg 以下, 五酸化リン, 100°, 4 時間) と規定され、その定量法は試料および標準品につき未乾燥物の吸光度を測定し、その値を上記乾燥減量を用いて無水物に換算する方法を採用している。しかし、本所で配布している標準品は、アンプル中に 0.02 g 充填しているので、あらかじめ乾燥減量を表記して参考に供している。従ってこの標準品の個々のアンプルについて、水分が均一に含まれているように充填しなければならぬことは当然である。そのため、従来は湿度の低いときを選んでアンプル充填を行ってきたが、実際に大気中の湿度の影響をうけるかということを知るために、種々の湿度にシアノコバラミンを置いたときの水分量の変動を調べた。また、シアノコバラミン標準品には、乾燥減量を表記しないで、一定条件のもとに乾燥したものをを用いて定量する方法についても検討したので報告する。

試料および実験方法

1. 試料および試薬

シアノコバラミン標準品 (日本薬局方標準品) Control 731, Control 732 および Control 751. 他の試薬については、市販の特級品を用いた。

2. 使用した機器

真空加熱乾燥機 (前田製作所製)
デジタル微量水分測定装置 (平沼産業製, AQ-1 型)

分光光度計 (島津 QV-50 型)

3. 各種塩飽和溶液 (20° における相対湿度)

塩化亜鉛飽和溶液 (10%)

酢酸カリウム飽和溶液 (20%)

塩化カルシウム飽和溶液 (32%)

重クロム酸カリウム飽和溶液 (52%)

臭化カリウム飽和溶液 (84%)

4. 乾燥減量の測定とシアノコバラミンの定量

シアノコバラミン (Control 751) 約 20 mg を直径 0.5 cm, 長さ 5 cm のアンプル管にとり、その重量を量ったのち、各乾燥条件で一定時間放置し、再び重量を量ってその減量を求めた。つぎにアンプル中のシアノコバラミンを 100 ml のメスフラスコに水で洗いこみ、さらに水を加えて溶かし、100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、水を加えて正確に 100 ml とする。この液につき、波長 361 nm における吸光度を測定し、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (361 nm) を 207 として定量した。また、278 nm, 550 nm における吸光度を測定し、361 nm に対する吸光比を求めた。

5. 水分の測定

用いた装置は電量滴定を応用した水分測定装置である。試料は約 10~20 mg を用い、抽出時間、2 分および待ち時間 20 秒という条件で測定した。

実験結果および考察

室温におかれたデシケーター (減圧, 五酸化リン) の中で、4 時間乾燥後、一夜放置したシアノコバラミン標準品 (Control 731) を各種塩溶液を入れたデシケーターに 24 時間放置したのち、水分測定装置を用い、その水分量を測定した。その結果を Fig. 1 に示す。なお、五酸化リン, 減圧, 室温, 4 時間乾燥直後の水分は 2.7% であった。

Fig. 1 より明らかなように、シアノコバラミンの含

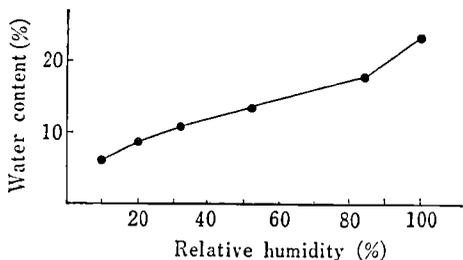


Fig. 1. Relationship between water contents of cyanocobalamin and relative humidity.

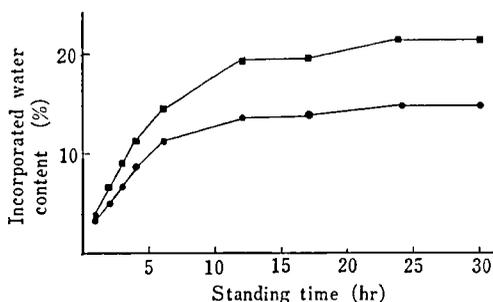


Fig. 2. Relationship between incorporated water contents in dried cyanocobalamin and standing time in different relative humidity.

Relative humidity: ●—● 52%
■—■ 84%

水量は、各種塩飽和溶液の相対湿度にほぼ比例し、相対湿度が 20%, 52%, 84% と増加するにしたがって、水分も 8.6%, 13.5%, 18.1% と増加した。しかも、水を入れたデシケーター (相対湿度 100%) の場合には、23.6% もの大量の水分が吸収された。

次に、室温でデシケーター (減圧, 五酸化リン) の中で 24 時間乾燥したシアノコバラミン標準品 (Control 751) を、重クロム酸カリウム飽和溶液を入れたデシケーター (相対湿度 52%) と臭化カリウム飽和溶液を入れたデシケーター (相対湿度 84%) の中にそれぞれ放置し、放置時間に対する乾燥したシアノコバラミン標準品の吸水量の変化を調べた。その結果を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 で明らかなように、両デシケーター中の標準品は、いずれも 6 時間放置まではほぼ直線的に吸水し、6 時間で全吸水量の 70% の水分を吸収した。さらに 12 時間以上放置するとき、各吸水量はほぼ一定となった。したがって、シアノコバラミン標準品のよう

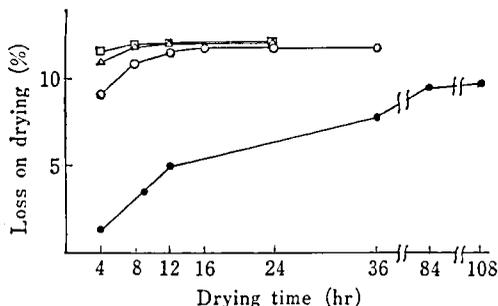


Fig. 3. Loss on drying of cyanocobalamin dried under the various drying conditions at constant intervals.

Drying conditions:

- P_2O_5 , Room temperature
- P_2O_5 , Room temperature, Reduced pressure
- △—△ P_2O_5 , 60°, Reduced pressure
- P_2O_5 , 100°, Reduced pressure

に乾燥減量を一定にしたい場合には、大気中の湿度を考慮してアンプルへ量り込み、封入する操作を注意深く行なう必要がある。この場合、シアノコバラミンが量り込まれたアンプルを一たん低い水分量を含む状態にしてから、一定の相対湿度のデシケーターの中に放置したのち、そのアンプルを封じることが有効であると考えられる。

次に種々の各条件下で乾燥したときのシアノコバラミン (Control 751) の乾燥減量を乾燥時間に対してプロットしたのが Fig. 3 である。ただし、あらかじめ求めておいたこの試料の水分は 11.8% であった。(Table 1 の C 参照)

Fig. 3 から明らかなように、乾燥剤として五酸化リンを用い、室温に放置した場合は、徐々に乾燥減量が増加し、3.5 日で恒量に達したが、水分測定値の 11.8% より 2% 少なかった。また乾燥剤として五酸化リンを用い、真空ポンプで減圧にして、温度を室温、60°, および 100° で恒量となるまで乾燥するとき、それぞれ 16 時間、8 時間および 4 時間を要したが、それぞれの乾燥減量は水分測定値の 11.8% と一致した。

Table 1 には、日本薬局方の乾燥減量測定法で測定した乾燥減量と水分測定装置を用いて測定した水分量との比較を示したが、両者の測定値はよく一致した。

次に、上記のように減圧、五酸化リンを用い、室温、60° および 100° のそれぞれの温度で乾燥減量を測定後、その試料につきシアノコバラミンの定量を行なった。結果を Table 2 に示す。ただし含量 (%) は

Table 1. Comparison of water contents by KF Method and loss on drying of cyanocobalamin

Sample	Methods	Water contents (KF Method)	Loss on drying (100°, red. press., 4 hrs)
A		9.9%	9.7%
B		11.6%	11.3%
C		11.8%	11.7%

KF Method: Karl Fisher Method

Table 2. Assay of cyanocobalamin dried under the various drying conditions

Drying time (hrs)	Drying conditions	P ₂ O ₅ Room temperature Reduced pressure	P ₂ O ₅ 60° Reduced pressure	P ₂ O ₅ 100° Reduced pressure
0 (undrying)			100.3%	
4		—	100.7%	100.1%
8		—	100.3%	99.7%
12		—	99.8%	99.4%
16		100.2%	—	—
24		99.9%	99.9%	99.5%

All found values were converted to a dry basis by water content (11.8%) of the samples

Table 3. Assay of cyanocobalamin reference standard

Control number	Found Values	A ₁ /A ₂	A ₃ /A ₂
Control 731	100.2%	0.53	0.31
Control 732	100.0%	0.54	0.31

A₁: E_{1cm}^{1%} (278 nm). A₂: E_{1cm}^{1%} (361 nm). A₃: E_{1cm}^{1%} (550 nm)

別に求めた水分量 11.8% から無水物に換算した値である。この結果からは、五酸化リン、減圧、室温または 60° で乾燥した場合には、24 時間乾燥しても吸光度の変化はなく、また、日本薬局方に採用されているデシケーター（五酸化リン、減圧）の中で 4 時間加熱する方法では乾燥した試料でも吸光度に変化なく、その定量値は未乾燥物の吸光度を測定し、無水物に換算して得た定量値と一致した。しかし、この条件で 8 時間、12 時間、24 時間と乾燥時間を長くするとき、わずかに吸光度が減少する傾向があるようである。しかも、100° に加熱した試料は未乾燥物よりも水に溶けにくくなり、このことは乾燥時間が長くなるにしたがって大きくなる傾向がある。

Table 3 には、同原料でアンプル充填したときの異

なるシアノコバラミン標準品 (Control 731, Control 732) の定量値とその吸光比を示した。Control 731 は 1974 年 1 月、Control 732 は 1976 年 5 月に定量したが、この結果からシアノコバラミンは粉末で保存した場合には、2 年 4 カ月経過してもなんら経時変化を認めなかった。

結 論

シアノコバラミンは、特に乾燥状態にした場合、大気中の湿度によって大きく影響を受ける。そのためシアノコバラミン標準品のように、各アンプル中の標準品の乾燥減量を一定にしなければならない場合には、アンプルへの量り込みおよび封入する操作は、大気中の湿度を考慮して注意深く行なう必要がある。また、

日本薬局方の方法で乾燥後、定量しても定量値への影響がほとんどないことを明かにした。しかし、8時間以上の加熱では定量値が減少する傾向があるので、シアノコバラミン標準品はデシケーター（減圧、五酸化

リン、60°）で8時間またはデシケーター（減圧、五酸化リン、室温）で16時間乾燥したのち、使用することを提案する。

インシュリンに関する資料（第9報）
日局“インシュリン標準品（741）”について

佐藤 浩・木村俊夫・三谷和子・横田椅江・小林熊夫・川村次良

On the Insulin IX
On the Japanese Pharmacopoeia Standard “Insulin Standard (741)”

Hiroshi SATOH, Toshio KIMURA, Kazuko MITANI, Isue YOKOTA,
Kumao KOBAYASHI and Jiro KAWAMURA

The Japanese Pharmacopoeia Standard, “Insulin Standard (741)”, was prepared. The biological potency was determined by bioassay according to J.P. VIII, compared with the Fourth International Standard for Insulin (1958).

Biological potency: 24.5 units per mg.

Nitrogen: 6.65 mg per 1,000 units.

Zinc: 0.28 mg per 1,000 units.

Loss on drying: 3.9%.

From these data, this material was authorized as “Insulin Standard (741)”.

(Received May 31, 1976)

インシュリン製剤の定量法（Bioassay）に用いられる日局インシュリン標準品を製造したので、その試験結果を報告する。

原料：ブタ結晶インシュリン（Connaught Medical Research Laboratories 製，Lot 1164）

試薬：第4次国際インシュリン標準品（1958，24 I.U./mg, for Bioassay）

試験方法：特に記載しない限り，第八改正日本薬局方の方法によった。

試験成績

Table 1. Data from Bioassay of the Insulin Standard (741)

Exp. No.	N	T _a	T _b	M'	L	w	wM'
5	24	22	-542	-0.0112	0.1306	1020.38	-12.449
10	24	-7	-635	0.0033	0.1204	1200.59	3.962
11	24	-80	-804	0.0300	0.1082	1486.60	44.598
12	24	-112	-764	0.0441	0.1072	1514.46	66.788
13	24	-75	-843	0.0268	0.0812	2639.59	70.741
16	24	-22	-720	0.0092	0.1250	1113.85	10.247
17	24	-74	-778	0.0286	0.0812	2639.59	75.492

Combined Results

Potency (weighted mean)
24.5 units per mg

95% Limits
22.96-26.19 units per mg

- 1 力価¹²⁾: 1 mg 当り 24.5 単位
 - 2 窒素量: 1,000 単位当り 6.65 mg
 - 3 亜鉛含量: 1,000 単位当り 0.28 mg
- ただし、アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液およびエリオクロムブラック T 指示薬を用いた。
- 4 乾燥減量: 3.9% (105°, 減圧, 8 時間)
- 以上の試験成績から、この原料が日本薬局方標準品

として適すると判定し、日局インシュリン標準品(741)とした。

文 献

- 1) 長沢佳熊, 佐藤浩, 白井浄二: 衛生試報, 75, 419 (1957)
- 2) 佐藤浩, 小林熊夫, 川村次良: 衛生試報, 91, 58 (1973)

国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “ジギトキシン標準品”について

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Digitoxin Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was for the preparation of the Digitoxin Reference Standard that the material of digitoxin was tested. This material was examined by means of the thin-layer chromatography, the infrared spectrum, the optical rotation, and the loss on drying. The content per cents of the related substances in the International Chemical Reference Substance (ICRS), the British Pharmacopoeia Standard (BP), and the material, were 0.035%, 0.055%, and 0.07%, respectively. The content per cents of digitoxin in ICRS, BP, and the material, were 100.00%, 100.48%, and 99.98%, respectively, by the colorimetric determination with the ferric chloride. Their content per cents of digitoxin were 100.00%, 99.81%, and 99.51%, respectively, with the picric acid. From the analytical data, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1976)

第九改正日本薬局方 (J.P. IX) ジギトキシンの確認試験および定量法, J.P. IX ジギトキシン錠の純度試験および定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) ジギトキシン標準品を製造したので、その試験成績を報告する。

- 1) 原料: サンド薬品株式会社より購入した。
- 2) 試薬: 国際化学参照物質 (Control No. 167010) 英国薬局方標準品 (Batch No. 516)
- 3) 試験方法

i) 旋光度試験, 乾燥減量試験および薄層クロマトグラフ法は、第八改正日本薬局方 (J.P. VIII) ジギトキシンの方法により、融点 (分解点) 測定法および赤外吸収スペクトル測定法は、J.P. VIII 一般試験法によった。

ii) 発けい光性類緑物質試験

J.P. VIII ジギトキシンの純度試験の方法を準用した。

iii) 定量法—I

アルカリ性ピクリン酸溶液: ピクリン酸 1g を熱湯 100ml に溶かして冷却した溶液 20ml および水酸化ナトリウム溶液 (1→20) 10ml を混和し、水を加えて 100ml とする。この液は、調製後、2日間以内に使用する。

定量操作: 本品および国際化学参照物質を 100° で 2時間減圧乾燥し、その約 20mg を精密に量り、エタノールを加えて正確に 100ml とする。この液 10ml を正確に量り、エタノールを加えて正確に 50ml とし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 5ml を正確に量り、30ml の三角フラスコに入れ、アルカリ性ピクリン酸溶液 3ml およびエタノール 2ml を加え、よく振り混ぜたのち、20° にて 30分間ときどき振り混ぜながら放置する。波長 495nm における吸光度 A_T および A_S を測定する。対照

には、エタノール 5ml を用い、同様に操作したものを使用する。

ジギトキシンの量 (mg) = 国際化学参照物質の量 (mg) × A_T/A_S

iv) 定量法—II

酸性塩化第二鉄試液：塩化第二鉄 9g に水を加えて溶かして 100 ml とした溶液 1 ml に氷酢酸 60 ml および硫酸 5ml を加えて調製する。

定量操作：本品および国際化学参照物質を 100° で 2 時間減圧乾燥し、その約 20 mg を精密に量り、エタノールを加えて正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、エタノールを加えて正確に 100 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 5ml ずつを正確に量り、それぞれ別の三角フラスコに入れ、水浴上で空気を送りながらほとんど蒸発乾固し、デシケーター（減圧、五酸化リン）に 15 分間放置する。これに酸性塩化第二鉄試液 5ml ずつを正確に加え、しばしば振り混ぜ、30° 以下でしゃ光して 10 分間放置する。ここに得た液につき、波長 590 nm における吸光度 A_T および A_S を 2 分間ごとに測定し、それぞれの最大値を求める。対照には、酸性塩化第二鉄試液を用いる。

ジギトキシンの量 (mg) = 国際化学参照物質の量 (mg) × A_T/A_S

4) 試験成績

i) 性状：白色の結晶性粉末、においてはない。

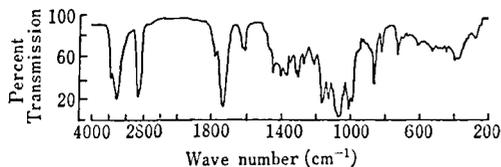


Fig. 1. Infrared spectrum of Digitoxin

ii) 赤外吸収スペクトル

原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

iii) 旋光度

$[\alpha]_D^{20} = +16.9^\circ$ (乾燥後, 0.2 g, クロロホルム, 10ml, 100mm)

iv) 融点 (分解点) : 245.6°

v) 乾燥減量 : 0.68% (0.2 g, 減圧, 100°, 2 時間)

vi) 薄層クロマトグラフ法

原料, 国際化学参照物質 および英国薬局方標準品 100 μ g をスポットし, J.P. VIII ジギトキシンの薄層クロマトグラフ法にしたがい展開したのち, 希硫酸を用いて発色させる。長波長紫外線 (366 nm) の照射下にてけい光部分の観察を行なった。その結果を Fig. 2 に示す。

vii) 発けい光性類縁物質

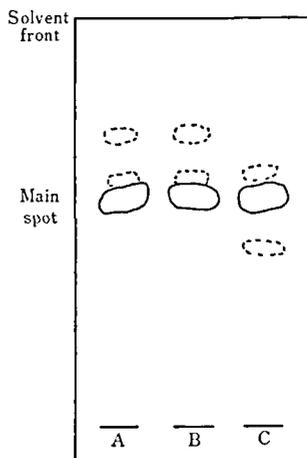


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Digitoxin The International Chemical Reference Substance (A), the British Pharmacopoeia Standard (B), and the material (C)

Table 1. The content per cents of digitoxin obtained from the Determination-I and the Determination-II

	Determination-I*	Determination-II**
Material	99.51	99.98
ICRS	100.00	100.00
BP	99.81	100.48

ICRS: International Chemical Reference Substance

BP: British Pharmacopoeia Standard

* Determination-I: Colorimetric determination with the picric acid

** Determination-II: Colorimetric determination with the ferric chloride

原料, 国際化学参照物質および英国薬局方標準品の測定結果を, それぞれの含量%を用いて求めたところ, 0.07%, 0.035%, および 0.055% であった。

viii) 定量結果

定量法—Iおよび定量法—IIでの測定結果を Table 1 に示す。

結 論

標準品原料として入手したジギトキシンを国際化学参照物質および英国薬局方標準品と比較検討を行なっ

た。発けい光性類縁物質の試験において, 国際化学参照物質 0.035% に比べ標準品原料は, 0.07% と多いことがわかった。国際化学参照物質に対してピクリン酸を用いる定量法—Iにおいて 99.51% および塩化第二鉄を用いる定量法—IIでは 99.98% であった。分析結果より, この標準品原料を国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品)として認めた。

終りに, 標準品の製造にあたって協力いただいたサンド薬品株式会社, 英国薬局方コミッションおよびWHO 化学参照物質センターに感謝します。

国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品) “ラナトシドC標準品”について(第二報)

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard

(the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Lanatoside C Reference Standard” (II)

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was for the preparation of the Lanatoside C Reference Standard that the material of lanatoside C was tested. This material was examined by means of the thin-layer chromatography, the infrared spectrum, the optical rotation, the loss on drying, and the melting point. The content per cents of the related substances in the International Chemical Reference Substance (ICRS), the Japanese Pharmacopoeia Standard (JP), and this material, were 0.72%, 3.81%, and 1.01%, respectively. The content per cents of lanatoside C in ICRS and this material were 100.00% and 99.81%, respectively. From the analytical data, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1976)

第九改正日本薬局方(J.P. IX) ラナトシドCの純度試験および定量法, J.P. IX ラナトシドC錠の確認試験および定量法に用いる国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品) ラナトシドC標準品を製造したので報告する。

- 1) 原料: サンド薬品株式会社から購入した。
- 2) 試薬: 国際化学参照物質(Control No. 167022) 米国薬局方標準品(Control F) 日本薬局方標準品(Control No. 621)
- 3) 試験方法: 特に記載しないかぎり, 第八改正日本薬局方の方法による。

4) 試験成績

- i) 性状: 白色の結晶性粉末で, においはない。
- ii) 赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

iii) 旋光度: $[\alpha]_D^{20} = +32.4^\circ$ (乾燥後, 0.2g, メタノール, 20ml, 100mm)

iv) 融点(分解点): 244.7°

v) 乾燥減量: 1.6% (0.2g, 減圧, 五酸化リン, 60° , 4時間)

vi) 薄層クロマトグラフ法: 原料, 国際化学参照物質, 米国薬局方標準品および日本薬局方標準品 50 μ g ずつを 1cm 間隔で 1cm の幅に, 薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に, ジクロルメタン・メタノール・水混液(84:15:1)を展開溶媒として約 13cm 展開したのち, 薄層板を風乾する。これに, 希硫酸を均等に噴霧したのち, 110° で 10 分間加熱する。長波長紫外線(366nm)照射下におけるけい光部分の観察を行なう。薄

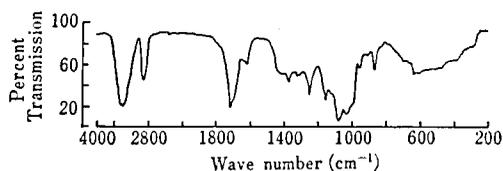


Fig. 1. Infrared Spectrum of Lanatoside C

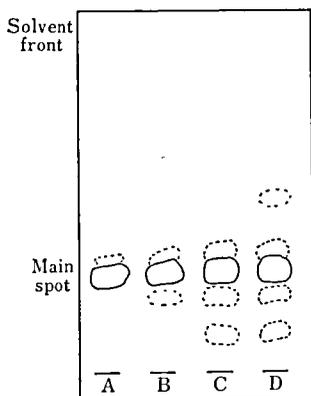


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Lanatoside C
The International Chemical Reference Substance (A), the material (B), the Japanese Pharmacopoeia Standard (C), and the USP Reference Standard (D)

層クロマトグラムを Fig. 2 に示す。

vii) 発けい光性類縁物質：第八改正日本薬局方ジゴキシンの純度試験（類縁物質）を準用し，発けい光性類縁物質の試験を，原料，国際化学参照物質および日本薬局標準品について行なった。その結果を，Table

Table 1. The content per cents of the related substances in the International Chemical Reference Substance (ICRS), the Japanese Pharmacopoeia Standard (JP), and the material by means of “Purity” of Digoxin in J.P. VIII

	Content per cent
ICRS	0.72
JP	3.81
Material	1.01

1 に示す。

viii) 定量：99.81%。国際化学参照物質を対照とし，第八改正日本薬局方ラナトシドCの定量法を準用して定量した。ただし，アルカリ性ピクリン酸試液のピクリン酸濃度（1→1000）20ml をピクリン酸濃度（1→100）20ml に改めて用いた。

結 論

標準品原料として入手したラナトシドCを国際化学参照物質，米国薬局方標準品および日本薬局方標準品と比較検討を行なった。

定量試験において，国際化学参照物質に対して，99.81%を与えた。

得られた試験結果より，今回入手した標準品原料が国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）に適した品質を有することを認めた。

終りに，標準品製造にあたって協力いただいたサント薬品株式会社および WHO 化学参照物質センターに感謝します。

国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品)

“ジゴキシン標準品”について

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard
(the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Digoxin Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was for the preparation of the Digoxin Reference Standard that the material of digoxin was tested. This material was examined by means of the thin-layer chromatography, the infrared spectrum, the optical rotation, and the loss on drying. The content per cents of the related substances in the International Chemical Reference Substance (ICRS), the Japanese Pharmacopoeia Standard (JP), and the material, were 0.31%, 0.42%, and 0.32%, respectively. The content per cents of digoxin in ICRS, the British Pharmacopoeia Standard, JP, and the material, were 100.0%, 103.1%, 101.3%, and 100.5%, respectively. From the analytical data, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1976)

第九改正日本薬局方 (J.P. IX) ジゴキシン, J.P. IX ジゴキシン錠および J.P. IX ジゴキシン注射液の純度試験および定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) ジゴキシン標準品を製造したので報告する。

1) 原料: パロースウエルカム社製のジゴキシンを購入した。

2) 試薬: 国際化学参照物質 (Control No. 167011) 英国薬局方標準品 (Batch No. R42) 日本薬局方標準品 (Control No. 622)

3) 試験方法: 特に記載しないかぎり, 第八改正日本薬局方の方法によった。

4) 試験成績

i) 性状: 白色の結晶性粉末で, においはない。

ii) 赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

iii) 旋光度: $[\alpha]_{546.1}^{25} = +20.6^\circ$ (乾燥後, 0.1 g, ピリジン, 10ml, 100mm)

iv) 乾燥減量: 0.2% (0.06 g, 減圧, 105°)

v) 薄層クロマトグラフ法: 原料, 国際化学参照物質, 英国薬局方標準品および日本薬局方標準品 100 μ g ずつを 1cm 間隔で 1cm の幅に, 薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に, クロロホルム・メタノール・ジクロルメタン・水混液 (50:10:39:1) を展開溶媒として約 12 cm 展開したのち, 薄層板を風乾する。これに希硫酸を均等に噴霧したのち, 110° で 10 分間加熱する。長

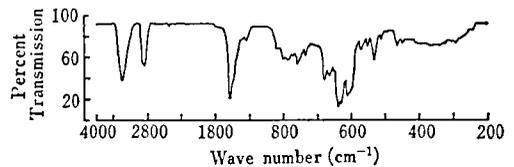


Fig. 1. Infrared Spectrum of Digoxin

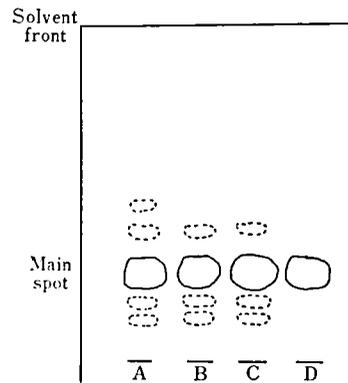


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Digoxin The International Chemical Reference Substance (A), the material (B), the Japanese Pharmacopoeia Standard (C), and the British Pharmacopoeia Standard (D)

Table 1. The content per cents of the related substances in the International Chemical Reference Substance (ICRS), the Japanese Pharmacopoeia Standard (JP), and the material

	Content per cent
ICRS	0.31
JP	0.42
Material	0.32

Table 2. The content per cents of digoxin in ICRS, the British Pharmacopoeia Standard (BP), JP, and the material

	Content per cent
ICRS	100.0
BP	103.1
JP	101.3
Material	100.5

波長紫外線 (366 nm) 照射下におけるけい光部分の観察を行なう。薄層クロマトグラフを Fig. 2 に示す。

vi) 発けい光性類縁物質：原料，国際化学参照物質，日本薬局方標準品について発けい光性類縁物質の試験を行ない，その結果を Table 1 に示す。

vii) 定量：国際化学参照物質を 100% としたときの原料，日本薬局方標準品および英国薬局方標準品の % を求め，その結果を Table 2 に示す。

結 論

標準品原料として入手したジゴキシンを国際化学参照物質，日本薬局方標準品および英国薬局方標準品と比較検討した。定量試験において国際化学参照物質に対して 100.5% を示した。

試験結果より，今回入手した標準品原料が国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）に適した品質を有することを認めた。

終りに，標準品製造にあたって協力いただいたパロースウェルカム社，田辺製薬株式会社，英国薬局方コミッションおよび WHO 化学参照物質センターに感謝します。

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）

“ギトキシシン標準品”について

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Gitoxin Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was for the preparation of the Gitoxin Reference Standard that the material of gitoxin was tested. This material was examined by means of the thin-layer chromatography, the infrared spectrum, the optical rotation, the loss on drying, and the melting point. The content per cents of gitoxin in the British Pharmacopoeia Standard, and the material, were 100.0%, and 98.6%, respectively. From the analytical data, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1976)

第九改正日本薬局方ジゴキシン，ジゴキシン錠およびジゴキシン注射液の純度試験に用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）ギトキシシン標準品を製造したので報告する。

1) 原料：サンド薬品株式会社より購入した。

2) 試薬：英国薬局方標準品 (Batch No. 500) 日本薬局方標準品 (Control No. 622)

3) 試験方法

i) 乾燥減量試験，旋光度試験，融点（分解点）試験および赤外スペクトル法の各試験は，第八改正日本

薬局方の一般試験法の方法によった。

ii) 薄層クロマトグラフ法：原料、英国薬局方標準品および日本薬局方標準品 100 μg ずつを 1 cm 間隔で 1 cm の幅に、薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に、クロロホルム・メタノール・ジクロロメタン・水混液 (50 : 10 : 40 : 1) を展開溶媒として約 10 cm 展開したのち、薄層板を風乾する。これに、アスコルビン酸 20 mg をメタノール 19 ml と塩酸 30 ml の混液に溶解し、更に、30% の過酸化水素水 2.1 μl を加えた溶液を均等に噴霧し、105° で 5 分間加熱する。長波長紫外線 (366 nm) 照射下におけるけい光部分の観察を行なう。

iii) 定量法：原料および英国薬局方ギトキシン標準品を 105° で 1 時間減圧乾燥し、その約 15 mg を精密に量り、メタノール・クロロホルム混液 (1 : 2) を加えて正確に 50 ml とする。この液 5 ml を正確に量り、メタノール・クロロホルム混液 (1 : 2) を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 5 ml ずつを正確に量り、それぞれ別の三角フラスコに入れる。水浴上で空気を送りながら過熱をさけて蒸発乾固する。次に、プロピレングリコール・塩酸混液 (1 : 2) 10 ml を正確にそれぞれの三角フラスコに加え残留物を溶解させる。30° でしばしば振り混ぜながら 30 分間放置する。ここに得た液につき、プロピレングリコール・塩酸混液 (1 : 2) を対照として、波長 358 nm における吸光度 A_T および A_S を測定する。

ギトキシンの量 (mg) = 標準品の量 (mg) $\times A_T / A_S$

4) 試験成績

i) 性状：白色の粉末で、においはない。

ii) 赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

iii) 旋光度： $[\alpha]_D^{25} = +25.2^\circ$ (乾燥後, 0.05 g, メタノール・クロロホルム混液 (1 : 1), 25 ml, 100 mm)

iv) 乾燥減量：0.12% (減圧, 105°, 1 時間)

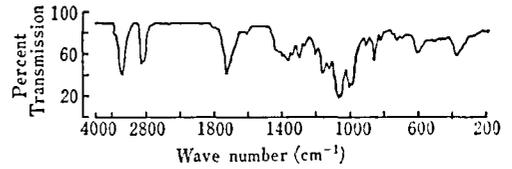


Fig. 1. Infrared Spectrum of Gitoxin

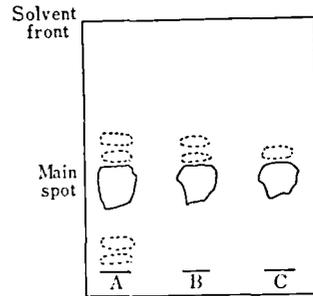


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Gitoxin The Japanese Pharmacopoeia Standard (A), the material (B), and the British Pharmacopoeia Standard (C)

v) 融点 (分解点)：259.5°

vi) 薄層クロマトグラムを Fig. 2 に示す。

vii) 定量：98.6%

結 論

標準品原料として入手したギトキシンを英国薬局方標準品および日本薬局方標準品と比較検討した。定量試験において、英国薬局方標準品に対して、98.6%の値を与えた。得られた試験結果より、今回入手した標準品原料が国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた。

終りに、標準品の製造にあたって御協力いただいたサンド薬品株式会社および英国薬局方コミッションに感謝します。

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）
“エストラジオール標準品”について

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard
(the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Estradiol Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

It was for the preparation of the Estradiol Reference Standard that the material of estradiol was tested. This material was examined by means of the thin-layer chromatography, the infrared spectrum, the optical rotation, the loss on drying, and the melting point. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (281 nm) was 75.0. From the analytical data, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1976)

第九改正日本薬局方 (J.P. IX) エストラジオールの純度試験および J.P. IX エストラジオール水性懸濁注射液の純度試験に用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）エストラジオール標準品を製造したので報告する。

- 1) 原料：帝国臓器製薬株式会社より購入した。
- 2) 試薬：エストラジオール-17 α は、帝国臓器製薬株式会社より提供を受けた。
- 3) 試験方法：特に記載しないかぎり第八改正日本薬局方 (J.P. VIII) の方法によった。

4) 試験成績

- i) 性状：白色の結晶性粉末で、においはない。
- ii) 赤外吸収スペクトル：エストラジオール標準品の原料およびエストラジオール-17 α の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 および Fig. 2 に示す。

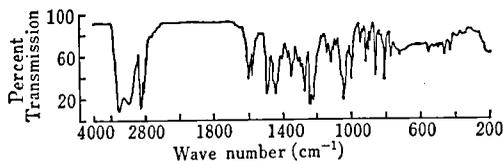


Fig. 1. Infrared Spectrum of Estradiol

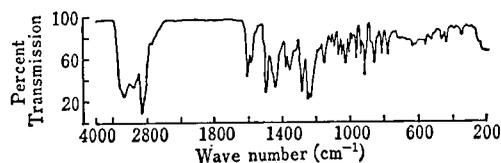


Fig. 2. Infrared Spectrum of Estradiol-17 α

iii) 旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +76.0^\circ$ （乾燥後，0.1 g，ジオキサン，10ml，100mm）

iv) 乾燥減量：0.00%（0.25 g，減圧，五酸化リン，4時間）

v) 融点：178.8°

vi) 薄層クロマトグラフ法：エストラジオール-17 α 10 μg および原料 100 μg および 200 μg を 1 cm 間隔で 1cm の幅に，薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に，ベンゼン・エタノール・アセトン混液（8：1.5：0.5）を展開溶媒として約 10 cm 展開したのち，薄層板を風

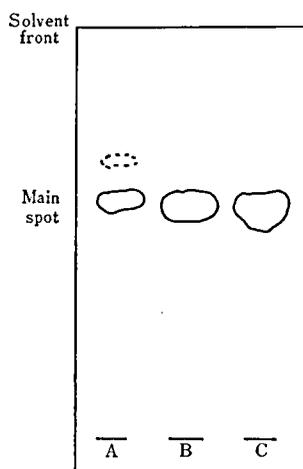


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of estradiol-17 α and estradiol
Estradiol-17 α 10 μg (A), the material of estradiol 100 μg (B), and 200 μg (C).

乾する。これに希硫酸を均等に噴霧したのち、110°で10分間加熱する。長波長紫外線 (366 nm) 照射下におけるけい光部分の観察を行なう。薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。

vii) 定量: $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 75.0$ (281 nm, エタノール, 島津製作所製 QV-50 型分光光度計)

結 論

標準品原料として入手したエストラジオールの試験を行なった結果、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた。

終りに、標準品の製造にあたって協力いただいた帝國機器製薬株式会社に感謝します。

昭和50年度における輸入食品の化学検査について

慶田雅洋・金田吉男・伊藤蒼志男・豊田正武・鈴木英世・西川マチ子
金森孝子・松本陽子・外海泰秀・中村恵三

Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods from April in 1975 till March in 1976

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Yoshio ITO, Masatake TOYODA, Hideyo SUZUKI,
Machiko NISHIKAWA, Takako KANAMORI, Yoko MATSUMOTO,
Yasuhide TONOGAI and Keizo NAKAMURA

Total 468 samples were tested on 1142 items, showing a remarkable increase compared with the previous period. 66.2% of samples were sent from Kobe port, 25.2% from Osaka port, 5.8% from Nagoya port, and the rest samples were sent from Osaka air port, Moji, Kagoshima and Naha ports. No samples came from Hakata port and Fukuoka air port.

Classification of the samples are as follow: brine-cured ginger 116, other vegetable foods 13; citrus fruits (lemon, oranges, grapefruit, lime and kumquat) 155; cheese 23, honey 13, boiled sea urchin 8, other animal products 4; alcoholic beverages (wines, champagne perry and sherry) 63; soft drinks 2, Korean ginseng drink 3; cookies and short cakes 18; Japanese soy sauce 1; food additives (sorbic acid, potassium sorbate and maltol) 3; toys 25, container-packages 7.

Classification according to the items are as follow: artificial color 39, color fixatives (nitrite and so on) 121, bleaching agent (sulfite) 65, preservatives 278, *o*-phenylphenol, diphenyl and thiabendazole 448, harmful metals 89, hazardous organic substances (aflatoxins, cyanides, formaldehyde and trimethylamine) 15, tests on food additives, toys, utensils and container-packages 74, volatile basic nitrogen 13.

Fifty six samples were disqualified, the ratio of condemnation being 12.0%. *o*-Phenylphenol and/or thiabendazole was detected from 24 in 106 samples of lemon. Eight samples of boiled urchin were condemned because they contained from 21 to 179 ppm of formaldehyde contaminated from wooden casing. Natural rinded Gouda cheese was disqualified because it contained 4.3 ppm of sorbic acid on the surface, no sorbate being contained in the interior. In some countries it might be accustomed to treat the surface of cheese with sorbate. One sample out of 63 alcoholic beverages (American wine) was disqualified because it contained excess (233 ppm) of sorbic acid. Sodium azide was not detected from European wines. Allura red AC and acid orange II was found to have been illegally used in jelly rings.

(Received May 31, 1976)

食品衛生法に基づき、昭和50年度の輸入食品の化学検査状況について報告する。全国にある14の厚生省食品衛生監視員事務所中、大阪支所食品部は名古屋以西の9か所の事務所より送付された検体について検査を

実施することになっている。昭和50年度は博多および福岡空港からの検体の送付はなく、7か所よりの468検体について化学試験を行なった。その内訳は表1に示す通りである。総検体数の2/3は神戸港のものであ

表1 厚生省食品衛生監視員事務所別検体数

事務所別	名古屋	大阪	大阪空港	神戸	門司	鹿児島	那覇	合計
検体数	27	118	3	310	8	1	1	468
分布(%)	5.8	25.2	0.6	66.2	1.7	0.2	0.2	100

り、大阪・神戸で全体の90%以上を占めることが知られた。

検査結果

概評 検体を分類した結果は表2に示す通りである。総検体数468件中多かったものは塩漬生姜の116検体、かんきつの155検体、チーズの23検体などであった。不合格と判定されたものは56検体であって、総数の12.0%であった。不合格率は前々年度の22.8%、前年度の18.7%に比較してかなり低下したことが認められた。

本年度より、件数は検体数でなく、項目数によって数えることにした。総数1142件の内訳は表3の通りである。とくに不合格の著しかったものとしては、レモンの保存料の試験で106検体中24検体不合格〔オルトフェニルフェノール(OPP)検出22検体、サイアベンダゾール(TB)検出1検体、OPP、TB共に検出1検体〕、蒸しうにのホルムアルデヒドの試験で8検体すべて不合格、ジェリーリングスおよびおかきの人工着色料の試験で3検体中2検体不合格〔Allura Red AC (FD & C Red No. 40) および Acid Orange II を検出〕などが挙げられる。

1. 植物食品

凍結乾燥やまのいもの亜硫酸含量(SO₂g/kg)は0.013g/kg、カルシウム含量(限量カルシウムとして1%以下)は0.21%でいずれも合格であった。台湾産梅肉について保存料の試験を行なった結果、パラオキシン安息香酸エステル、安息香酸、ソルビン酸ともに検出しなかった。乾燥パイナップルの亜硫酸の試験はすでに発表した方法¹⁾によって行なったが、結果はいずれも限度内であった。

輸入塩漬生姜の淡紅色の呈色のために使用されたスルファミン酸の検出については、昭和48年の暮から49年にかけて47検体について実施し、6検体から検出したことをすでに報告した²⁾。昭和50年度は21検体について実施し、いずれも合格であった³⁾。これによって塩漬生姜のスルファミン酸の問題も終了したと思われるが、再び現地(台湾)において使用しているとの情報が入り、112検体について試験を行なったがい

ずれも合格であった。なお、現行の試験法は感度がスルファミン酸500ppm以上であって、これに満たないものは合格と判定されるものであることを付記しておく。

干いちじくのスルビン酸の試験については別に報告した⁴⁾。粉末白あんから、漂白に使用した残りと思われる亜硫酸が0.06g/kg検出されたが、一般食品並みの0.03g/kg(SO₂として)で規制されるために不合格となった。玫瑰紅南乳は香港製のものであって大豆乳より調製した紅麹菌を使用して熟成した乳腐の一種であって、人工着色料の検出を依頼されたが、全く検出されなかった。

中国産白米(舞鶴港輸入)について原子吸光光度法によりカドミウムの試験を行なったが、全く検出されなかった。塩漬マッシュルームは朝鮮民主主義人民共和国よりの輸入品であって、ソルビン酸および安息香酸の試験を行なったが、いずれも検出しなかった。

2. 果実

155検体のかんきつについて総計448項目のジフェニル、OPPおよびTBの試験を行なった。結果は別に資料⁵⁾として報告した。

3. 水畜産物

冷凍むぎえびについて亜硫酸、ホウ酸および揮発性塩基態窒素の試験を実施した。亜硫酸は既法¹⁾の四塩化第二水銀法によって、ホウ酸はクルクミンによる微量定量法⁶⁾で、揮発性塩基態窒素は常法によりそれぞれ実施した。亜硫酸の試験は2検体のみについて実施したが、いずれも限度以上含まれており、不合格と判定された。ホウ酸含量はH₃BO₃として1.1~10.9ppmであっていずれも通常の範囲内であり、前々年度の例⁷⁾のように100ppmを越すケースは認められなかった。揮発性塩基態窒素は5~24mg%であり、新鮮または普通鮮度と判定された。残り6検体の不合格は細菌試験の結果に基づくものである。

韓国産箱入蒸しうに(冷凍もの)のホルムアルデヒドの試験を8件になったところ50年10月の検体からは76~179ppmのホルムアルデヒドが、11月の検体からはやや少ない量の21~58ppmが検出され、いずれも不適と判定した。ホルムアルデヒドの汚染原因は

表2 昭和50年度輸入食品の化学検査の検体別分類結果

分類(検査項目)	検体数(項目数)	合格	不合格
1. 植物食品(果実を除く)			
凍結乾燥やまのいも(SO ₂ , Ca)	1 (2)	1	0
梅肉(保存料)	1 (5)	1	0
乾燥パイナップル(SO ₂)	2 (2)	2	0
塩漬生姜(スルファミン酸)	116 (116)	116	0
粉末白あん(SO ₂)	1 (1)	0	1
粉末赤あん(シアン)	1 (1)	1	0
干いちじく(ソルビン酸)	1 (1)	0	1
玫瑰紅南乳(着色料)	1 (1)	1	0
中国産白米(Cd)	4 (4)	4	0
塩漬きのこ(保存料)	1 (2)	1	0
小計	129 (135)	127	2
2. 果実			
レモン(ジフェニル, OPP, TB)	106 (318)	82	24
オレンジ(ジフェニル, OPP, TB)	23 (69)	20	3
グレープフルーツ(ジフェニル, OPP, TB)	24 (55)	24	0
ライム(ジフェニル, OPP, TB)	1 (3)	1	0
きんかん(ジフェニル, OPP, TB)	1 (3)	0	1
小計	155 (448)	127	28
3. 水畜産物			
冷凍むきえび(SO ₂ , ホウ酸, VBN)	14 (26)	6	8
蒸しうに(ホルムアルデヒド)	8 (8)	0	8
干牛肉, 干豚肉, 乾燥羊肉(NO ₂ , ソルビン酸)	3 (6)	1	2
冷凍煮沸牛肉(TMA, VBN)	1 (2)	1	0
チーズ(ソルビン酸, 安息香酸)	23 (39)	22	1
蜂蜜(ソルビン酸)	13 (13)	13	0
小計	62 (94)	43	19
4. 酒精飲料			
ぶどう酒(保存料, SO ₂ , NaN ₃)	60 (240)	59	1
シャンペンベリー(SO ₂)	1 (1)	1	0
シェリー酒(SO ₂ , NaN ₃)	2 (4)	2	0
小計	63 (245)	62	1
5. 清涼飲料水			
濃縮りんごジュース(Pb, Sn)	1 (2)	1	0
濃縮レモンジュース(Pb, Sn)	1 (2)	1	0
高麗人参茶(安息香酸, ソルビン酸)	3 (5)	3	0
小計	5 (9)	5	0
6. 菓子			
ゼリーリングス(着色料)	2 (2)	1	1
おかき(着色料)	1 (3)	0	1
冷凍チーズケーキ, ショートケーキ(安息香酸)	10 (10)	10	0

デンマーク産フルーツケーキ (着色料)	1 (1)	1	0
中国産おこし (アフラトキシン)	4 (4)	4	0
小 計	18 (20)	16	2
7. 調味料			
しょう油 (保存料)	1 (2)	1	0
小 計	1 (2)	1	0
8. 食品添加物			
ソルビン酸, ソルビン酸カリウム, マルトール (規格試験)	3 (26)	1	2
小 計	3 (26)	1	2
9. 器具, 容器包装, おもちゃ			
紙製ちょうちょう (着色料, 重金属, As)	3 (9)	3	0
英国産粘土 (おもちゃの製造基準)	8 (8)	8	0
プラスチック製おもちゃ (おもちゃの規格)	14 (138)	14	0
竹の皮 (塩化ベンザルコニウム)	2 (2)	2	0
中国製茶碗 (陶磁器製器具の規格)	1 (2)	1	0
は し (ホルムアルデヒド)	1 (1)	1	0
ジャスミン茶の内部包装紙 (蛍光物質の溶出)	2 (2)	1	1
フルーツゼリーの容器包装 (蛍光物質の溶出)	1 (1)	0	1
小 計	32 (163)	30	2
合 計	468 (1142)	412	56

表3 昭和50年度輸入食品の化学検査の項目別分類一覧表

検 査 項 目	件 数	合 格	不 合 格
1. 人工着色料	39	33	6
2. 発色剤			
亜硝酸塩	3	3	0
スルファミン酸	116	116	0
第四級アンモニウム塩 (竹の皮のつやだし)	2	2	0
小 計	121	121	0
3. 漂白剤			
亜硫酸塩	65	62	3
4. 保存料			
安息香酸およびその塩	50	50	0
サリチル酸およびその塩	10	10	0
ソルビン酸およびその塩	106	101	5
デヒドロ酢酸およびその塩	18	18	0
パラオキシン安息香酸エステル類	58	58	0
窒化ナトリウム (アジ化ナトリウム)	24	24	0
ホウ酸	12	12	0
小 計	278	273	5

5. かんぎつの保存料			
ジフェニル	147	147	0
オルトフェニルフェノール	155	128	27
サイアベンダゾール	146	144	2
小計	448	419	29
6. 金属・有害性金属			
カドミウム	27	27	0
カルシウム	1	1	0
重金属	28	28	0
スズ	2	2	0
鉛	3	3	0
ヒ素	28	28	0
小計	89	89	0
7. 有害性有機化合物			
アフラトキシン	4	4	0
靑酸配糖体	1	1	0
トリメチルアミン	1	1	0
ホルムアルデヒド	9	1	8
小計	15	7	8
8. 添加物, 器具容器包装およびおもちゃの規格基準			
おもちゃの製造基準	8	8	0
蒸発残留物	23	23	0
過マンガン酸カリウム消費量	23	23	0
確認試験	3	2	1
融点	3	1	2
溶状	3	3	0
塩化物	2	2	0
硫酸塩	1	1	0
強熱残留物	3	3	0
含量	2	1	1
乾燥減量	2	2	0
遊離アルカリ	1	1	0
小計	74	70	4
9. その他			
揮発性塩基態窒素	13	13	0
合計	1142	1087	55

木箱の底板のベニヤ板によるものであり、しかもこれは国内の業者が蒸しうに用として韓国へ送っていたものであることが知られた。

乾燥肉検体についてソルビン酸および亜硝酸の試験を行なったところ、台湾産干牛肉および乾燥羊肉からそれぞれ 1.43 および 0.84 g/kg のソルビン酸を検出した。乾燥肉を食肉と見なせば当然ソルビン酸の使用は違反となるが、食肉製品と見なすならば当然 2 g

/kg までの範囲内での使用は容認される。なお、食肉・食肉製品中の亜硝酸の試験については別に報告した⁹⁾。

昭和50年9月に Danablu チーズ (4検体)、同(一口用包装)、デンマーク産カマンベール、リンドレス・クリームハルティ (2検体)、フィオール・ド・ラッテ・低水分全脂モツアレチーズ (デンマーク産)、デンマーク産 70% 脂肪殺菌クリームチーズ (バイナ

ップル、チョコレート、オレンジ、ガーリックまたは葉草香辛料入り) 合計 14 検体について著者らの設定した前処理法⁹⁾により処理した後、ガスクロマトグラフィによりソルビン酸および安息香酸の試験を行なったところ、いずれの検体からも検出しなかった。しかしながら、9月末に行なったリンドを有するゴダチーズからは、内部にはソルビン酸は認めなかったが、表面からは 0.0043 g/kg の微量を検出した。これは、包装紙にソルビン酸を含んでいたか、あるいはチーズ表面にソルビン酸を塗布したためによるものと考えられる。昭和51年2月にデンマーク産サムソーチーズ6検体についてソルビン酸の試験を行なった結果、いずれも陰性であった。なお、ホエーチーズ、西ドイツ産クリームチーズについても同様の試験を行なった。

はち蜜にソルビン酸を添加すると防腐の他に曇り防止効果も認められることが報告されているので、中国産はち蜜など 13 検体について試験を行なったがいずれも陰性であった。

4. 酒精飲料

ぶどう酒 60 検体について保存料 (パラオキシン安息香酸エステル類、安息香酸、ソルビン酸、デヒドロ酢酸)、亜硫酸および窒化ナトリウムの試験を行なった結果、アメリカ産 1 検体より基準量を上廻る 0.233 g/kg のソルビン酸が検出された。亜硫酸はいずれも基準内であった。窒化ナトリウム (アジ化ナトリウム) はぶどう酒中の微生物の増殖を防ぐ、強力な作用を有することは知られているが、その毒性ゆえに実際にぶどう酒の防腐剤として添加されることはまれであると考えられていた。しかし、Franchi¹⁰⁾ はぶどう酒中に高い頻度で検出されたことを報告しているため、著者らの考案した方法 (未発表) によって輸入ぶどう酒等の検査を行なったが、幸いにも全検体陰性であった。

5. 清涼飲料水

濃縮ジュース 2 検体について鉛およびスズの試験を行なった。高麗人参茶 3 検体について安息香酸などの含まれている疑いがあるということで試験を行なったが、いずれも陰性であった。

6. 菓子

人工着色料の試験をゼリーリングスとおかきについて行なった (前出)。冷凍チーズケーキ、ショートケーキについて安息香酸の試験を行なったところ、10 検体に 0.012~0.036 g/kg の安息香酸が含まれていることがわかった。安息香酸の検出されるのはベーカリー製品の部分であって、小麦粉の改良剤として使用され

た希釈過酸化ベンゾイルが、ケーキ焙焼中に分解して自然発生したものと解釈し、全検体合格とした。本年度はアフラトキシンの試験は 4 検体についてのみ実施したがいずれも問題はなかった。

7. 調味料

省略

8. 食品添加物

3 品目について規格試験を行なった。カナダより輸入したソルビン酸は外観が黄色味がかかった結晶性粉末であって、性状においてすでに違反しており、各項目について化学試験を行なったところ、果せるかな、含量 96.27% (限度量 98.5% 以上)、融点 121.8° (規格値 133-135°) と不合格であることがわかった。ソルビン酸カリウム (日本産、積戻品) については食品添加物公定書の規格に合ったものであった。マルトールの試験結果については別に報告した¹¹⁾。

9. 器具、容器包装、おもちゃ

器具：中国製茶碗について陶磁器製器具の規格試験を、はしについてホルムアルデヒドの試験をそれぞれ実施した。いずれも合格であった。

容器包装：台湾産竹の皮について表面に光沢を与えるために塩化ベンザルコニウムを塗った疑いがもたれたために、第四級アンモニウム塩の溶出ならびにメチレンブルー法による検出・定量を行なったが、いずれの場合にも検出しなかった。方法の詳細については別に報告する予定である。ジャスミン茶の内部包装 (中国・天津製) およびフルーツゼリー (Pâtes de Fruits) の敷紙レースペーパーについて蛍光物質の溶出試験を行なった結果は陽性であった。

おもちゃ：中国産紙製ちょうちょう (paper flying butterfly) について着色料の溶出、ヒ素および重金属の試験を行なったがいずれも合格であった。英国産カラー粘土 8 色についておもちゃの製造基準の試験を行なったが、着色料の溶出は認められなかった。香港産と思われるプラスチック製おもちゃ 4 種類 [人形つき落下傘 (parafools) へびの水鉄砲 (big water squirt ring)、よろよろへびこま (magnetic snake top)、おもちゃの戦車 (diepeast tank w/fast wheel) についておもちゃの規格基準の試験を行なったが、いずれも合格であった。

10. その他

昭和50年12月1日付厚生省令第43号により、食品等輸入者の届書記載事項の変更並びに届出様式の変更があり、食品中に含まれている食品添加物の品名 (化学的合成品および一部の天然添加物) についても記載するなどの処置がとられるようになり、昭和51年3月1

日から完全実施された。

文 献

- 1) 慶田雅洋, 金田吉男, 伊藤誉志男, 外海泰秀: 衛生試験報, 92, 91 (1974)
- 2) 慶田雅洋, 金田吉男, 中村恵三, 松岡道江: 衛生試験報, 92, 89 (1974)
- 3) 慶田雅洋, 金田吉男, 伊藤誉志男, 外海泰秀, 中村恵三, 山路 昭, 西川マチ子: 衛生試験報, 93, 121 (1975)
- 4) M. Iwaida, Y. Ito, M. Toyoda, T. Kanamori: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 94, 62 (1976)
- 5) M. Iwaida, Y. Kaneda, Y. Ito, Y. Tonogai, M. Toyoda, M. Nishikawa, A. Yamaji, K.

Nakamura: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 94, 120 (1976)

- 6) 伊藤誉志男, 慶田雅洋: 食衛誌, 16, 41 (1975)
- 7) 慶田雅洋, 金田吉男, 伊藤誉志男, 外海泰秀, 小川雅清, 松岡道江, 中村恵三: 衛生試験報, 92, 86 (1974)
- 8) 慶田雅洋, 金田吉男, 西川マチ子: 衛生試験報, 94, 122 (1976)
- 9) 伊藤誉志男, 豊田正武, 金森孝子, 慶田雅洋: 日本食品衛生学会第31回学術講演会, 1976年5月, 東京
- 10) G. Franchi: *Boll. Lab. Chim. Provinc.*, 15, 552 (1964)
- 11) 慶田雅洋, 金田吉男, 鈴木英世, 松本陽子: 衛生試験報, 94, 117 (1976)

くん液の化学成分に関する基礎調査

石綿 肇・渡辺晴美・渡部美知子*・林 敏夫*・原 義知**
加藤三郎・谷村顕雄

Chemical Compositions of Smoke Flavour

Hajimu ISHIWATA, Harumi WATANABE, Michiko WATANABE,
Toshio HAYASHI, Yoshitomo HARA, Saburo KATO and
Akio TANIMURA

Harmful constituents and the general properties of smoke flavours were studied for the reason that the smoke flavours have been used for giving characteristic smoked flavours to meat, fish and the other food products. These results were shown in Table 1 and 2 and Fig. 1.

(Received May 31, 1976)

食品添加物としての成分規格設定のための基礎資料とするため、くん液の主要な構成成分および衛生上留意すべき特殊成分について、その試験法の確定と市販製品の実情を把握するため、つぎの調査研究を行なった。

試料および試験方法

試料は主に食品用として市販されているもので、その名称および製造業者は次の通りである。

香味煙 SF-3 (東海化成), 燻液 LS-A および LS-L (万有栄養), 香味煙 SF-1 および SF-2, 蒸留木酢 5% 初留液, 香味煙A および SF-5 (以上5品東海化成),

燻液 LS-C (万有栄養), スモークエース, 電燻液および電燻液(桜) (以上3品宮忠産業), 純くん液, ミートクリアーおよび樹精一 (群馬炭精)。

実験方法は食品添加物公定書を準用した。ただし該当する項がないものは衛生試験法および他の関連文献を参考にし、それら試験法の再検討を行ない、一部改良を行なった。

1. 比重 一般試験法¹⁾ “比重測定法(3)浮キバカリによる測定法”により 20° において測定した。

2. pH 一般試験法²⁾ “pH 測定法(3)ガラス電極法”に準じ、東亜電波製 pH メーター Model HM-5 により、試料を 100ml のビーカーにとり、20° において測定した。

3. 酸価 着香料試験法³⁾ “酸価測定法”を準用した。ただし、本実験においては次の操作により電気滴

* 国民生活センター

** 陸上自衛隊中央病院

定を行なった。

(a) 自動滴定装置：滴定制御方式自動記録電位差滴定装置 Rat Type-1 (平沼産業)

(b) 滴定液：0.5 N 水酸化カリウム溶液

(c) 滴定操作：くん液試料各 2~10ml の適当量を正確にとり、水を加えて約 50ml とし、これを 0.5 N 水酸化カリウム溶液で滴定して、電位差曲線の変曲点を終点とし、次式により酸価を求めた。

酸価 (mg/ml) =

$$\frac{0.5N \text{ 水酸化カリウム溶液の消費量 (ml)}}{\text{試料の採取量 (ml)}} \times 28.055$$

4. ギ酸 衛生試験法“保存料試験法 C-5”の定量法に準じ、これを若干改良して次のように行なった。

試料 25~50 ml を蒸留フラスコにとり、水を加えて 100ml とし、これに食塩 30 g, リン酸溶液 (1→20) 2 ml を加え、水蒸気蒸留して留液 500 ml となったとき蒸留をやめ、この留液 100 または 200ml をとり 1 N 酢酸ナトリウム溶液 10ml, 10% 塩酸 2ml および塩化第二水銀溶液 50 ml を加えて 100° で 2 時間加熱する。ついでこれを重量既知のガラスろ過器でろ過し、少量の水およびエタノールで洗い、105° で 1 時間乾燥し、放冷後ひょう量、次式によりギ酸量を求めた。

ギ酸 (mg) = 塩化第一水銀 (mg) × 0.0975

5. メタノール 衛生試験法²⁾“アルコール飲料試験法 B-15-b フクシン亜硫酸法”によって定量した。ただし、塩基性フクシンの代わりにバラロザニリン塩酸塩を用い、98% エタノール溶液 0.25ml の代わりにエタノール (試薬特級) 0.05ml を加えて行なった。また分光光度計 (島津 UV-200) を用い、585 nm における吸光度を測定し、検量線法により定量した。

6. ホルムアルデヒド 衛生試験法²⁾“保存料試験法 C17-b-1. アセチルアセトン法”により定量した。

7. 総カルボニル化合物 くん液 2ml を三角フラスコにとり、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩 0.3 g を 2 N 塩酸に溶解して 500 ml とした液 100 ml を加えて、水浴上で 30 分間加熱したのち放置し、沈でんをガラスろ過器でろ過し、これを 105° で 3 時間乾燥したのち秤量し、試料 1ml に対するヒドラジンの mg 数をあらわした³⁾。

8. 総フェノール化合物 衛生試験法²⁾“飲料水 C-35-a. 4-アミノアンチピリン法”により定量し、フェノールとしてあらわした。ただし、試料が蒸留物であるから蒸留操作は省略し、そのまま試験溶液とした。

9. 多核芳香族炭化水素 以下の方法により限度試験を行なった⁴⁾。

薄層板：シリカゲル G (メルク) を常法により厚さ 250 μ, 大きさ 5×20 cm とし、105° で 30 分間活性化して用いた。

展開剤：*n*-ヘキサン, *o*-ジクロロベンゼン, ピリジン (100 : 10 : 5)

操作法：試料 100ml (ただし、試料 G はその 10ml に水 90ml を加えたもの) に食塩を加えて *n*-ヘキサン 30 ml で 3 回抽出し、これを合せて 5% 水酸化ナトリウム溶液 20 ml で 5 回洗浄し、ついで 10% 塩酸 20ml で 5 回洗浄した。洗液はすて、ヘキサン層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥し、減圧濃縮し、全容 1 ml として試験溶液とする。試験溶液 0.1 ml を薄層板にスポットして約 15 cm 展開したのち風乾し、紫外線下 (253.6 nm) で観察した。なお対照として 3-メチルコランスレン (MC), ベンツ (a) ピレン (BP) およびジベンツアンスラセン (DBA) の *n*-ヘキサン溶液の、各々その 10, 50, 100 ng に相当する量をスポットして、対応する位置におけるけい光を測定した。

10. ヒ素 食品添加物公定書¹⁾“コンドロイチン硫酸ナトリウム、純度試験 (5)”に準じて分解させたものを試験溶液とし、一般試験法¹⁾“ヒ素試験法”により測定した。

11. 重金属 食品添加物公定書¹⁾によった。

12. ガスクロマトグラフィー 試料 20ml をエーテル 10, 5 および 5 ml とふりまぜて抽出し、エーテル層を合わせて全容を 20ml とし試験溶液とした。試験溶液の 2 μl を注入して次の条件でガスクロマトグラフィーを行なった。

カラム：20% DEGS+1% リン酸/Chromosorb W, 内径 3mm×長さ 2m ステンレス。

カラム温度：120° で注入後 3 分ののち、毎分 5° の昇温を行なって 220° に達したのち、その温度を保持した。

キャリアー：窒素ガス 40 ml/min。

機器：水素イオン化検出器付日立ガスクロマトグラフ 063 型

感度：Range×1 を原則として用い、スケールオーバーする場合に適宜切り替えた。

結果および考察

試料の性状および化学的測定結果を Table 1~2 に示した。なお試料 A~G を測定した結果から、とくに留意すべきものとしてメタノール、ホルムアルデヒドおよびギ酸を選定して、さらに試料 H~O を追加して測定したので、これらをまとめて Table 2 に示した。

Table 1. Results of Chemical Assay

Sample	Description	Specific gravity	pH	Acid value*	Total carbonyl comp.**	Total phenolic comp.***	Heavy metals****	Arsenic *****
A	T, Y	1.010	2.60	37.0	50.1	0.98	<0.2	<0.3
B	T, pale Y	1.007	2.62	26.4	22.1	0.18	<0.2	<0.3
C	T, pale Y	1.010	2.56	40.4	28.7	1.06	<0.2	<0.3
D	T, slightly Y	1.009	2.40	40.3	42.3	<0.001		
E	T, Y	1.010	2.32	41.1	46.3	0.04		
F	P, Y-O	1.003	2.57	34.7		1.80		
G	Viscous, dark Br	1.228	1.00	143.6		7.00		

T: transparent * KOH mg/ml
P: precipitation ** hydrazone mg/ml
Y: yellow *** mg/ml
O: orange **** ppm, as Pb
Br: brown ***** ppm
F and G: not use in foods

Table 2. Contents of Methanol, Formaldehyde and Formic acid.

Sample	Methanol*	Formaldehyde**	Formic acid*
A	6.7	140	1.96
B	0.4	29	1.10
C	1.5	20	0.916
D	6.9	132	
E	7.3	146	
F	62.4	424	
G	0.2	4	15.4
H	2.7	98	2.96
I	5.1	16	1.57
J	1.3	21	0.857
K	1.3	387	1.60
L	2.0	600	0.686
M	2.7	68	0.502
N	0.6	9	0.015
O	1.4	10	0.083

* mg/ml ** ppm

試料Fは木酢液を蒸留してくん液とするときに除去される5%初留液であり、試料Gは蒸留残液の水可溶性分画である黒褐色タール状液体であって、ともに食品用以外の用途のものとされている。

本実験に供した国内産食品用くん液の各種試料を観察あるいは測定した結果、ならびに試験方法に関する見解はつぎのとおりである。用語は主に食品添加物公定書¹⁾に準じた。

1) 性状 大多数の製品は透明で、わずかに微濁がみられるものが数件あった。長期間放置するとき暗褐色の沈でんを生ずるものが約半数にみられたが、その場合も上澄液は透明であった。色は一般に微黄～淡黄橙色であるが、より褐色に近い数件がありこれらは暗褐色沈でんの析出が多くみられた。一般に明らかな酸味と特有の刺激味(焦味)を有し、また特有なくん煙臭を有する。

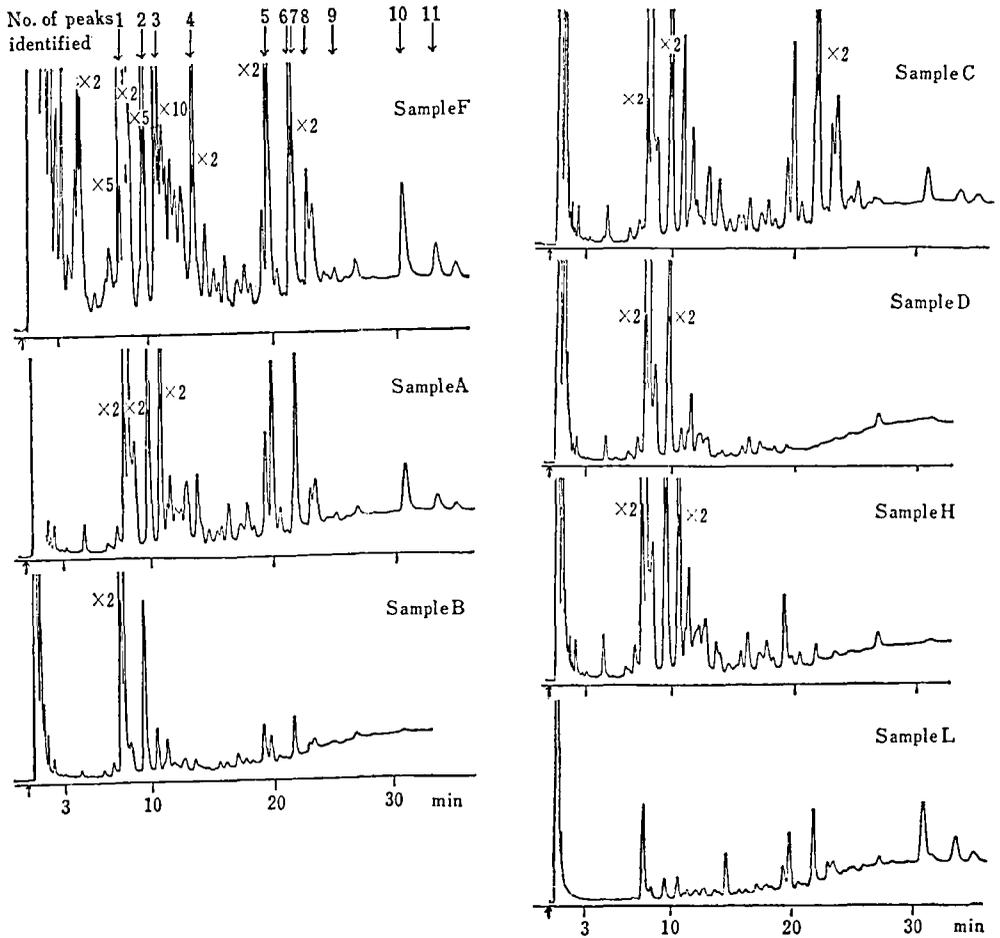


Fig. 1. Gaschromatograms of total ether-extracts of commercial smoke flavors.
 column: 20% DEGS+1% H_3PO_4 /Chromosorb W, ϕ 3 mm \times L 2 m
 column temp: 120 $^\circ$ \times 3 min+5 $^\circ$ /min programated to 220 $^\circ$, and held at 220 $^\circ$
 carries flow: N_2 , 40 ml/min
 detector: FID
 sample: 2 μ l of ether-extracts (20 ml) of each sample (20 ml) which was acidified and salted.

key

1: Acetic acid, 2: Propionic acid, 3: Furfural, 4: Methylfurfural, 5: Guaiacol,
 6: Phenol, 7: *o*-Cresol, 8: *m*- and *p*-Cresol, 9: 3,5-Xylenol, 10: 2,6-Dimethoxy-
 phenol, 11: 2,6-Dimetoxy-4-methylphenol

- 2) 比重 1.007~1.010 と要約される。
- 3) pH 2.32~2.62 を示した。
- 4) 酸価 26.4~41.1 mg/ml の範囲を示した。ガスクロマトグラフィーの結果では遊離酸の大部分が酢酸であり、少量のプロピオン酸、*n*-酪酸などが検出された。試験方法としては、着色のため指示薬が使用できず電氣的測定の必要があった。
- 5) ギ酸 0.01~0.02% 程度が検出された。試験

方法は、添加回収実験の結果、衛生試験法に指示されている酒石酸 1g より 20% リン酸 2 ml を加えた蒸留の方がより高い回収率を示し、また多量のギ酸が存在するときのため捕集液の量を 50 ml とした。蒸留時間を節約するため留液 500 ml までに半減したが結果に差はみられなかった。回収率はギ酸 1000 ppm 添加の場合、試料Aにおいて 98.99%、試料Bにおいて 94.67% および試料Cにおいて 110.58% であった。

6) メタノール 0.04~0.69%と要約される。ただし、この値にはホルムアルデヒドが含まれる。試験方法はアルコール飲料のためのものであるため、共存するエタノールが呈色度に及ぼす影響を検討した結果、エタノール 0.05ml を添加した場合が最適であった。また塩基性フクシンの代りにパラロザニリン(米山化学製)を用いた場合により安定で高い呈色度が得られた。

7) ホルムアルデヒド 20~146 ppm を示した。

8) 総カルボニル化合物 ホルムアルデヒドに換算して 3.16~6.04 mg/l に相当する。今回は、有機酸が共存し⁹⁾、また試料が着色しているため、予備的に重量法で行なったものであり、試験法としては再考すべきものと考ええる。

9) 総フェノール化合物 概ね 0.04~0.98 mg/ml が一般的であると判断される。本実験に用いた 4-アミノアンチピリン法は、くん液中の主なフェノール類であるグアヤコール、フェノール、*o*-クレゾールにはほぼ等しい呈色度を示すが、2,6-ジメトキシフェノールの呈色度はフェノールの 25.8% であった。

10) 多核芳香族炭化水素 適用した方法は衛生試験法²⁾、“有害性有機化合物試験法C 8”とほぼ同じであるが、妨害となるけい光性物質は認められなかったので、フルミナカラムによる前処理は省略した。3種の標準物質(MC, BP および DBA)の各 100 μg を添加した試料 A における回収率は 82.4, 88.5 および 79.6% であり、これら3種ともに TLC 上で 50 ng では明確に検出されるが 10 ng 以下では検出されなかった。

試料 A~F についてはいずれも検出されず試料 G は粘性のため 10 倍希釈して行なった結果では検出され

なかった。なお本実験に供したものと同一試料について広門、遠藤⁵⁾はより高感度の方法による試験を行なって、いずれも 0.18 ppb 以下であったと報告している。

10) ガスクロマトグラム 試験溶液(総抽出液)のガスクロマトグラフィーを行なって、そのパターンの比較を行ない、代表的な例を Fig. 1 に示した。これらは図にみられる様に極わめて多成分を含むため、一斉に分離、定性、定量は困難である。別に代表的な試料について、常法⁶⁾によりフェノール類、有機酸類、中性物質およびカルボニル類に分画して、それぞれについて同定した結果から、主要成分と思われるピークの位置を Fig. 1 の上部に示しておいた。これらが主要なものであり、ほぼ各試料に共通して含有されると考えられるが、さらに確認および同定について作業を継続中である。

おわりに、これら試料を提供された各社に謝意を表す。

文 献

- 1) 厚生省：第三版食品添加物公定書(1974) The Ministry of Health and Welfare: The Japanese Standards of Food Additives, Third Edition (1974)
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法注解(1973), 金原出版
- 3) 日本化学会編：実験化学講座 続5, p. 592 (1966) 丸善
- 4) 藤井清次, 林敏夫, 原田基夫, 加藤三郎：木酢液利用に関する特別研究報告書, p. 19 (1966), 科学技術庁研究調整局
- 5) 広門雅子, 遠藤英美：東京都立衛生研究所年報, 26 (1), 220 (1975)
- 6) 藤井清次, 加藤三郎：食衛誌, 7, 395 (1966)

マルトールとエチルマルトールの識別

慶田雅洋・金田吉男・鈴木英世・松本陽子

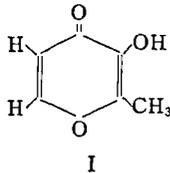
Differentiation of Ethyl Maltol from Maltol

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Hideyo SUZUKI and Yoko MATSUMOTO

In February 1976, flavoring matter which was assumed to be maltol was imported through Port Kobe as a food additive. The results of chemical inspection revealed that it had much lower melting point (90.8~91.0°) than that of maltol (160~163°). Its molecular formula was found to be C₇H₈O₄ based on mass spectrometry. Its infrared and nuclear magnetic resonance spectra suggested the presence of one ethyl group, two olefinic protons at C₅ and C₆ position of γ -pyrone ring as well as the presence of one hydroxyl group. Characteristic absorption maximum (λ_{max} =278nm, E_{1cm}^{1%}=658) of its ethanolic solution, positions on thin layer chromatogram and mixed mp measurements were fruitful for its identification as ethyl maltol. Infrared and nuclear magnetic resonance spectra of the substance were practically coincident with those of authentic ethyl maltol. Since ketones (except harmful substances) are allowed to use for flavoring of foods, in Japan, the import of this substance as food additive causes no problem.

(Received May 31, 1976)

マルトール (I) はやや薬品臭のするバニリンとカラメルに似た香気を有する化合物であって、その化学名は 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone であり、昭和 39 年 7 月 15 日に食品添加物として指定され、規格が定められている。



1976年2月に厚生省神戸港食品衛生監視員事務所より輸入食品添加物についてマルトール様物質の規格適否試験を依頼された。検体は白色の結晶性粉末であって、マルトールに類似した香気を有するが、マルトール特有の試薬臭はなくカラメル様の芳香のみが認められた。

食品添加物公定書ではマルトールの確認試験法として、塩化第二鉄試液によるフェノール性水酸基の呈色反応、水酸化ナトリウムによる γ -ピロンの開環反応と二酸化炭素によるピロン環の再形成と生成した結晶の融点の測定、およびヨードホルム反応の3つが記載されている。純度試験(1)融点、(2)溶状、乾燥減量および強熱残留物についても規定されている。

検体についてマルトールの規格適否試験を行った結果を Table 1 に示す。

確認試験(2)および純度試験(1)における融点がマルトールのそれより低く、確認試験(3)のヨードホルム反応が陰性であって、マルトールの規格に合致しなかった。

一方、試薬および食添用マルトールを希エタノールから再結晶したものの融点は 161.6~161.8° (公定書では 160~163°) であった。また再結晶マルトールと検体の再結晶品 (希アルコール) との混融試験を行なうと mp 127.5~129.5° を示し、明らかな融点降下を認めた。したがって、以上の結果を総合して考えると、検体はマルトールによく類似した γ -ピロン骨格を有する化合物で、マルトールの C₂ にメチル基以外の基がついたものなどが予想された。

高分解能質量分析の結果、本物質の分子式は C₇H₈O₄ (Calcd. 140.0474, Found 140.0471) であり、不飽和度は 4 と計算された。赤外分光スペクトル (IR, KBr) には、Fig. 1 に示すように波数 1662, 1632 および 1572 cm⁻¹ に γ -ピロン環に由来すると推定される吸収がみられた。

また高分解能核磁気共鳴スペクトル (NMR, CDCl₃) には、Fig. 2 に示すように、2種類のオレフィンプロトンが δ 7.72 および 6.40 (1H each, 二重線, J=9 Hz) にみられ、それぞれ γ -ピロン環の C₅ および C₆ のプロトンと推定される。他に四級炭素に結合したエチル基 (δ 1.22, 3H, 三重線, J=7 Hz; δ 2.74, 2H, 二重線, J=7 Hz), 水酸基 (δ 7.4, 1H, broad,

Table 1. Results of the official inspection of sample

Item	Description
Description	White crystalline powder having a characteristic caramel-like aroma
Identification test (1)	Production of reddish violet color on the addition of ferric chloride test solution
(2)	Dissolved clearly on the addition of NaOH test solution, and white crystals were formed after the passage of carbon dioxide through the solution (mp 90.8°)
(3)	After the addition of NaOH test solution to dioxane solution of the sample, iodine-KI test solution was added to the mixture shaking vigorously until the color of iodine did not disappear. Then the mixture was heated for 5 minutes in hot water, and yellow crystals were not formed.
Melting range	90.8-91.0°
Clarity of solution	0.1 g of sample was dissolved in 5 ml of 70 v/v% alcohol. The solution was clear.
Loss on drying	0.12% when dried over sulfuric acid dessicator for 4 hrs.
Residue on ignition	Not more than 0.05%.

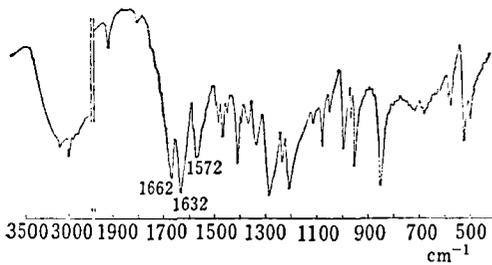
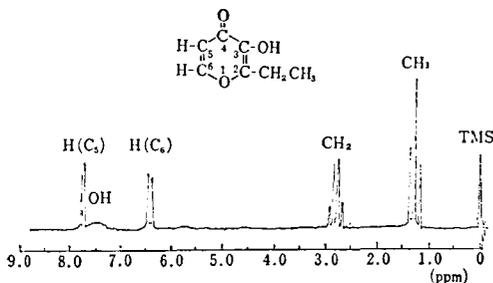
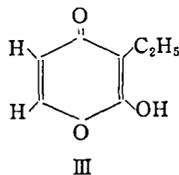
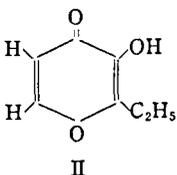


Fig. 1. IR spectrum of Ethyl Maltol (KBr)

Fig. 2. NMR spectrum of Ethyl Maltol (CDCl₃)

D₂O 処理で消失) がみられた。

これらの結果から、本物質は下式のいずれかに相当する。



本物質のエタノール溶液の $\lambda_{\max}=278 \text{ nm}$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=658$), 塩化第二鉄で発色させた水溶液は紫色 ($\lambda_{\max}=532 \text{ nm}$) を示し、いずれも II の文献値¹⁾ に一致した。

そこで II の標品 (Daicell Co.) と本物質の薄層クロマトグラフィーにおける挙動を調べた結果を Table 2 に示す。極性の異なる 3 種の溶媒で展開したとき、いずれの場合も標品と本物質の *R_f* 値はよく一致し、またこの 2 つの物質を合わせてスポットしたときも展開後のスポット分離はみられなかった。薄層クロマトグラフィーの結果から、本物質は II であると推定される。

標品の融点 (mp 89~93°) は本物質のそれ (mp 90.8~91.0°) とよく一致し、混融したとき融点降下を認めなかった (混融 mp 90.2~91.2°), なおこれらの融点は他の文献値 (mp 89~93°)²⁾ にも一致する。

また先に示した本物質の IR および NMR の結果も標品のそれらとよく一致した。

以上の検討の結果、本物質は II, エチルマルトール (3-hydroxy-2-ethyl-4-pyrone) であり、III ではないことがわかった。

エチルマルトールはきわめて甘いカラメル様の香を有し、その香気はマルトールの 4~6 倍とされている。そのため非アルコール飲料、アイスクリーム、プリン、チューインガム、ゼリー、スープなどに 1.5~5 ppm の範囲で添加するのが適当とされている。わが国ではエチルマルトールそのものは食品添加物として指定されていないが、食品衛生法施行規則別表第 2 の五十ケトン類 (ただし毒性が激しいと一般に認められ

Table 2. Results of thin layer chromatography

Developing solvent	Rf value*1 of sample		Spot of mixed sample
	Authentic *2	Test sample	
CHCl ₃ : MeOH (1:1)	0.90	0.91	No other spot than one on the chromatogram
EtOAc: <i>n</i> -hexane (3:1)	0.67	0.68	//
Et ₂ O: <i>n</i> -hexane (1:1)	0.29	0.28	//

Note *1 Sprayed with solution of ferric chloride in water

*2 Authentic sample was kindly offered from Daicell Co. Ltd.

たものを除く)に属するので、着香の目的に使用するのは差支えない。また同法施行規則別表第4にケトン類が示されているので、本物質を使用した食品添加物であって販売の用に供するものにおいても、その名称を容器包装または包装の見やすい場所に記載する必要はないものと解釈される。

実験の部

1. 試薬

マルトール (和光純薬) および 食添用マルトール (稲畑香料) を使用、エチルマルトールはダイセル株式会社より恵贈されたものを使用。

2. 機器

融点測定はヤマト科学製 MP-1 型融点測定装置にグリセリンを入れ、8局浸線付温度計2号および4号を挿入して実施、両温度計の許容誤差は0.2°、紫外および可視スペクトル測定は日立139型分光光度計を用い、IR測定には日立EPI-G2型赤外分光光度計を用

いて KBr 打錠法で実施、MS は日本電子 OISG-2 型質量分析計で測定、NMR は日立 R-22 型 (90MHz) を用いて CDCl₃ 溶液として測定、内部標準物質はテトラメチルシランを使用、薄層クロマトグラフィーは Replate 50 (ヤマト科学) を用い、発色は FeCl₃・6H₂O (9→100) を噴霧して実施。

終りに監み、食添用マルトールを提供して下さった稲畑香料株式会社、ならびにエチルマルトール標品を恵贈されたダイセル株式会社鈴木亮秀氏に感謝します。

文 献

- 1) M. Higuchi, R. Suzuki, T. Yamada: *Japan Kokai*, 73 68,567 (1973); M. Higuchi, R. Suzuki: *Japan Kokai* 73 68,574; 68,575(1973)
- 2) T.E. Furia, N. Bellanca: *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*, 2nd Ed., Vol. 2, p. 179 (1975), CRC Press, Cleveland

Detection and Determination of Diphenyl (DP),
o-Phenylphenol (OPP) and Thiabendazole (TB)
from Imported Citrus Fruits

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI,
Masatake TOYODA, Machiko NISHIKAWA, Akira YAMAJI
and Keizo NAKAMURA

Results of the inspections of three preservatives (DP, OPP and TB) in citrus fruits imported from U.S.A. during the period covering from April in 1975 till March in 1976 are shown. Inspections were carried out by use of the combined technique of alumina column clean up and FID (in case of DP and OPP) or FPD (in case of TB) gas chromatography. 38.7% of samples imported in May were disqualified because they contained OPP and/or TB. No citrus fruits contained excess quantity (more than 70 ppm) of DP.

(Received May 31, 1975)

DP, OPP and TB are widely used as the preservatives of citrus fruits. In the United States, for example, the tolerance is 110 ppm for DP, 10 ppm for OPP and 2 ppm for TB; while EEC member countries have established a tolerance of 70 ppm for DP, 12 ppm for OPP and 6 ppm for TB. Contrary to these, in Japan, only DP was allowed in 1971 to use for grapefruits, lemons and oranges within the maximum residual limit of 70 ppm.

In April 1975, it happened to become evident that imported lemons displayed for sale in the markets had been contaminated with OPP, provoking a serious problem of food hygiene. The authors had been engaged in the establishment of an accurate and systematic method for the determination of OPP, TB and DP in citrus fruits by the combined technique of alumina column clean up and FID or FPD gas chromatography, and the obtained good results were reported orally in May in Tokyo¹⁾ and published in December of the year²⁾. The procedure was successfully applied for the inspection of citrus fruits imported through Kobe, Osaka ports and Osaka air port.

Materials and Method

1. Sample: 106 samples of lemon, 23 samples of orange, 24 samples of grapefruit, one sample of lime and one sample of dehydrated kumquat

(155 samples in total) imported from the United States were used.

2. Reagent: Metasol TK-100 recrystallized three times from ethanol (mp 304°) was used as thiabendazole standard. Merck Art. 1097 Aluminium-oxid standardisiert, dried for 24 hrs at 110°, was used for the preparation of column. 2,3-dimethylnaphthalene and ethion was used as an internal standard of the FID and FPD gas chromatography, respectively.

3. Method: A systematic procedure developed by the authors²⁾ was used. As for the extraction and alumina column clean-up, confer the literature. DP was recovered from Fract. No. 7, while OPP and TB from Fract. No. 12. Detection level of DP, OPP and TB was 0.025, 0.05 and 0.01 ppm, respectively, by use of an FID gas chromatograph for DP and OPP while an FPD gas chromatograph for TB. Yanaco G-80 FID and FPD gas chromatographs were used throughout the experiment.

4. Judgement: In case more than 0.5 ppm of OPP or more than 0.1 ppm of TB was present, the fruit was judged to have been treated either by OPP or TBZ.

Results

The number of citrus fruits inspected per month is as shown in Table 1. 68.4% of the samples

Table 1. Number of citrus fruits inspected from May to November in 1975

Citrus fruit	Month							
	May	June	July	August	Septem-ber	October	Novem-ber	Total
Lemon	50 (21)	49 (3)	—	7 (0)	—	—	—	106 (24)
Orange	5 (2)	8 (0)	2 (0)	7 (0)	—	—	1 (1)	23 (3)
Grapefruit	6 (0)	11 (0)	4 (0)	3 (0)	—	—	—	24 (0)
Lime	—	—	—	—	1 (0)	—	—	1 (0)
Kumquat	1 (1)	—	—	—	—	—	—	1 (1)
Total	62 (24)	68 (3)	6 (0)	17 (0)	1 (0)	0 (0)	1 (1)	155 (28)

Note: Figures in parentheses indicate number of sample condemned

Table 2. Items of citrus fruits inspected and their results

Citrus fruit	Lemon			Orange			Grapefruit			Others* 1		
	Pass	Disquali-fied	Total	Pass	Disquali-fied	Total	Pass	Disquali-fied	Total	Pass	Disquali-fied	Total
Diphenyl	106	0	106	23	0	23	16	0	16	2	0	2
<i>o</i> -Phenylphenol	83	23	106	20	3	23	24	0	24	2	0	2
Thiabendazole	104	2	106	23	0	23	15	0	15	2	0	2
	293	25	318	66	3	69	55	0	55	6	0	6

Note *1: Each one sample of lime and dehydrated kumquat was inspected

inspected were lemon, being concentrated to the first two months. 42% of lemons inspected was disqualified in May, while the disqualification rate decreased to 6.1% in June. No grapefruits were disqualified by our inspection. Since July, most of the fruits imported were inspected by the simplified method for the detection of *o*-phenylphenol in citrus fruits by use of 2,6-dichloroquinonechloroimide³⁾ in the laboratories of import ports.

Results of the inspection classified by the items inspected are as shown in Table 2. Tests were carried out on 448 items, in total. No citrus fruits contained excess quantity (more than 70 ppm) of DP. OPP was detected from 21.7% of

lemons, 13.0% of oranges and one kumquat, while thiabendazole was detected only from two samples of lemons. The advantage of the systematic procedure exists in the simultaneous examination of three preservatives.

References

- 1) Y. Tonogai, Y. Ito, M. Iwaida: Abstracts of papers presented at the 29th Meeting of Food Hygienic Society of Japan, p.27 May, (1975), Tokyo
- 2) Y. Tonogai, H. Sano, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Food Hyg. Soc., Japan*, 16, 397 (1975)
- 3) M. Iwaida, Y. Ito, M. Toyoda: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 94, 64 (1976)

輸入食肉および肉製品中の亜硝酸塩の測定成績

慶田雅洋・金田吉男・西川マチ子

Determination of Nitrite in Imported Meat and Meat Products

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA and Machiko NISHIKAWA

During the period covering from November in 1974 till September in 1975, we were requested to determine nitrite contents in 9 samples of imported meat products. Determination of nitrite was carried out according to the Draft International Standard ISO/DIS 2918.2 ISO/TC 34 submitted on 1974-04-25. 10.3 ppm of NO_2 was detected from Danish pork luncheon meat, the content being within the limit of restriction. Almost no residual nitrite was present in the other products. The draft method was found to be very reproducible.

(Received May 31, 1976)

昭和49年度から50年度にかけて当部において輸入食肉および肉製品中の亜硝酸塩の測定を9件依頼された。食品、添加物等の規格基準では亜硝酸ナトリウムおよびこれを含む製剤は、食肉ハム、食肉ソーセージ、食肉ベーコン、食肉コンビーフ、鯨肉ベーコン、魚肉ソーセージ、魚肉ハム、いくらおよびすじこ以外の食品に使用してはならないとなっており、食肉に使用することはできない。また使用量については、亜硝酸根として、食肉ハム、食肉ソーセージ、食肉ベーコン、食肉コンビーフおよび鯨肉コンビーフにあってはその1kgにつき0.07gを越える量を、魚肉ソーセージおよび魚肉ハムにあってはその1kgにつき0.05gを越える量を、いくらおよびすじこにあってはその1kgにつき0.005gを越える量を残存しないように使用しなければならないと定められている。

しかしながら現在のところでは食肉製品中の亜硝酸の定量のための公定法は未だ定められていない。著者ら¹⁾は以前にチーズ中の亜硝酸塩のジアゾ化・カップリング反応による測定法について報告し、この方法は日本薬学会協定の衛生試験法としても採用された²⁾。肉製品についても比色定量のプロセスは同じであるが前処理は当然異なってくる。そこで肉製品についての試験法の作製の必要に迫られたわけであるが、調査の結果、1961年以降ISOで肉および肉製品の硝酸塩、亜硝酸塩の測定のための標準法作製の作業にかかっていることを知り、1974年4月25日配布のDraft International Standard ISO/DIS 2918.2を入手し、これによって検査を行なった。

方法の原理

検体を熱水で抽出し、たんぱく質を沈殿させて汚濁

する。汚濁中に亜硝酸塩が存在するならば、スルファニルアミド塩酸塩およびN-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩を添加するとき赤色の呈色が認められるので、これを波長538nmで比色定量する。

I 試薬・試液

1. 除たんぱく剤

1.1. 除たんぱく第I液：フェロシアン化カリウム・三水和物 106g を水に溶かして 1000ml とする。

1.2. 除たんぱく第II液：酢酸亜鉛・二水和物 220g および氷酢酸 30ml を水に溶かして 1000ml とする。

1.3. 飽和ホウ砂溶液：ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 50g を温水 1000ml に溶かし、室温まで冷却する。

2. 亜硝酸標準溶液：110~120°で乾燥し、恒量とした NaNO_2 0.150g を水に溶かし、水で 1000ml の定容とする（標準原液）。標準原液 10ml を使用する日に水で薄めて正確に 1000ml とする。希釈溶液 1ml は 1.00 μg の NO_2 を含む。希釈溶液は保存しないこと。

3. 発色液

3.1. 第I液：スルファニルアミド 2g を水浴上で加熱しながら 800ml の冷水に溶かす。必要ならば汚濁する。かき混ぜながら塩酸 100ml を加えた後、水で薄めて 1000ml とする。

3.2. 第II液：N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 0.1g を水に溶かして 100ml の定容とする。

3.3. 第III液：塩酸 445ml を水で希釈して 1000ml とする。

以上3つの液は密栓して冷蔵庫中に保存し、1週間

以内に使用すること

II 試験操作

1. 試料の調製

孔径 4 mm 以下のミンチを少なくとも 2 回通して細挽きした後、よく混ぜ合わせる。空隙が生じないように気密容器に満した後、変質および組成変化の起らないような状態で保存する。検体の分析はできるかぎり速やかに、常に 24 時間以内に行なう。なお、未調理製品の場合には均質化した直後に分析を行なう。

2. 検体の採取

約 10 g を 0.001 g の精度ではかりとる。

3. 除たんばく

3.1. はかり取った検体を定量的に 300 ml の三角フラスコに移し、飽和ホウ酸ナトリウム溶液 5 ml および 70° 以上の水 100 ml の順に加える。

3.2. フラスコを沸騰水浴中で繰り返し振り混ぜながら 15 分間加熱する。

3.3. フラスコ およびその内容物を室温まで冷却し、除たんばく I 液 2 ml および除たんばく II 液 2 ml の順に加える。各液を加えるたびごとに十分に混和する。

3.4. 内容物を 200 ml の定容フラスコに移す。室温に 30 分間静置した後、水を標線まで満し、定容とする。

3.5. 定容フラスコの内容物をよく振り混ぜた後、ひだ折り濾紙で濾過する。

4. 定量

4.1. 濾液 V ml (25 ml を越えないこと) を正確にはかり取り、100 ml の定容フラスコに入れ、水を

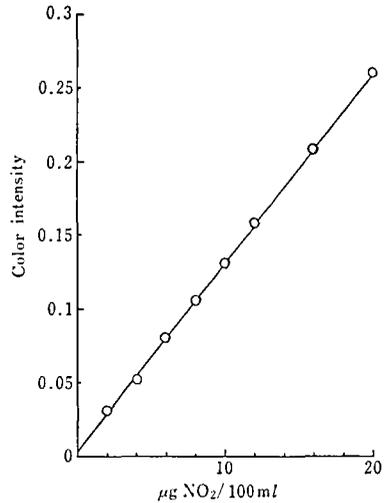


Fig. 1. Calibration curve of nitrite

加えて約 60 ml とする。

4.2. 発色液第 I 液 10 ml, 同第 III 液 6 ml を加えてよく振り混ぜた後、室温で暗所で 5 分間放置する。

4.3. 第 II 液 2 ml を加え、室温、暗所で 3 分間放置した後、水で定容とする。

4.4. 1 cm のセルに入れ、分光光度計を用いて波長 538 nm における吸光度を測定する。検体から得た呈色液の吸光度が標準溶液のそれよりも高い場合には、濾液の採取量を減じて定量操作をやり直す。測定は同一検体について 2 つ行なうものとする。

5. 検量線

亜硝酸標準溶液 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 および 20 ml

Table 1. Nitrite content of imported meat products

No.	Date	Sample	Produced in	NO ₂ (mg/kg)	Judgement
1	Nov. 27, 1974	Pork luncheon meat	Denmark	10.3	Pass
2	Feb. 17, 1975	Egg rolls with pork (猪肉蛋捲)	China	<1.0	Pass
3	Mar. 26, 1975	Frozen fully cooked char broiled	—	0.1	Pass
4	Apr. 5, 1975	Frozen salted beef mince	—	<0.1	Pass
5	"	"	—	<0.1	Pass
6	"	"	—	<0.1	Pass
7	Sep. 13, 1975	Dehydrated beef	Taiwan	<0.1	Pass
8	"	Dehydrated pork	"	<0.1	Pass
9	"	Dehydrated mutton	"	<0.1	Pass

Note: Maximam limit of nitrite in meat products: 70 ppm (as NO₂)

をそれぞれ 100ml の定容フラスコにとり、水を加えて約 60 ml とし、発色第 I 液 10 ml および第 III 液 6 ml を加え、以下試料の試験操作に従って吸光度を測定する。

6. 結果の表示

次式によって亜硝酸根の含量を計算する。

$$\text{NO}_2 \text{ (mg/kg)} = C \times \frac{2000}{m \times V}$$

ただし m : 秤取した検体量 (g)

V : 分光分析のためにピペットではかり取った液量 (ml)

C : 呈色液 100ml 中の NO_2 (μg)

同一実験者同時にまたは連続して行なった 2 試行の定量値の差は亜硝酸塩含量の 10% を越えてはならない。結果は 2 試行の算術平均値で示し、0.1 mg/kg の単位まで算出する。

実験の部

検量線は Fig. 1 に示す通りである。 NO_2 (μg) = 78.21 (OD₅₃₈) - 0.27 の回帰式が得られた。

輸入食肉製品についての測定結果は Table 1 に示す通りである。ただし猪肉蛋捲については全量中の値で示した。肉製品のみ値をとっても NO_2 含量は 1 mg/kg 未満であった。Table 1 においては No. 1 の pork luncheon meat 以外は全く亜硝酸塩は加えられていないものと考えられ、No. 1 も亜硝酸根の残存量は基準内であった。なお、原案では繰り返し測定誤差は 10% 以内となっているが、実際問題としてその 1/2 以内の精度で測定することができた。

文 献

- 1) 慶田雅洋, 金田吉男, 外海泰秀: 日本食品衛生学会第28回学術講演会, 1974年10月, 長崎
- 2) 衛生化学, 21, 145 (1975)

Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes and Coal-Tar Dye Aluminum Lakes from April in 1975 till March in 1976 (on the Product Examination of Coal-Tar Dyes XV)

Masahiro IWAIDA, Keizo NAKAMURA, Akira YAMAJI, Hideyo SUZUKI,
Yoko MATSUMOTO, Machiko NISHIKAWA and Yoshio KANEDA

The number of dyes inspected in this period was 387 in all, showing a decrease of 23 (5.6%) compared with the previous period, and a decrease of 339 (46.7%) compared with two years ago. The prohibition of Food Red No. 2 (amaranth) in U.S.A. affected a great deal on the production of this food dye in Japan, no amaranth having been sent to our laboratory for product examination since January 1976.

Totally 40 samples of food coal-tar dye lakes were inspected in this period. 67.5% of them consisted of lakes of Food Yellow No. 4 (tartrazine) and No. 5 (sunset yellow FCF).

Three samples of Food Yellow No. 5 and one sample of Food Red No. 102 were disqualified because they contained excess amount of chloride plus sulfate. No lake was disqualified in this period.

(Received May 31, 1976)

In Japan, food coal-tar dyes as well as their aluminum lakes shall not be sold, displayed for sale, nor be used for business unless they are labeled to the effect that they have passed the product examination carried out by the Ministry of Health and Welfare. Products in the western

part of Japan are under the charge of the National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch. The total numbers of dyes inspected for these six years are as shown in Table 1.

The number of dyes inspected in the fiscal year 1975/1976 (excluding dye aluminum lakes) was

Table 1. A summarized table of product examination of coal-tar dyes (including dye lakes) carried out in the latest six years

Fiscal year	Judgement			Amount of dyes examined (kg)		
	Total	Passed	Rejected	Total	Passed	Rejected
1970/1971	1,760	1,747	13	210,334	208,892	1,442
1971/1972	1,383	1,375	8	164,664	163,704	960
1972/1973	1,332	1,313	19	225,890	222,530	3,360
1973/1974	812	797	15	241,727	237,192	4,535
1974/1975	447	428	19	129,638	124,488	5,150
1975/1976	427	421	6	123,756	121,956	1,800

- Note: 1. Each fiscal year begins in April and ends in March
2. In August 1972, sampling size was enlarged from 120 to 300 kg

Table 2. Numbers of coal-tar dyes tested in each month

Classification	1975										1976			Total
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
Food Red No. 2 (Amaranth)	3	2	2	2	6	4	2	5	7	—	—	—	33	
No. 3 (Erythrosine)	2	2	—	1	1	3	1	2	3	3	2	1	21	
No. 102 (New Coccine)	4	3	3	5	10	7	5	8	11	4	—	3	63	
No. 104 (Phloxine)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
No. 105 (Rose Bengale)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
No. 106 (Acid Red)	1	—	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	12	
Food Yellow No. 4 (Tartrazine)	13	8	3	18	25	16	12	21	26	15	3	13	173	
No. 5 (Sunset Yellow FCF)	7	2	2	6	14	4	—	9	10	4	3	6	67	
Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF)	1	1	—	—	1	1	1	2	1	1	1	1	11	
No. 2 (Indigo Carmine)	1	—	—	1	1	—	—	1	2	—	—	1	7	
Total	32	18	11	34	59	36	22	49	62	28	10	26	387	

387 in all, showing a decrease of 23 (5.6%) compared with the previous period and a decrease of 339 (46.7%) compared with two years ago. Numbers of coal-tar dyes (excluding aluminum lakes) tested in each month are summarized in Table 2. The prohibition of Food Red No. 2 (amaranth) in the United States affected a great deal on the production of this dye in Japan, no amaranth having been sent to our laboratory for product examination since January this year. Total number of Food Red No. 2 inspected reduced by half compared with the previous period¹⁾, while a slight increase (3 samples) and a considerable decrease (19 samples) was observed in Food Red No. 3 (Erythrosine) and Food Red No. 102 (New Coccine), respectively. Neither Food Red No. 104

(Phloxine) nor Food Red No. 105 (Rose Bengale) was produced in this period. Food Yellow No. 4 was still proved to be the most frequently used food dye this year, showing an increase of 28 in sample number compared with the previous period¹⁾.

The inspections were carried out according to the 3rd Edition of the Japanese Standards of Food Additives excepting for the tests of heavy metals, chloride and sulfate in which the procedures already developed by Nomura and Tonogai²⁻⁴⁾ were used.

In July three samples of Food Yellow No. 5 (Manufacturer D) were condemned because they contained 5.0% of chloride and 0.3% of sulfate. It is prescribed in the Japanese Standards of Food

Table 3. Numbers of coal-tar dye aluminum lakes tested in each month.

Classification	1975								1976			Total	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		3
Food Red No. 3 Aluminum Lake	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	2	—	5
Food Yellow No. 4 Aluminum Lake	—	—	—	—	5	—	—	6	—	3	—	—	14
Food Yellow No. 5 Aluminum Lake	—	2	3	—	3	—	—	—	—	3	—	—	13
Food Blue No. 1 Aluminum Lake	—	2	—	—	—	—	2	—	—	—	1	—	5
Food Blue No. 2 Aluminum Lake	—	2	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	3
Total	0	6	3	0	8	0	5	7	0	6	3	2	40

Additives that total amount of chloride and sulfate of this dye must not be more than 5%. In August, three samples of Food Red No. 102 (Manufacturer D) were condemned because they contained 7.2~7.3% of chloride and 1.1~1.3% of sulfate. It is prescribed in the Japanese Standards that total amount of chloride and sulfate of this dye must not be more than 8%. It must be noticed, here, that, on the condemnation of the above-mentioned six dyes, chloride as well as sulfate contents were determined not only by use of potentiometric method¹⁾ and turbidimetric method²⁾, but also by the method directed in the "coloring matter tests" of the Japanese Standards. The data shown here are based on the latter.

Looking back the latest six years we recognize that only one sample of Food Yellow No. 5 and 3 samples of Food Red No. 3 in the year 1970/71 and one sample of Food Red No. 3 in the year 1971/72 were condemned because of the excess content of chloride plus sulfate, no dyes being condemned by this item during the years 1972/73, 1973/74 and 1974/75. The results suggest us that

untiring watch should be paid in future on the purity of coal-tar dyes. Food Green No. 3 was not produced this year, too.

Totally 40 samples of food coal-tar dye aluminum lakes were subjected to inspection during the year 1975/76 (37 samples in the previous period), all of them being the products of manufacturer A. The details are as shown in Table 3. 67.5% of them consisted of lakes of Food Yellow No. 4 and No. 5. No dye lakes of Food Red No. 2 and Food Green No. 3 were produced this year, too. No lake was disqualified in this period.

References

- 1) M. Iwaida, S. Iga, K. Nakamura, A. Yamaji, K. Ueda, M. Nishikawa: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 93, 127 (1975)
- 2) Y. Nomura, Y. Tonogai, Y. Yoshida, K. Kuriyama: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 88, 134 (1970)
- 3) Y. Tonogai, Y. Nomura: *J. Hyg. Chem.*, 18, 363 (1972)
- 4) Y. Tonogai, Y. Nomura: *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 88, 139 (1970)

塩化ビニル樹脂の衛生学的研究（第3報）
塩化ビニル樹脂製品中の残存モノマーについて

辰濃 隆・佐藤美恵子・谷村顕雄

Hygienic Study on Polyvinyl Chloride. III
Residual Vinyl Chloride in Polyvinyl Chloride Products

Takashi TATSUNO, Mieko SATO and Akio TANIMURA

Vinyl chloride monomer in polyvinyl chloride for food packaging was determined by gas chromatography attached with back flash apparatus and mass spectrometry. The limit of detection was 1 ppm of vinyl chloride in material.

The levels of vinyl chloride found in polyvinyl chloride material were 0.0-116.9 ppm for blow bottles and 0.0-16.0 ppm for sheets.

(Received May 31, 1976)

まえがき

昭和48年米国で塩化ビニル樹脂 (Polyvinyl chloride, PVC) 製容器 (無可塑製品) にジンやウオッカなどの高濃度アルコール飲料を充填しておいたところ、内容に異臭が生じたことから問題となり、その原因物質を追求したところ、塩化ビニルモノマー (Vinyl chloride monomer, VCM) が 10~20 ppm 検出され、その結果からアルコール飲料への使用が禁止された¹⁾。この時点での PVC 中の残存 VCM は約 500 ppm 前後ではないかと推察されている。

わが国でも、この報告によって清酒容器に PVC 製容器が用いられていたため、清酒中へ移行した VCM 量を測定したところ、検出されていない²⁾。

さて現在わが国では PVC 中の残存 VCM 量はほとんど 0.5 ppm 以下になるように製造されていると伝えられるが、市場には5年前の製品も残って売られていることから、PVC 中の残存 VCM について測定を行なった。

VCM の測定には紫外外部吸収によるもの、ガスクロマトグラフ法^{3,4)} マスフラグメントグラフ法⁴⁾ などが報告されている。

材質中の VCM の定量法は一般にテトラヒドロフラン (THF) やジメチルアセトアミド (DMAC)⁴⁾ を用いて溶解し、この溶液を用いる方法や、この溶液を加熱して VCM を揮散させてガス化して行なう方法⁵⁾ さらにガスをエタノールに吸収させたのちに用いる方法などがある。

ガスクロマトグラフ法の場合、FDA⁴⁾ ではユーコ

ンオイル LB-550X, PEG-20M, ポラバック S, クロモソルブ 104 などのカラム充填剤を用いており、わが国では衛生試験法⁶⁾、塩ビ食品衛生協議会⁷⁾ などではユーコンオイル LB-550X, シリコン DC550, PEG 20M を、また昨年厚生省環境衛生局長通知によって出された試験法⁸⁾ ではユーコンオイル LB-550X とクロモソルブ 104 が採用されている。

今回の実験では、厚生省より出されている暫定試験法を用いて、市販の PVC 製容器中の VCM を測定し、多量検出されたものについては、ガスクロマトグラフ・マススペクトル法で VCM を確認した。

実験の部

試験品：市販のものをデパート、スーパーマーケット、小売店より購入

使用機器

ガスクロマトグラフ：柳本製 GCF-80 にバックフラッシュ装置を付属させたもの

ガスクロマトグラフ マススペクトルメーター：島津 LKB-9000

試薬

THF：VCM 定量に支障のないように蒸留したもののエタノール：同上

VCM 標準溶液：衛生試験法の方法により調製する。

試験溶液の調製

試験品を 0.5×1.0 cm に細切し、シリコンゴムキャップをつけた 10ml メスフラスコ中に 0.1 g を秤り入れ、冷却した THF を加えて 10 ml とし、時々

Table 1. Operating Conditions for G.C.

Apparatus:	YANACO GC F-80 and Auto precut YANACO GPC-10A
Detector:	FID
Main column:	Chromosorb 104 (80~100 mesh) 0.75 m×3 φ stainless
Precut column:	Chromosorb 104 (80~100 mesh) 2.25 m×3 φ stainless
Column temp:	120°
Injection temp:	150°
Flow Rate:	N ² 20 ml/min H ₂ 0.5 kg/cm ² air 1.0 l/min

Table 2. Operating Conditions of GC/MS

Apparatus:	Shimadzu LKB 9000
Column:	Ucon oil LB550X (10%)/Chromosorb w/AW (60~80 mesh) 2 m×3 φ glass
Column temp:	50°
Injection temp:	150°
Ionization chamber temp:	250°
Ionization voltage:	m/l 62
Trap Current:	60 μA
Acc. H.V.:	3.5 kV
Sep. temp:	100°
Ion Source temp:	330°
Scan Speed:	10 mm/sec
Recorder Speed (MS):	1 cm/min
Filter:	120 Hz

ゆり動かして溶解させる。この液をガスクロマトグラフ用試験溶液とする。

ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラフィーの条件は表1のとおりである。

上記の条件で行なったガスクロマトグラムを Fig. 1 に示す。FDA ではカラム温度 100° で行なっているが、ピークがブロードとなり、検出限界が落ちるので 120° で行なった。

検量線

0.05, 0.1, 0.5, 1.0 ppm の VCM エタノール溶液を調製、各 10 μl 注入して上記の条件でガスクロマトグラムをとり、ピーク高さから検量線を作製した。検量線は 0 から 10 μg/ml の濃度間で $y=1.37x$ の直線を示した。

試験結果

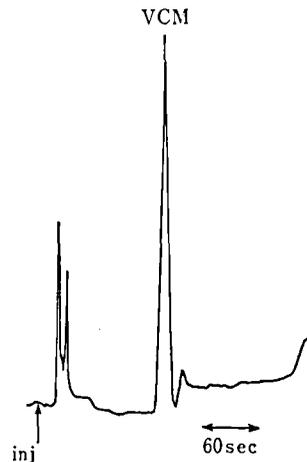


Fig. 1. Gas chromatogram of VCM (10 ng)

Table 3. Amounts of VCM in PVC bottle on the market

Bottle Maker	Food	Packing date	VCM in Material ppm
Z	Soy-Sauce A-1	48. 4. 7	0.9
S	2	49. 1.23	57.2
Z	3	49.12.18	ND
Z	4	50. 7. 8	ND
W	5	50. 7. 8	ND
W	6	50. 7.14	ND
S	7	50. 7.23	ND
S	8	50. 7.22	ND
W	9	50. 7.31	ND
S	10	50. 8. 1	ND
S	B-1	48.10. 4	5.5
S	2	50. 7.22	ND
R	C	50. 6.30	1.1
W	Sauce A-1	45. 3.27	9.7
W	2	45. 3.27	50.0
Z	3	47.11. 2	ND
W	4	48. 5. 3	ND
S	5	49. 5.21	ND
U	B-1	49. 2.19	116.9
U	2	49. 6. 3	80
Z	3	49.11. 2	ND
U	4	49.12.13	ND
Z	5	50. 6. 4	ND
U	6	50. 6.20	ND
U	7	50. 8. 6	ND
U	8	50. 8. 8	ND
Z	9	50. 9.23	ND
Z	C-1	45. 7.16	ND
S	2	49. 4.28	ND
Z	3		ND
T	D-1	50. 5.31	ND
T	2	50. 8. 4	ND
X	Salad oil A-1	50. 1.23	2.8
W	2	50. 3.18	ND
X	3	50. 4.24	ND
V	4	50. 5.23	ND
V	5	50. 5.27	ND
V	6	50. 6.12	ND
X	7	50.10. 1	ND
W	B-1	before S.45	8.4
W	2	48. 9.19	ND
Z	Vinegar A-1	49. 6. 6	17.2
Z	2	50. 6.13	ND
Z	3	50. 7.16	ND
Z	4	50. 7.17	ND
Z	Mirin A-1	50. 2	ND
Z	2	50. 2	ND

Bottle Maker	Food	Packing date	VCM in Material ppm
Z	3		ND
Y	Pickled Plum A-1		ND
Z	2		ND
Z	Sake	50. 9. 5	ND
	Soup buckwheat nodles		ND
	Carbonated flavored drink		ND

Table 4. Amount of VCM in PVC ware on the market

Ware Maker	Food	Packing date	VCM in Material ppm
L	Egg A		0.3 >
P	B-1		0.2 >
O	2		0.3 >
Q	Quail egg		0.2 >
M	Margarine A-1	50. 6. 6	0.3 >
Q	2	9.27	0.2 >
L	3	10. 8	0.2 >
O	B-1	10. 3	0.3 >
N	2	10.14	0.3 >
L	C-1	9.10	0.3 >
N	2	10.17	0.3 >
O	D	10. 7	0.3 >
M	E	9. 2	0.3 >
L	F	8.13	0.3 >
P	Chocolate A	9. 3	0.2 >
L	B-1		0.3 >
N	2		0.3 >
O	3		0.3 >
M	C-1		0.34
M	2		0.3 >
P	3		0.2 >
Q	4		0.2 >
P	D		0.2 >
L	E		2.7
M	Japanese pastry cake	50.10.30	0.3 >
N	Rice cake	10.31	0.3 >
N	Arrowroot starch cake	10.31	0.3 >
M	Rice cracker		0.3 >
O	Strawberry jam	9. 8	0.3 >
M	Peanut butter	7.24	0.3 >
O	Pickled Plum A		0.6
P	B-1		0.2 >
L	2		0.5
M	Miso	9.29	0.3 >
L	Bean curd		0.2 >
O	Yaki-nori		0.3 >

Ware Maker	Food	Packing date	VCM in Material ppm
P	Sharbet	A	0.2 >
L		B	5.0
M		C	0.97
N		D-1	0.3 >
O		2	0.3 >
Q	E		0.2 >
N	Ice cream		0.3 >
L	Mix fruit jelly		0.3 >
Q	Carbonated flavored drink		0.2 >
N	Preserved "Wasabi"	A	0.3 >
P		B	1.0
O	"Tangle tsukudani"	A	50. 10. 14
Q		B	0.2 >
N	"Kinzanji-Miso"		0.3 >
P	"Surume-Uni"	10. 22	0.3 >
Q	"Matsumae-zuke"		0.2 >
Q	"Yomenakasi tsukemono"		0.2 >
L	Dainty	10. 28	0.9
Q	"Nama-ami"	10. 29	0.2 >
O	Pried persimmon		0.3 >
L	Lettuce		0.3 >
P	Orange		0.2 >
N	Apple		0.3 >
M	Grape		0.3 >
N	"		0.3
Q	Sudachi		0.2 >

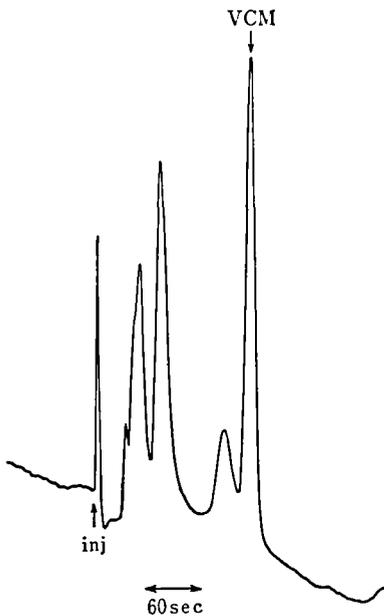


Fig. 2. Gas chromatogram of VCM in PVC material (10.8 ppm)

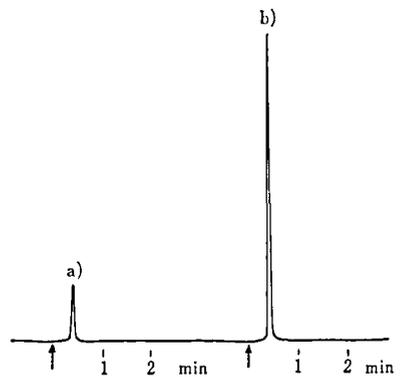


Fig. 3. Mass fragmentogram of Vinyl Chloride (m/e 62)

a) VCM standard solution ($2 \mu\text{g/ml}$)

b) Sample solution (dissolved of 0.5 g of PVC in 10 ml of THF.)

購入した試験品を水で洗い、風乾したのち、 5×10 mm 角に細切し、その 1g を THF 20 ml に溶かし、前述の条件を用いて、PVC 材質中の VCM を測定し

Table 5. VCM contents in PVC

Maker	Contents of VCM in PVC			
	1 ppm > Sample	1~10 ppm Sample	10~100 ppm Sample	> 100 ppm
L	10	2 (?)		
M	11			
N	13			
O	10		1 (S.50.10)	
P	9			
Q	9			
R	0	1 (S.50.6)		
S	6	1 (S.48.10)	1 (S.49.1)	
T	2			
U	4		1 (S.49.6)	1 (S.49.2)
V	3			
W	6	2 (S.45.3) 1 (S.45.1)	1 (S.45.3)	
X	1	1 (S.50.1)		
Y	1			
Z	15		1 (S.49.6)	

() packing date

た。その結果を Table 3, 4 に示す。また市販品の PVC 中の VCM のガスクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

以上の結果から、材質中に多量の残存モノマーが検出されたものについて、前にのべた条件で GC/MS 法 (m/e 62) で VCM を確認した。その 1 例を Fig. 3 に示す。

考 察

Table 3, 4 に示すように PVC 材質中の VCM の最高値はソース容器 (製造年月日 49.2.19 日以前) 119.2 ppm であり、10~100 ppm は全製品中 5 件 (4.0%)、1~10 ppm のものは 8 件 (6.4%) で 1 ppm 以下は 88.8% であった。

ボルト容器の場合は通常液体食品が充填されることから、1 ppm と暫定規格が定められている現在、容器重量と容量との関係から、仮に全量残存 VCM が内容へ移行したとすると、1 l の容器 (重量 45~50 g) 中の食品へは、0.05 ppm となる。しかし全量移行ということはないので内容食品中は 0.05 ppm 以下となるであろうと推測できる。

つぎに容器製造所別に見ると Table 5 のようにな

り 1 ppm 以上の VCM を含むものを作製したところは全般的にみられるが、その製造年月日はほぼ 48 年後半~50 年前半に集中しており、この時期は石油ショックで粗悪な PVC も出廻ったと思われ、さらにこの時期から PVC 業界で VCM について注意が払われ始めた頃でこの後のものはほとんど 1 ppm 以下になつた。

文 献

- 1) FDA Proposed regulation, Federal Register, May 17 (1973), 38, FR 12931
- 2) 塩ビ食品衛生協議会々報 No. 23, 24, p.91 (1973)
- 3) D.T. Williams, W.F. Miles: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 58, 272 (1975)
- 4) C.V. Breder, J.W. Dennison, M.E. Brown: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 58, 1218 (1975)
- 5) 馬場二夫, 明橋八郎: 第31回日本食品衛生学会 学術講演会要旨 p.27 (1976)
- 6) 辰濃 隆, 河村太郎: 衛生化学, 21, A-8 (1975)
- 7) 塩ビ食品衛生協議会々報 No. 33, 53 (1976)
- 8) 環食化第 53 号厚生省環境衛生局長通知 12.3. (1975)

塩化ビニル樹脂の衛生学的研究（第4報）
塩化ビニル樹脂製容器充填食品中の塩化ビニルモノマー量について

辰濃 隆・佐藤美恵子・谷村顕雄

Hygienic Study on Polyvinyl Chloride. IV
Determination of migrated Vinyl Chloride in Food
from Polyvinyl Chloride Bottle

Takashi TATSUNO, Mieko SATO and Akio TANIMURA

Vinyl chloride in foods was determined by gas chromatography attached with back flash apparatus and mass-spectrometry by passing nitrogen method. The limit of detection was 0.01 ppm for this method.

The levels of vinyl chloride found in foods packaged in polyvinyl chloride bottles were 0.00-0.19 ppm for soy sauces, 0.00-0.59 ppm for sauces, 0.00-0.11 ppm for vegetable oils and 0.00-0.23 ppm for vinegars.

(Received May 31, 1976)

ま え が き

前報¹⁰⁾で塩化ビニル樹脂 (Polyvinyl chloride, PVC) 製品中の塩化ビニルモノマー (Vinyl chloride monomer, VCM) 量について報告した。その中には材質中 VCM が 100 ppm を越えるものもあり、食品中への移行量が問題となってくる。

材質から内容への VCM の移行については、G.A. Daniels¹⁾と辰濃ら²⁾が相関を検討しており、その報告では 1~2 ppm の材質中の VCM 量の場合 (充填時) は内容食品への移行はないとしている。

食品中の VCM の定量法としては、紫外部吸収による吸光光度法³⁾、水素炎イオン化ガスクロマトグラフ法 (FID GC 法)⁴⁾⁵⁾、マスフラグメントグラフ法⁴⁾⁵⁾などがあり、そのなかでも FID GC 法が般用されている。

試料としては、食品を直接 GC 供試液⁴⁾とする場合や食品から VCM を分離して行なう方法があり、また食品から気化させて行なう方法⁴⁾⁶⁾なども報告されている。

今回の VCM 定量法は、食品へ窒素ガスを導入し、VCM を揮散させて、冷却したエタノール中へ吸収させ、この液を用いてガスクロマトグラフ法〔昭和 49 年度 VCM に関する特別研究〕(科学技術庁)の際に検討⁷⁾およびガスマス法で行なった。

実 験 の 部

使用機器および試薬類は前報¹⁰⁾と同じである。

試験溶液の調製

Fig. 1 のような装置を組み、水浴 80°C に調整する。つぎに B に 30 g の試料を入れて速やかに装置を組み立て、N₂ ガスを 60 ml~70 ml/分の割合で通ずる。この状態で45分間放置し、その後吸気管をはずし、シリコンゴム栓をしてよく振りまぜて、冷却槽に放置する。この液をガスクロマトグラフィー用試験溶液とする。

VCM の定量

前報¹⁰⁾と同じ条件にガスクロマトグラフを調整し、ガスクロマトグラフィー用試験溶液 10 μl 注入し、VCM の示すピーク高さを測り、検量線より VCM 量を求める。

検量線

前報に示したように 0~10 ng の VCM 注入量間で $y=1.37x$ の直線性を示す。

回収率

食品 30 g をなるべく冷却し、その中にドライアイス・エタノール中で冷却した VCM 標準溶液一定量を注入する。そして試験溶液の調製と同様にして、VCM を定量する。この回収率は Table 1 に示すように食品によって異なる。

結果

各食品についてこの VCM 定量法の回収率を検討し

た結果 80~95% の回収率が得られた。ついで上記の試験法を用いて、市販 PVC 製容器入り食品について移行している VCM の測定を行なったところ、Table 2 に示す結果を得た。

なお確認のための GC-MS 法 (m/e 62) を用いたところ、いずれも VCM であることが確認された。GC-MS の測定は前報¹⁰⁾ のとおりであり、食品中の VCM を確認したチャートは Fig. 2 に示す。

食品中に検出しないというのは 0.01 ppm 以下であり、食品充填時の材質で 1 ppm 以下のものならば食品中に移行していない結果が得られた。

考 察

食品中の VCM の定量法に窒素追い出し法を用いて行なった結果、Table 1 に示す回収率が得られた。食

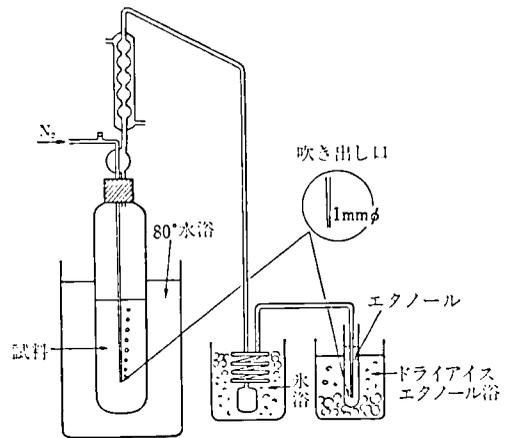


Fig. 1. Apparatus of VCM Analysis

Table 1. Recovery from foods

Food	Added (μ g)	Food (μ g)		Recovery (%)
Soy-Sauce	4.5	4.30,	4.34	95.9
"	113	103.5	102.8	91.6
Worcester-Sauce	10	9.71	9.43	95.7
Chūnō-Sauce*1	100	88.4	84.4	86.1
Tonkatsu-Sauce*2	10	8.59	7.91	82.5
Salad oil	100	91.6	91.5	91.6
Margarin	10	9.0	8.8	89.0

*1 a kind of half pulpy sauce

*2 a kind of fruit sauce

Table 2. Amounts of migrated VCM in food from PVC bottle

Food	volume (ml)	Bottle weight (g)	Content of VCM (ppm)	Packing date	VCM in food (ppm)
Soy-Sauce					
A	500	32	0.9	S.48. 4. 7	ND
B	1000	49	5.5	48.10. 4	0.02
C	500	33	57.2	49. 1.23	0.19
D	1000	48	1.1	50. 6.30	ND
Sauce					
A (worcester)	300	15	9.7	45. 3.27	0.19
B (chūnō)	500	37	116.9	49. 2.19	0.14
C (worcester)	300	16	50.0	45. 3.27	0.59
D (tonkatsu)	300	38	80.0	49. 6. 3	0.39
Salad Oil	400	26	2.8	50. 1.23	0.11
Vinegar	360	23	17.2	49. 6. 6	0.23

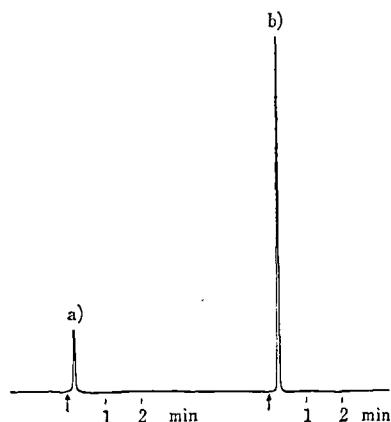


Fig. 2. Mass fragmentogram of Vinyl Chloride (m/e 62)

- a) VCM standard solution (20 ng)
b) Sample solution (absorbed in ethanol)

品から見るとショウ油、ソースなどの粘度の小さいものは回収率がよいが、粘度が大きくなるにつれて回収率は低下する傾向が見られる。この点について窒素の通気量とその時間を再検討することによって、回収率は向上すると推定し、検討を行なっている。一方市販PVC製容器入り食品中のVCM量について、前報¹⁰⁾での材質中に残留するVCM量の多い容器中の食品について主に検討したところ、食品中にVCM量の最も多かったものはトンカツソース（昭和45年3月充填、充填時材質中61 ppm以上と推定）でVCMが0.59 ppm検出され、材質中約2 ppm（昭和48年6月）のものでは検出されていない。われわれの科学技術庁に報告した資料でも材質中のVCMと移行するVCMの相関関係を検討した結果、材質中のVCM 2 ppm以下ならば、内容へはVCMは移行しないというこ

と²⁾と、同一の結果を得た。

このことから現在暫定基準材質中VCM 1 ppm以下という数値⁹⁾は充分にVCMの移行がない（0.05 ppm以下）という根拠になり得るものでPVC製容器包装材はVCMの食品への移行に関してなら衛生的問題がないとみられる。

一方毒性面でのVCMの経口投与による発ガンはマウスらによって行なわれており、現在、3.3 mg/kg/ラットの投与（週4～5回）群においては発ガンしたものはない（20カ月経過）⁹⁾といわれており、この数値からも、現在の食品中のVCM量（0.05 ppm以下）ではほとんど衛生的に安全であろうと推察される。

文 献

- 1) G.A. Daniels, D.E. Proctor: *Modern Packaging* 45~48 (1975)
- 2) 辰濃 隆, 佐藤美恵子, 谷村顕雄: 「ビニルクロライドモノマーに関する研究」科学技術庁報告書 (1976)
- 3) FDA への返書, Feb (1973)
- 4) D.T. Williams W.F. Miles: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 58, 272 (1975)
- 5) C.V. Breder, J.W. Dennison, M.E. Brown: *ibid*, 58, 1214 (1975)
- 6) イタリア衛生法規（塩ビ食品衛生協議会投資別冊(5)）(1975)
- 7) 辰濃 隆, 佐藤美恵子, 谷村顕雄: 科学技術庁報告書 (1976)
- 8) 環食化第53号厚生省環境衛生局長通知 (12.3.1975)
- 9) C. Maltoni, A. Ciliberti: *Gei Ospedali della Vita.*, 2, 102 (1975)
- 10) 辰濃 隆, 佐藤美恵子, 谷村顕雄: 衛生試報, 94, 145 (1976)

歯みがきによる歯の磨耗と掻痕度試験について

慶田雅洋・金田吉男

On the Abrasiveness of Dentifrices and a Simple Method for Testing Gritty Matters in Dentifrices

Masahiro IWAIDA and Yoshio KANEDA

It must be noticed that the basic requirements of dentifrices are that the abrasives present shall assist in cleaning the teeth without causing injury to them and irritation to the mucous membrane of the mouth.

Besides, the dentifrices shall be free of particulate matter that might scratch the surfaces of exposed dental tissues and perhaps impair the cosmetic properties of the product. Metal disc (coin)/glass technique was examined on various kinds of dentifrice components as well as commercial tooth pastes and tooth powders, with a view to adopt it as a gritty matter test for the hygienic chemists of Japan. Zirconium silicate, the particle size of which being below 55μ (Mohs' scale of hardness: 7) and silicate stone (Mohs' scale of hardness: 7) caused scratch by the ratio of 1/3. Of the 12 dentifrices examined, only one product imported was found to be positive by this test.

(Received May 31, 1976)

戦前から戦中、戦後の一時期まで使用されていた歯みがき粉 (tooth powder) は今日ではほとんどみらなくなり、ねりはみがきにとってかわった。ねりはみがきの処方例を示すと次の通りである。

研磨剤	20~40(%)
湿潤剤 (グリセリン, ソルビット)	10~30
水	20~30
増粘剤 (CMC, カラギーナン)	1~5
発泡剤	1~2
着香料	1~5

歯みがきによる歯の磨耗に注目したのは、1907年の Miller¹⁾ が最初であった。歯みがきの性質としては口腔内粘膜を刺激しないことのほかに歯を損わないことが肝要であり、歯みがき中の粗大粒子の存在および歯の磨耗をもたらす高硬度物質の試験法として掻痕度試験法 (gritty matter test)²⁾ があり、一方、歯を対象としてブラッシングの影響をみながら歯の磨耗を試験するものとして overall wear test³⁾ がある。前者については 1935 年にアメリカ財務省で採用した metal disc (coin)/glass slide technique が現在でも引続き National Standards Specifications として採用されている。わが国では、1974年にはみがきの衛生試験法に掻痕試験法を追加することが企画され、著者らもその検討を行なったのでその結果についてここに報告する。

試料および実験方法

1. 試料: 1974年12月現在の大阪地区で市販されていたねりはみがき10種類および当部に保管してあった歯みがき粉を2種類、試料として使用した。硬度標準物質としてはりん灰石 (apatite)、けい酸ジルコニウム、珪石および第二りん酸カルシウムを使用した。歯みがきの成分中掻痕を生ずる恐れがある物質としてけい酸アルミニウム、炭酸カルシウム、ピロりん酸カルシウム、無水けい酸および第二りん酸カルシウム (無水物および二水和物) について試験した。

2. 実験方法: Fig. 1 に示した装置を使用した。

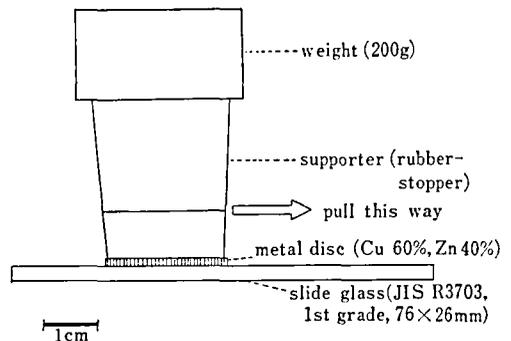


Fig. 1. Apparatus for metal disc (coin)/glass slide technique

Table 1. Results of gritty matter test carried out on various substances

Classification	Sample	Mohs' scale of hardness	Particle diameter (μ)	Results of three trials
Standard substances for scale of hardness	Apatite	6	5~20	0/3
	Zirconium silicate	7	< 45	0/3
	Zirconium silicate	7	< 55	1/3
	Silicate stone	7	20	1/3
	Calcium phosphate Dibasic	5	10	0/3
Dentifrice constituents	Aluminium silicate	3	—	0/3
	Calcium carbonate	3	—	0/3
	Calcium pyrophosphate	≈4	—	0/3
	Silicic anhydride	1~2	—	0/3
	Calcium phosphate Dibasic, anhydrous	3	—	0/3
	Calcium phosphate Dibasic, dihydrate	2	—	0/3
	Matsunami Glass Micro slide glass JIS R3703 1st grade	≈6	—	—

Table 2. Results of gritty matter test carried out on commercial dentifrices (paste and powder)

Manufactured in	Manufacturer	Sample No.	Type	Results of three trials
Japan	A	1	Paste	0/3
Japan	A	2	Powder	0/3
Japan	B	3	Paste	0/3
Japan	B	4	Paste	0/3
Japan	B	5	Paste	0/3
Japan	B	6	Paste	0/3
Japan	B	7	Powder	0/3
Japan	B	8	Paste	0/3
Japan	B	9	Paste	0/3
Japan	B	10	Paste	0/3
U.S.A.	C	11	Paste	0/3
West Germany	D	12	Paste	3/3

試料 1g を水 3ml に分散させ、その約 0.5g をスライドガラス上的一端に取り、掻痕試験器を載せて、スライドガラスの他端までひもで引いて水平にすべらせた。ついでスライドガラスを水、10% 温硝酸、水の順に洗浄し、乾燥した後、透過または反射光線下で観察し、スライドガラス面における掻痕（引っ張りき

ず）の有無を調べた。

実験結果

硬度標準物質による掻痕を調べた結果は Table 1 に示す通りである。Mohs 硬度 5~6 のものでは掻痕は認められず、硬度 7 のものではけい酸ジルコニウム

の大粒子のものに1例、珪石は小粒子にもかかわらず1例に搔痕が認められた。また、製造原料としての研磨剤(いずれも Mohs 硬度4以下)について調べた結果は全く搔痕を認めなかった。なお、使用したスライドガラスの Mohs 硬度は約6であった。

歯みがきの搔痕度試験の結果については Table 2 に示した。国産10種およびアメリカ産1種については搔痕を認めなかったが、西ドイツ製1種については3回の搔痕度試験の結果はいずれも陽性であった。

考察および結論

歯みがきの中の研磨性物質および粗大粒についての試験法としての metal disc/slide glass 法の適用について検討した。本法は簡単な方法であるが、現在でもこの方法で搔痕度陽性となる製品があることから、歯

みがきの品質試験法として有用であると結論した。なお、本法は1975年に衛生試験法として追加された⁴⁾。

終りに臨み試料、文献などの入手に当り種々お世話戴いたサンスター歯磨剤の相本健次氏およびライオン歯磨剤の沢村邦夫氏に感謝します。

文 献

- 1) W.D. Miller: *D. Cosmos XLIX*; 1, 109, 225 (1907); R.J. Grabenstetter, R.W. Broge, F.L. Jackson, A.W. Radile: *J. Dental Res.*, **37**, 1060 (1958)
- 2) W. Souder, I.C. Schoonover: *J. Amer. Dental Assoc.*, **24**, 1817 (1937)
- 3) K.H.R. Wright, J.I. Stevenson: *J. Soc. Cosmetic Chemists*, **18**, 387 (1967)
- 4) 衛生化学, **21**, 135 (1975)

空気中のアクロレインの改良 4-ヘキシルレゾル シノール法による測定について

山手 昇・松村年郎

Determination of Acrolein in Ambient Air by Use of Modified 4-Hexylresorcinol Method

Noboru YAMATE and Toshiro MATSUMURA

Modified 4-hexylresorcinol (4-HR) method, which samples acrolein in the polluted air into sodium bisulfite solution, was established. Compared to the traditional 4-HR method, modified method keeps the sampled acrolein stable, and has less interference gas effect. This method should be quite effective for determining the very small concentration of acrolein in the polluted air.

(Received May 31, 1976)

アクロレインは石油精製、アクロレイン製造、化粧工場、ワニス製造、油脂加工工場などの排ガスおよび自動車燃料の不完全燃焼によって発生する。また、大気中において窒素酸化物と炭化水素の光化学反応によって生成するもので、光化学スモッグ時における眼のチカチカの原因物質の一つとされている。

著者らは、汚染大気中のアクロレインの測定にポーラログラフ法が有用であることを報告¹⁾したが、今回はアクロレインの捕集法を改良して 4-ヘキシルレゾルシノール (4-HR) 法によって、汚染大気中のアクロレインを精度よく測定できる方法を確立したので報告する。

Cohen²⁾ らの 4-HR 法は、空気中のアクロレインの測定に広く使用されている方法で、アクロレインの捕集にエチルアルコール又は吸収発色液 (4-HR, 塩化第二水銀およびトリクロル酢酸のアルコール溶液) を用いている。しかし、この方法は、捕集率が悪くかつ、道路付近の汚染大気中のアクロレインの測定に用いた場合、呈色液が赤色を呈する場合が多くみられて、アクロレインの濃度が正しく測定されているか明らかでない。著者らは、Willson³⁾ がカルボニル化合物の測定に用いた亜硫酸水素ナトリウム溶液を吸収液に使用して 4-HR 法で測定する方法について検討した。

実 験

1. 装置

日立分光光度計 102

2. 試薬

(1) 吸収液：亜硫酸水素ナトリウム 1g を水に溶かして 100ml とする。

(2) 4-ヘキシルレゾルシノール-塩化第二水銀 混合溶液：4-ヘキシルレゾルシノール 2.5g と塩化第二水銀 0.3g をエチルアルコールに溶かして 50ml とする。

(3) トリクロル酢酸溶液：トリクロル酢酸 500g に水 25ml 及びエチルアルコール 28ml を加えて、温浴中にて加温溶解する。

(4) アクロレイン標準溶液：十分乾燥、冷却した重量既知の注射筒 (1ml) に精製アクロレイン 0.1ml をとり、針の先にゴム栓をとりつけ秤量する。このアクロレインをエチルアルコール約 8ml をいれた 10ml のメスフラスコに移し、エチルアルコールを標線まで加え原液とする。注射筒を秤量して前後の重量差よりアクロレイン採取量を求める。原液の一定量を分取し、エチルアルコールを加えて 1ml 中 50.06 μg のアクロレインを含む溶液を調製し、アクロレイン標準溶液とする。この標準溶液 1ml はアクロレイン 20 μl (0°, 760 mmHg) に相当する。

3. アクロレインの採取方法

採取装置としては Fig. 1 に示すような装置を構成する。試料大気の採取は、吸収管 (直径 18mm, 高さ 200mm, ノズル径 1mm, 内容積 50ml) 2個を直列につなぎ、各々に吸収液 10ml を入れ、吸収管を氷水中で冷却しながら、毎分 2l の流量で試料空気を 2時間通じる。各吸収管には通気によって減量した量だけの吸収液を加えて分析用試料溶液とする。

4. 定量操作

各吸収管の分析用試料溶液 4ml をそれぞれ 20ml の共栓試験管にとり、4-ヘキシルレゾルシノール-塩

化第二水銀混合溶液 1ml およびトリクロル酢酸溶液 5ml を加えてよく混和したのち、軽く栓をして、沸とう水浴中で6分間加温する。ついで室温になるまで放置したのち、ろ紙 (東洋ろ紙 No. 5C) を用いてろ過する。加温後1時間、ろ液を吸収セル 20mm に移し、波長 605 nm 付近で吸光度を測定する。あらかじめ作成した検量線よりアクロレインの体積を求める。

5. 検量線の作成

アクロレイン標準溶液 0~1.0 ml を段階的に共栓試験管 20 ml にとり、各々に吸収液を加えて 4 ml とする。4によって操作し、アクロレインの体積と吸光度との関係線を作成する。Fig. 2 に検量線を示す。

6. 計算

次の式によって試料空気中のアクロレイン濃度を算出する。

$$C = 2.5 \times \frac{v}{V} \times \frac{273 + t}{273}$$

ここで C : アクロレイン濃度 (ppm)

v : 検量線から求めた 2 個の吸収管の分析用試料溶液中のアクロレインの体積 (μl)

V : 試料空気の採取量 (l)

t : 試料空気採取時の気温 (°)

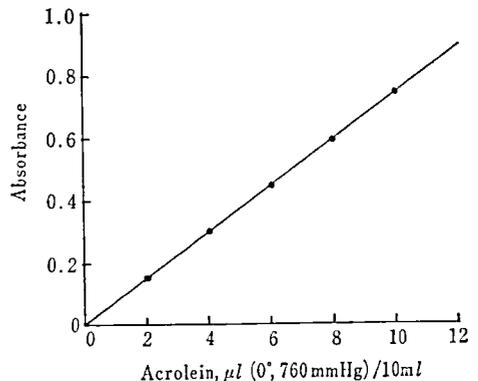


Fig. 2. Calibration curves of acrolein

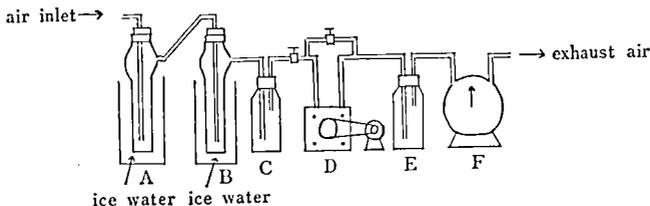


Fig. 1. Apparatus for collection of acrolein in ambient air

A, B: bubbler C, E: buffer tank D: air pump F: gas meter

Table 1. Collection efficiencies of acrolein into 1% sodium bisulfite solution at ice water temperature

Acrolein conc. (ppm)	1% Sodium bisulfite solution (ml)	Sampling air flow rate (l/min)	Sampling time (min)	Absorbance at 605 nm		
				1st bubbler	2nd bubbler	3rd bubbler
	10	1	60	0.400	—	—
0.25	10	1	100	0.760	0.005	—
	10	2	60	0.758	0.046	—
	10	2	100	1.22	0.059	—

—: No color is formed

本法は、吸収液 10 ml を用いて試料空気 240 l を採取したとき 3 ppb 以上のアクロレインの測定に適する。

結果及び考察

1. 4-HR 等の試薬濃度について

本法で用いる試薬は、Cohen らのエチルアルコールの代りに亜硫酸水素ナトリウム溶液 (1%)、発色時における 4-HR および塩化第二水銀の濃度は Cohen らに同じ、トリクロル酢酸溶液は発色時におけるエチルアルコール濃度を高めるために、水とエチルアルコールを用いて調製した。

2. 発色に及ぼす温度と放置時間の検討

Cohen らの 60°, 15 分の加温では、発色は不十分であり、最高の発色には、沸とう水浴中で加温 6 分、室温放置 60 分が最適であった。呈色液は 2 時間までは安定であるが 6 時間後には約 10%、24 時間後には約 50% の退色がみられた。

3. 吸収液中におけるアクロレインの安定性

吸収液中のアクロレインを 5° 付近に保存した場合、アクロレインは 8 時間までは安定、1 日後に約 2%、5 日後に約 8% 程度分解するにすぎなかった。したがって野外において捕集した試料は 5° 以下の冷所に保存すれば 24 時間後に分析しても精度にはそれ程影響しない。

4. 捕集率の検討

吸収管 3 本を直列につなぎ、おのおのに吸収液 10 ml をいれ、これにアクロレインを含む空気を毎分 1 l の流量で通気した場合、アクロレインの捕集は、吸収管 1 本でほぼ完全である。また、毎分 2 l で通気した場合、アクロレインのもれ込みは 2 管目に若干みられたが 3 管目には全くなかった (Table 1)。

5. 共存ガスの影響

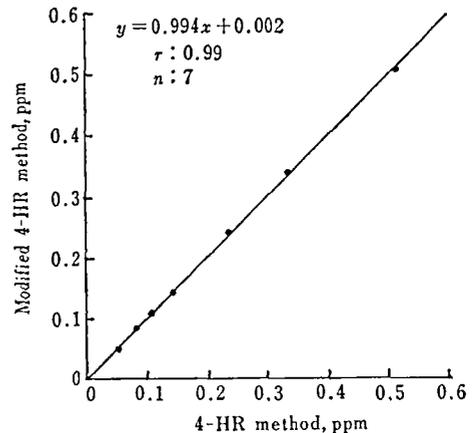


Fig. 3. Comparison of determination results obtained by 4-hexylresorcinol (4-HR) method and modified 4-HR method

車道付近の汚染大気中に含まれているホルムアルデヒド、エチレン、1,3-ブタジエン、ベンゼン及び二酸化窒素について、それぞれ 0.5 ppm にアクロレイン 0.1 ppm を含む試料ガスを調製して、アクロレインの測定を行ったがいずれもアクロレイン測定値には影響を与えなかった。

6. 本法と 4-ヘキシルレゾルシノール法との測定値の比較

6.1. アクロレイン標準ガスについて

種々の濃度のアクロレインを含むガスをテドラパック内に調製して、本法と 4-HR 法を用いて同時測定を行った。結果は Fig. 3 に示すように両法による測定値はよく一致している。

6.2. 汚染大気について

厚生省前の道路付近の汚染大気について、本法と 4-HR 法によるアクロレインの実測を行った。本法で

Table 2. Determination of acrolein in polluted air by 4-HR method and modified 4-HR method

Sampling place	Sampling date	Sampling hour	Acrolein, ppb	
			Modified 4-HR method	4-HR method
	May 12, 1975	10:40~12:40	7	—
	July 15, 1975	10:50~12:50	< 3	—
	July 19, 1975	9:10~11:10	4	—
	"	11:15~13:15	3	—
Kasumigaseki	"	13:20~15:20	3	—
in Tokyo	July 22, 1975	10:40~12:40	< 3	—
	July 29, 1975	10:50~12:50	3	—
	Aug. 15, 1975	8:15~10:15	5	—
	"	10:16~12:16	3	—
	"	12:20~14:20	3	—
	"	14:21~16:21	5	—

—: Red color is formed

は発色液は明らかに青色を呈し Table 2 にみられるように ppb オーダーのアクロレインを測定できたが、4-HR 法ではすべての試料の発色液は赤色を呈し測定不能であった。赤色を呈したことは、他のガスによる妨害をうけたためと考えられる。

む す び

汚染大気中のアクロレインを亜硫酸水素ナトリウム溶液に捕集して、4-HR 法によって測定する方法を確立した。本法は従来の 4-HR 法に比して捕集したアクロレインは安定であり、かつ妨害ガスの影響が少な

い。本法は汚染大気中の微量アクロレインの測定に極めて有用な方法と考えられる。

文 献

- 1) 山手 昇, 松村年郎: 衛生試報, 93, 130(1975)
- 2) I.R. Cohen, A.P. Altshuller: *Anal. Chem.*, 33, 726 (1961)
- 3) K.W. Wilson: *Anal. Chem.*, 30, 1127 (1958)

東京都内3カ所の国設自動車排出ガス常時測定所における 大気汚染測定結果の概要 (1975年1月~12月)

山手 昇・松村年郎・樋口英二

Summary of Air Pollutants Levels at the National Autoexhaust Monitoring Station at Three Locations in Tokyo from January to December 1975

Noboru YAMATE, Toshiro MATSUMURA and Eiji HIGUCHI

This report presents summarized results of air pollutants levels at the National Autoexhaust Monitoring station at three locations (Kasumigaseki, Itabashi and Shinjuku) in Tokyo from January to December 1975.

The results were shown in Table 1 and Fig. 1~Fig. 9 respectively.

(Received May 31, 1976)

1962年ばい煙規制法(現在、大気汚染防止法)の制定に伴ない、大気汚染測定体制の確立が必要とされたので、厚生省においては自動車排気ガスを含めた大気汚染測定のための自動計測器の開発を手がけることとし、科学技術庁の特設費によりこれを行った。この開発の成果にもとづき当所においては東京都内の3カ所に大気汚染測定所を設置し、1964年1月から二酸化いおう、浮遊粒子状物質、一酸化炭素、二酸化窒素、一酸化窒素の測定を実施している。この間、霞ヶ関測定所において1968年1月からホルムアルデヒド、1970年3月から炭化水素、1971年5月からオキシダント、大原町及び板橋の測定所においては1971年10月から炭化水素の測定を始めた。これらの成果¹⁾²⁾は環境基準設定の基礎資料として活用され、また、自動車排出ガスによる汚染状況の把握ならびに自動車排出ガスの規制対策上の貴重な資料となっている。なお、これら3カ所の測定所は環境庁の発足に伴ない1972年4月から環境庁に移管されたが、測定業務は環境庁の依頼により当所で実施している。

本報は1975年1月から12月の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、とくに自動車排出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に主眼をおいて、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、それぞれの歩道端に測定室を設置して1964年1月から測定を実施した。しかし、その後土地事情のため新

宿及び霞ヶ関の両測定所の設置場所は移動をみた。

1. 測定地点

(1)霞ヶ関測定所 日比谷公園敷地内の祝田橋通りに面する歩道端に設置されている。対向は厚生省で交通量は1日約40000台である。

この測定所は1973年2月に対向の厚生省敷地内から移転したものである。

(2)板橋測定所 板橋清掃事務所敷地内(東京都板橋区東坂下2-2)の中仙道(国道17号)に面する歩道端に設置されている。板橋工場地帯に位置しており、周辺には化学工場やばい煙発生施設が多数存在している。中仙道の交通量は1日約60000台である。

(3)新宿測定所 新宿御苑内(東京都新宿区内藤町11)の環状4号線に面する正門横の崩際に設置されており72年7月から測定を行っている。

(4)大原町測定所 1965年9月に大原町交差点の隅の敷地内(東京都杉並区方南町1丁目)に設置され測定を開始したが土地事情のため1974年4月をもって廃止し、上記の新宿御苑に移した。なお、この測定室は甲州街道と環状7号線の交差点に面しており、1日の交通量は約140000台であった。

2. 自動計測器の種類

各測定所には次に示す自動計測器が収納されている。

(1)二酸化いおう 溶液導電率法、測定日盛範囲0~0.5 ppm.

(2)浮遊粒子状物質 光散乱方式、1時間当りの1カウントは空気1m³中1μgの重量に相当。

(3)一酸化炭素 赤外線吸収方式、測定日盛範囲0~

50 ppm.

(4)窒素酸化物 吸光光度測定方式(ザルツマン試薬)、一酸化窒素と二酸化窒素の分別測定、測定日盛範囲 0~0.5 ppm, 0~1 ppm の2段切換(ザルツマン係数 0.5).

(5)ホルムアルデヒド 吸光光度測定方式(アセチルアセトン試薬)、測定日盛範囲 0~0.2 ppm, 霞ヶ関測定所のみ設置.

(6)炭化水素 水素炎イオン化方式、全炭化水素と不飽和炭化水素の分別測定、測定日盛範囲 0~10 ppm (プロパン当量). 霞ヶ関測定所は1970年3月、大原町及び板橋測定所は1971年10月から測定開始.

(7)オキシダント 吸光光度測定方式(中性ヨウ化カリウム試薬)、測定日盛範囲 0~0.5 ppm. 1971年5月に霞ヶ関測定所後方の厚生省旧館6階屋上に設置. 1973年2月に日比谷公園内に移転し、大気取入口は日比谷公園寄り車道端から公園内8mの地上2mの高さに設置.

(8)交通量 受圧ゴムホースによるカウンター方式、霞ヶ関のみ設置.

測定結果及び考察

測定成績は Table 1 に 1975年1月から12月までの汚染物質と交通量の全測定数(1時間単位)と1時間値、時刻別平均値、日別平均値及び月別平均値の各々の最低と最高ならびに年平均値を示した.

各汚染物質の濃度は、前年(1974年)に比して浮遊粒子状物質は3測定所とも減少、他の汚染物質については霞ヶ関、板橋測定所は横ばいないし減少、新宿測定所は横ばいないし増加の傾向を示している.

1. 二酸化いおう

二酸化いおうの1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.023 ppm, 板橋測定所 0.023 ppm, 新宿測定所 0.026 ppm であり、前年に比して霞ヶ関測定所は横ばい、板橋測定所は減少、新宿測定所は増加の傾向を示している (Fig. 1).

二酸化いおうの測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が 0.04 ppm 以下であること、②1時間値が 0.1 ppm 以下であること、にそれぞれ対比すると①の条件を超えた日数と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所10日、2.3%、板橋測定所14日、3.9%、新宿測定所11日、3.3%、②の条件を超えた時間と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 2, 0.02%、板橋測定所 19, 0.2%、新宿測定所 0, 0% であり、3測定所とも環境基準に不適合であった.

2. 浮遊粒子状物質

浮遊粒子状物質の1時間値の年平均値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は、霞ヶ関測定所 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 板橋測定所 69 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 新宿測定所 81 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、浮遊粒子状物質濃度は、前年に比して3測定所とも減少の傾向を示している (Fig. 2).

浮遊粒子状物質の測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であること、②1時間値が 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であること、にそれぞれ対比すると①の条件を超えた日数及びその頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 75日、20.7%、板橋測定所 57日、16.3%、新宿測定所85日、23.5%、②の条件を超えた時間数と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 410, 4.7%、板橋測定所 371, 4.4%、新宿測定所 506, 5.8% であり、3測定所とも環境基準に不適合であった.

3. 一酸化炭素

一酸化炭素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 3.0 ppm, 板橋測定所 2.7 ppm, 新宿測定所 2.9 ppm であり、一酸化炭素の濃度は、前年に比して霞ヶ関測定所は横ばい、板橋測定所は減少、新宿測定所はやや増加の傾向を示している (Fig. 3).

一酸化炭素の測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が 10 ppm 以下であること、②1時間値の8時間平均値が 20 ppm 以下であること、にそれぞれ対比すると3測定所とも①の条件を超えた日数及び②の条件を超えた回数はいずれも0であり、3測定所とも環境基準に適合している.

4. 窒素酸化物(一酸化窒素と二酸化窒素)

窒素酸化物は、人体影響ならびに光化学スモッグ生成の原因物質として注目されている汚染物質である.

測定方法としては、ザルツマン試薬を用いる吸光光度法が広く使用されている. 二酸化窒素 (NO_2) の亜硝酸イオン (NO_2^-) への転換係数、すなわちザルツマン係数としては、1964年から1973年までの測定値には 0.5 を、1974年からの測定値には環境基準と同じ 0.72 を用いている.

一酸化窒素 (NO) の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.055 ppm, 板橋測定所 0.068 ppm, 新宿測定所 0.043 ppm, また、二酸化窒素 (NO_2) の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.028 ppm, 板橋測定所 0.034 ppm, 新宿測定所 0.033 ppm であり、前年に比して一酸化窒素濃度については霞ヶ関測定所はやや減少、新宿測定所は横ばい、板橋測定所は減少、二酸化窒素濃度は霞ヶ関、板橋測定所は減少、新宿測定所は横ばいの傾向を示している (Fig. 4, Fig. 5).

Table 1. Summary of air pollutants levels

Pollutants	Station	Number of hours	Number of days	Hour value	
				min.	max.
Sulfur dioxide (ppm)	Kasumigaseki	8680	362	0.01	0.10
	Itabashi	8561	357	0.01	0.42
	Shinjuku	7940	331	0.01	0.09
	Three stations	25181	1050	0.01	0.42
Dust ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Kasumigaseki	8688	362	8	765
	Itabashi	8369	349	4	2467
	Shinjuku	8682	362	9	895
	Three stations	25739	1073	4	2467
Carbon monoxide (ppm)	Kasumigaseki	8757	365	1	18
	Itabashi	7804	326	1	17
	Shinjuku	8160	341	1	15
	Three stations	24721	1032	1	18
Nitrogen monoxide ¹⁾ (ppm)	Kasumigaseki	7973	333	0.01	0.35<
	Itabashi	8411	351	0.01	0.35<
	Shinjuku	8362	349	0.01	0.35<
	Three stations	24761	1033	0.01	0.35<
Nitrogen dioxide ¹⁾ (ppm)	Kasumigaseki	7759	324	0.01	0.15
	Itabashi	8174	341	0.01	0.22
	Shinjuku	8346	348	0.01	0.20
	Three stations	24721	1013	0.01	0.22
Formaldehyde (ppm)	Kasumigaseki	7274	306	0.001	0.046
Oxidants ²⁾ (ppm)	Kasumigaseki	8438	353	<0.005	0.213
Total hydrocarbon ³⁾ (ppm)	Kasumigaseki	5938	248	0.5	2.7
	Itabashi	6980	292	0.4	6.1
	Shinjuku	6826	285	0.4	5.3
	Three stations	19744	825	0.4	6.1
Unsaturated hydro- carbon ³⁾ (ppm)	Kasumigaseki	5604	234	<0.05	0.6
	Itabashi	5729	240	<0.05	0.5
	Shinjuku	2805	117	<0.05	0.4
	Three stations	14138	591	<0.05	0.6
Traffic volume (cars/hour)	Kasumigaseki	8034	335	40	2640

1) saltzman factor: 0.72

2) no corrected value for nitrogen oxides

3) as propan

in Tokyo (Jan.~Dec., 1975)

Hourly-average		Day-average		Month-average		average
min.	max.	min.	max.	min.	max.	
0.011	0.041	0.012	0.056	0.016	0.030	0.023
0.010	0.046	0.010	0.080	0.017	0.030	0.023
0.013	0.041	0.011	0.050	0.021	0.031	0.026
0.010	0.046	0.010	0.080	0.016	0.031	0.024
35	148	16	339	49	120	75
30	162	12	408	44	113	69
35	182	17	454	48	141	81
30	182	12	454	44	141	75
1.0	5.3	1.1	7.5	2.2	3.9	3.0
1.2	6.8	1.2	6.7	2.1	4.2	2.7
1.3	5.0	1.0	6.9	2.1	4.2	2.9
1.0	6.8	1.0	7.5	2.1	4.2	2.9
0.020	0.123	0.011	0.177	0.035	0.097	0.055
0.020	0.214	0.013	0.234	0.039	0.137	0.068
0.016	0.097	0.008	0.167	0.031	0.070	0.043
0.016	0.214	0.008	0.234	0.031	0.137	0.055
0.009	0.069	0.007	0.078	0.018	0.047	0.028
0.013	0.062	0.007	0.098	0.017	0.048	0.034
0.011	0.048	0.007	0.071	0.022	0.039	0.033
0.009	0.069	0.007	0.098	0.017	0.048	0.032
0.0021	0.0153	0.0021	0.0222	0.0038	0.0089	0.0057
0.007	0.074	0.004	0.112	0.012	0.058	0.031
0.65	1.11	0.56	1.55	0.76	0.98	0.85
0.97	2.49	0.73	3.35	1.07	2.08	1.27
0.60	1.84	0.46	2.96	0.64	1.59	0.99
0.60	2.49	0.46	3.35	0.64	2.08	1.04
0.10	0.24	0.06	0.34	0.13	0.19	0.15
0.11	0.23	0.06	0.25	0.16	0.18	0.17
0.07	0.20	0.06	0.22	0.11	0.13	0.12
0.07	0.24	0.06	0.34	0.11	0.19	0.15
56	2008	344	1496	944	1128	1033

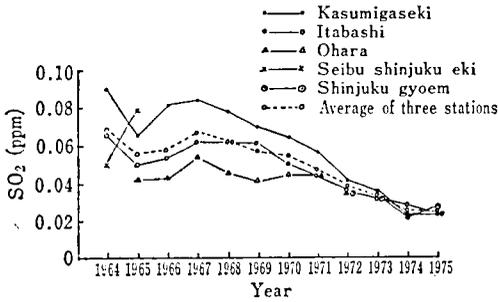


Fig. 1. Yearly variation of sulfur dioxide concentration in Tokyo (1964~1975)

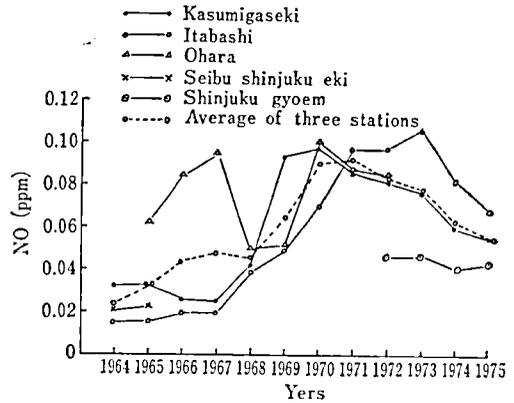


Fig. 4. Yearly variation of Nitrogen monoxide concentration in Tokyo (1964~1975)

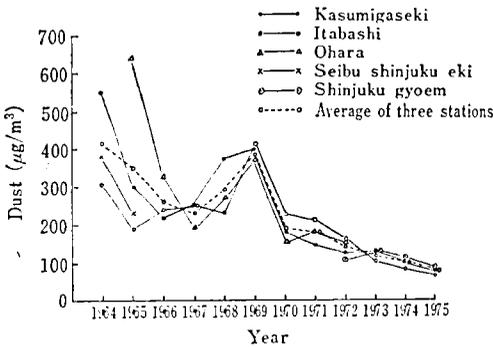


Fig. 2. Yearly variation of dust concentration in Tokyo (1964~1975)

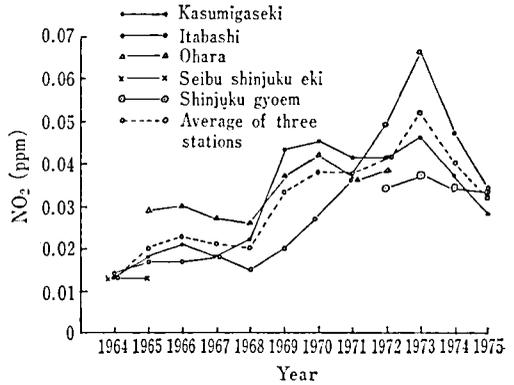


Fig. 5. Yearly variation of nitrogen dioxide concentration in Tokyo (1964~1975)

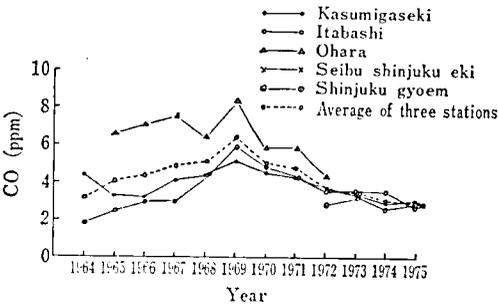


Fig. 3. Yearly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1975)

二酸化窒素の測定値を環境基準の条件“1時間値の1日平均値が0.02 ppm以下であること”に対比すると、この基準値を超えた年間の日数とその頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 274日、84.6%、板橋測定所 278日、81.5%、新宿測定所 317日、91.1%であり、3測定所とも環境基準に不適合であった。

5. 炭化水素

炭化水素は光化学オキシダント生成の原因物質であるが、特に不飽和炭化水素は、光化学オキシダント生成能が高い点で注目されている。

年平均値(プロパン当量)は、霞ヶ関測定所では、全炭化水素 0.85 ppm、不飽和炭化水素 0.15 ppm、板橋測定所は、全炭化水素 1.27 ppm、不飽和炭化水素 0.17 ppm、新宿測定所は、全炭化水素 0.99 ppm、不飽和炭化水素 0.12 ppmである。前年に比して全炭化水素及び不飽和炭化水素の濃度は、霞ヶ関測定所はやや減少、新宿及び板橋測定所は横ばいの傾向である(Fig. 6, Fig. 7)。

6. ホルムアルデヒド

自動車用燃料の不完全燃焼、潤滑油の酸化分解、大気汚染物質の光化学反応によって生成する汚染物質で

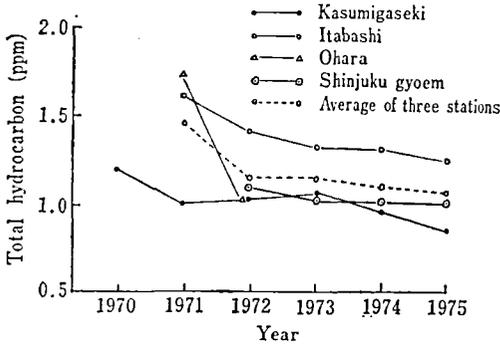


Fig. 6. Yearly variation of total hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1975)

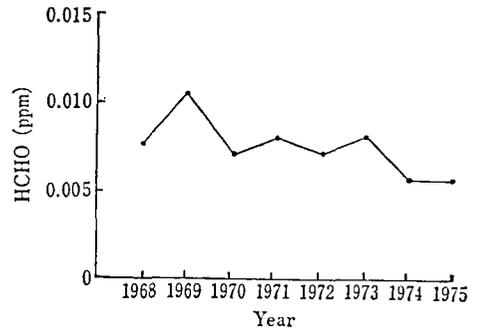


Fig. 8. Yearly variation of formaldehyde concentration at Kasumigaseki in Tokyo (1968~1975)

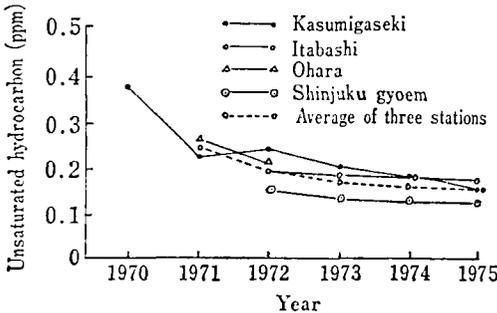


Fig. 7. Yearly variation of unsaturated hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1975)

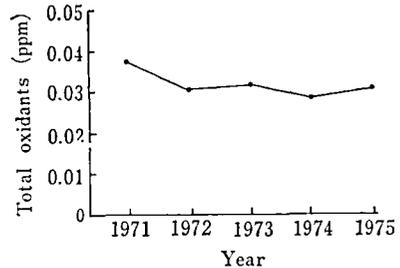


Fig. 9. Yearly variation of total oxidants concentration at Kusumigaseki in Tokyo (1971~1975)

ある。

ホルムアルデヒドの霞ヶ関測定所の1時間値の年平均値は、0.0057 ppmであり、前年に比して横ばい傾向を示している (Fig. 8)。

7. オキシダント

光化学反応によって生成する酸化性物質の総称で、その主要成分はオゾンといわれている。霞ヶ関測定所のオキシダント濃度の年平均値は0.031 ppmであり、前年に比してやや増加の傾向を示している (Fig. 9)。なお、オキシダント測定値について、一酸化窒素及び二酸化窒素の補正は行っていない。

8. 交通量

霞ヶ関測定所の年平均交通量 (台/時) は、1033 台

であり、前年に比して横ばいの傾向を示している。

また、板橋測定所の交通量は、警視庁において1970年から毎年1回24時間調査を行っているが、同調査によると1975年における平均交通量 (台/時) は、2021台であり、前年に比してやや減少の傾向を示している。

文 献

- 1) 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，1970年，1971年
- 2) 国立衛生試験所，環境庁大気保全局自動車公害課：東京都内3カ所の大気汚染測定網測定結果の概要，1972年，1973年，1974年，1975年

合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍効果

安斉美知子・鈴木郁生・神谷庄造・中島利章・中館正弘・中村晃忠
末吉祥子・丹野雅幸・宮原 誠・小田嶋成和・石館 基

Antitumor Effects of Compounds Synthesized in the
Department of Synthetic Chemistry

Michiko ANZAI, Ikuo SUZUKI, Shozo KAMIYA, Toshiaki NAKASHIMA,
Masahiro NAKADATE, Akitada NAKAMURA, Shoko SUEYOSHI,
Masayuki TANNO, Makoto MIYAHARA,
Shigeyoshi ODASHIMA and Motoi ISHIDATE, Jr.

Antitumor activities of 110 compounds synthesized in the Department of Synthetic Chemistry, were tested with AH-13 system and also with L-1210 system.

As shown in the Table, some of nitrosoureas, nitroguanidines and pyridazine derivatives were effective against AH-13 cells. Some of nitrosoureas and pyridazine bis-(2-chloroethyl) aminomethyl derivatives were effective against L-1210 cells.

(Received May 31, 1976)

昭和47年11月から、薬品病理部の協力を得て、抗腫瘍性化合物のスクリーニングを始めて、現在既に110種をこえる化合物についてスクリーニングを終了した。今回はそのうちの主なものについて報告する。これらの化合物はすべて当部で合成されたもので、スクリーニングナンバーとして各々の化合物にE-番号を付した。

スクリーニング方法

[1] AH-13 スクリーニングシステム (腹水肝癌, ドンリュウラット)

AH-13 細胞 10^6 /rat を腹腔内 (i.p.) に移植し、3日後腹水中に AH-13 細胞が純培養状態になったのを確かめ、化合物を投与した。投与量はドンリュウラットに対する腹腔内1回投与の最大耐量 (MTD) をもとに決定した。1群6匹、2~3群に1日1回5日間連続 i.p. 投与した。効果判定は次の基準に従った。なお、対照群動物は移植後7~9日目に死亡した。

AH-13 スクリーニングの効果判定基準

評価	生存率	
	30日	60日
±	0/6-2/6	0/6-1/6
+	2/6-6/6	1/6-3/6
++	4/6-6/6	2/6-6/6

[2] L-1210 スクリーニングシステム (リンパ性白血病, CDF₁ マウス)

原則として AH-13 スクリーニングシステムで効果のあった化合物のみ、このシステムに移行させた。L-1210 細胞 10^5 ケ/mouse を i.p. 移植し、移植後2および6日後に化合物を i.p. 投与した。投与量はラットの MTD を参考に3段階を決め、1段階1群3匹の動物を用いた。評価は生存日数比 T/C により行ない、T/C ≥ 125 を効果ありと判定した。なお、対照群動物は移植後7~9日目に死亡した。

検体

スクリーニングにかけた化合物の分類、化学名、および各化合物の融点または分解点は次の通りである。

(1) ニトロソ尿素及び関連化合物

E-11 : 1, 1'-Ethylenebis(1-nitrosourea)¹⁻³⁾, dp 129°

E-12 : 1, 1'-Trimethylenebis(1-nitrosourea)^{2,3)}
dp 108°

E-13 : 1, 1'-Tetramethylenebis(1-nitrosourea)^{2,3)},
dp 133°

E-51 : 1, 1'-Pentamethylenebis(1-nitrosourea)^{2,3)},
dp 144-146°

E-14 : 1, 1'-Hexamethylenebis(1-nitrosourea)¹⁻³⁾,
dp 135°

E-49 : 1, 1'-Heptamethylenebis(1-nitrosourea),
dp 156-157°

E-50 : 1, 1'-Octamethylenebis(1-nitrosourea),
dp 161-164°

- E-52 : 1, 1'-Nonamethylenebis(1-nitrosourea),
dp 165-168°
- E-53 : 1, 1'-Decamethylenebis(1-nitrosourea),
dp 177-179°
- E-15 : 1, 1'-Dodecamethylenebis(1-nitrosourea),
dp 194-196°
- E-40 : 1, 1'-Ethylenebis(1-nitroso-3-nitroguanidine),
dp 230-231°
- E-54 : 1, 1'-Tetramethylenebis(1-nitroso-3-nitroguanidine)^{2,3)}, dp 145-146°
- E-36 : 1, 1'-Hexamethylenebis(1-nitroso-3-nitroguanidine), dp 184-185°
- E-37 : 1, 1'-Ethylenebis(1-nitroso-*p*-toluenesulfonamide), dp 118°
- E-32 : 1, 1'-Hexamethylenebis(1-nitroso-*p*-toluenesulfonamide), dp 102-103°
- E-67 : 1, 1'-*m*-Xylylenebis(1-nitrosourea), dp 117°
- E-61 : 1, 1'-*p*-Xylylenebis(1-nitrosourea), dp >230°
- E-90 : 1, 1'-*o*-Xylylenebis(3-methyl-3-nitrosourea),
dp 91°
- E-97 : 1-Methyl-1-nitroso-3-[2-(N-methyl-N-nitrosocarbamoyloxy) ethyl] urea⁴⁾,
mp 65-66°
- E-98 : 1-Methyl-3-[2-(N-methylcarbamoyloxy)-ethyl] urea⁴⁾, dp 132-134°
- E-48 : 1, 1'-Ethylenebisurea⁵⁾, mp 193-194°
- E-89 : 1-Nitroso-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-Octahydro-2-benzimidazolone, dp 195-200°
- E-91 : 3-Nitroso-1, 5-ethylenebiuret, dp 185-186°
- E-80 : 1-Methyl-1-nitroso-3-(4-pyridyl) methylurea oxalate, dp 140°
- E-78 : 1-Ethyl-1-nitroso-3-(4-pyridyl) methylurea oxalate, dp 120-121°
- (2) ニトロゲアニジン誘導体
- E-1 : 1-Amino-1-methyl-3-nitroguanidine⁶⁾,
dp 166-167°
- E-2 : 1, 1-Dimethylene-3-nitroguanidine⁷⁾,
dp 138-139°
- E-7 : 1-Methyl-1, 3-dinitroguanidine⁸⁾, mp 81-82°
- E-8 : 1-Ethyl-1, 3-dinitroguanidine⁸⁾, mp 45-46°
- E-9 : 1-Propyl-1, 3-dinitroguanidine, mp 50-51°
- E-10 : 1-Butyl-1, 3-dinitroguanidine⁸⁾, mp 69-70°
- (3) *O*-置換ヒドロキシルアミン誘導体
- E-77 : *O*-(2, 4-Dinitrophenyl) hydroxylamine⁹⁾,
mp 106-108°
- E-81 : *O*-Picrylhydroxylamine⁹⁾, mp 98°
- E-83 : *O*-Mesitylenesulfonylhydroxylamine⁹⁾,
mp 88-93°
- E-85 : *O*-(2, 4, 6-Triisopropylbenzenesulfonyl) hydroxylamine⁹⁾, mp 131-135°
- E-92 : Ethyl *O*-(2, 4-dinitrophenyl) acetohydroxamate¹⁰⁾, mp 110-112°
- E-93 : Ethyl *O*-picrylacetohydroxamate⁹⁾,
mp 94-96°
- E-95 : Ethyl *O*-(2, 4, 6-Triisopropylbenzenesulfonyl)-acetohydroxamate⁹⁾, mp 73-75°
- E-96 : Ethyl *O*-(mesitylenesulfonyl)-acetohydroxamate⁹⁾, mp 44-48°
- E-99 : Hydroxylamine-*O*-sulfonic acid¹¹⁾,
dp 209-210°
- (4) ピリダジン誘導体
- 1) ニトロピリダジン類および関連化合物
- E-4 : 3, 6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide¹²⁾,
mp 117-118°
- E-5 : 3, 6-Dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide¹³⁾,
mp 112-113°
- E-28 : 3, 6-Diethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide¹²⁾,
mp 74-75°
- E-29 : 3, 6-Dipropoxy-4-nitropyridazine 1-oxide¹³⁾,
mp 65-67°
- E-30 : 3-Methoxy-6-chloro-4-nitropyridazine 1-oxide¹⁴⁾, mp 145-146°
- E-31 : 3-Ethoxy-6-chloro-4-nitropyridazine 1-oxide,
mp 124-125°
- E-33 : 3, 6-Dimethyl-5-nitropyridazine 1-oxide¹⁵⁾,
mp 85-86°
- E-22 : 3, 6-Dimethyl-4-hydroxy-5-nitropyridazine 1-oxide¹⁶⁾, dp 184°
- E-6 : 3, 6-Dimethyl-4-hydroxypyridazine 1-oxide¹⁷⁾, dp 242-243°
- E-41 : 1-Methoxy-3, 6-dimethyl-5-nitro-4 (1H)-pyridazinone¹⁶⁾, mp 78-79°
- E-56 : 3-Methoxy-4, 6-dinitropyridazine 1-oxide¹⁸⁾,
mp 130°
- E-55 : 3-Methoxy-4-nitropyridazine 1-oxide¹⁸⁾,
mp 102°
- E-68 : 4-Nitropyridazine 1-oxide¹⁹⁾, mp 149-150°
- E-74 : 3, 6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1, 2-dioxide²⁰⁾, mp 158-159°
- E-75 : 3, 6-Dimethylpyridazine 1, 2-dioxide²¹⁾
dp 216°
- 2) ピリダジンマンニッヒ塩基類

- E-43 : 2-Piperidinomethyl-4, 5-dichloro-3(2H)-pyridazinone²²⁾, mp 115-116°
- E-44 : 2-Morpholinomethyl-4, 5-dichloro-3(2H)-pyridazinone²²⁾, mp 127-128°
- E-45 : 2-Piperidinomethyl-6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone²²⁾, mp 180-181°
- E-46 : 2-Bis(2-chloroethyl) aminomethyl-4, 5-dichloro-3(2H)-pyridazinone²²⁾, mp 75-79°
- E-47 : 2-Bis(2-chloroethyl) aminomethyl-6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone²²⁾, mp 143°
- E-76 : 3-Hydroxy-6-bis(2-chloroethyl)-aminomethylpyridazine 1-oxide hydrochloride²³⁾, dp 179-181°
- 3) ピリダジンアミノ酸類
- E-3 : DL-2-(3-Amino-3-carboxybutyl)-6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone²⁴⁾, dp 272-276°
- E-18 : DL-2-(3-Amino-3-carboxypropyl)-6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone²⁴⁾, dp 233°
- E-23 : 2-(2, 5-Dioxo-4-methyl-4-imidazolidiny) ethyl-6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone²⁴⁾, dp 192-195°
- (5) シンノリン誘導体
- E-19 : 3-[D-*arabo*-Tetrahydroxybutyl]-cinnoline²⁵⁾, mp 204-205°
- E-20 : 4-Nitrocinnoline 1-oxide²⁶⁾, mp 182-183°
- E-34 : 4-Thiosemicarbazinocinnoline, dp 212°
- E-35 : 4-Thiosemicarbazino-6-nitrocinnoline, mp >360°
- E-58 : 4-Hydroxy-6-nitrocinnoline²⁷⁾, mp 330-331°
- E-59 : 4-Hydroxy-8-nitrocinnoline²⁸⁾, mp 183-185°
- E-60 : 6-Nitrocinnoline²⁹⁾, mp 200-201°
- E-62 : 5-Nitrocinnoline²⁹⁾, mp 151-152°
- E-63 : 8-Nitrocinnoline²⁹⁾, mp 136-138°
- E-66 : 3-Nitrocinnoline 1-oxide²⁶⁾, mp 214-215°
- (6) 橋頭ヒドラジン化合物
- E-21 : 1, 4, 6, 11-Tetrahydropyridazo[1, 2-b]-phthalazine-6, 10-dione³⁰⁾, mp 263-268°
- E-24 : 2, 3, 5, 10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]-phthalazine methiodide³¹⁾, mp 不明瞭
- E-26 : 2, 3, 5, 10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]-phthalazine-5-one methiodide³¹⁾, mp 193-203°
- E-70 : 1-Hydroxy-2, 3, 5, 10-tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]phthalazine-5, 10-dione³²⁾, mp 206-207°
- E-71 : 5, 10-Dihydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]-phthalazine-5, 10-dione³³⁾, mp 221°
- E-72 : 2, 3, 5, 10-Tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]-phthalazine-5, 10-dione³¹⁾, mp 199-202°
- E-73 : 1-Phenyl-2, 3, 5, 10-tetrahydro-1H-pyrazolo[1, 2-b]phthalazine hydrochloride, dp 234°
- (7) ピリジン及びピリダジンのトリアツェン誘導体
- E-57 : 4-(3-Cyano-1-triazeno) pyridine-1-oxide potassium salt, dp 229-232°
- E-79 : 1-Methyl-4-(3-cyano-1-triazeno)-4(1H)-pyridone, dp 158-160°
- E-82 : 4-(3-Ethoxycarbonyl-1-triazeno) pyridine 1-oxide, dp 192-194°
- E-84 : 6-(3-Cyano-1-triazeno)-tetrazolo-[b]-pyridazine, mp >300°
- (8) その他の化合物
- E-27 : 5-Methyl-4, 5, 6, 11-tetrahydropyrrolo[1, 2-b]-[2, 5] benzodiazocine³⁴⁾, mp 104-105°
- E-69 : 1-(2-Cyanoethyl)-3-hydroxy-6(1H)-pyridazinone, mp 198°
- E-87 : α , β -Di(4-pyridyl) glycol dimethiodide, mp 220°
- E-88 : 1, 3-Di(4-pyridyl) propane dimethiodide, mp 141-142°
- E-42 : 2, 4, 5-Trimethylaniline
- E-64 : N,N-Diacetyl-*p*-toluidine
- E-65 : N-Acetyl-N-hydroxy-*p*-toluidine
- E-94 : 1-Phenyl-1-hydroxy-3-methylurea, mp 121°
- スクリーニング結果
- 以上の化合物のスクリーニング結果を以下に示した。

(1) Nitrosoureas and Related Compounds

screening number	structure		AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-11		$n=2$	+	> 362
E-12		$n=3$	++	> 226
E-13		$n=4$	++	> 278
E-51		$n=5$	++	163
E-14		$n=6$	++	186
E-49		$n=7$	++	171
E-50		$n=8$	++	165
E-52		$n=9$	±	134
E-53		$n=10$	-	112
E-15		$n=12$	±	111
E-40		$n=2$	++	113
E-54		$n=4$	+	108
E-36		$n=6$	++	109
E-37		$n=2$	-	96
E-32		$n=6$	-	
E-67		meta	++	> 148
E-61		para	++	137
E-90			-	132
E-97			±*	
E-98			-*	
E-48			-	
E-89			-	107

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-91		-	96
E-80		R=CH ₃	-
E-78		R=C ₂ H ₅	-

(2) Nitroguanidine Derivatives

E-1		-	
E-2		-	
E-7		R=CH ₃	++ 113
E-8		R=C ₂ H ₅	+ 115
E-9		R=n-C ₃ H ₇	+ 111
E-10		R=n-C ₄ H ₉	-

(3) O-Substituted Hydroxylamine Derivatives

E-77		-	
E-81		-	
E-83		-	
E-85		-	107
E-92		-	
E-93		±	103

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-95		—	
E-96		—	
E-99	$\text{H}_2\text{N}-\text{O}-\text{SO}_3\text{H}$	—	

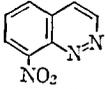
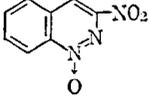
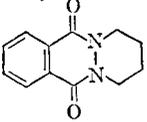
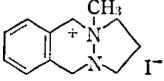
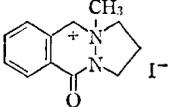
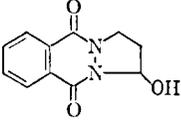
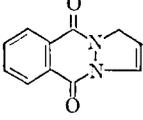
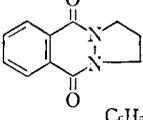
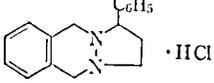
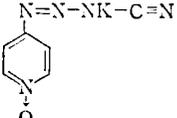
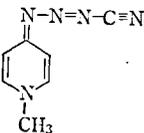
(4) Pyridazine Derivatives

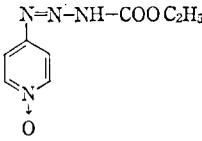
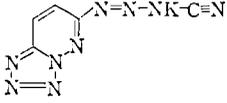
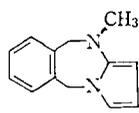
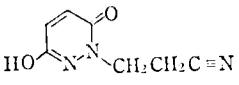
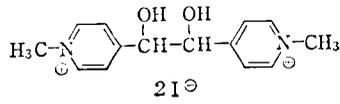
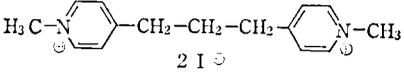
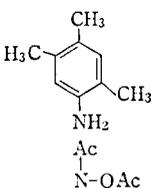
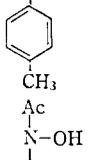
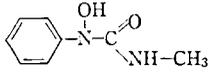
1) Nitro Compounds and Related Compounds

E-4		±	101
E-5		+	108
E-28		—	
E-29		—	
E-30		±	100
E-31		±	109
E-33		—	
E-22		—	

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-6		-	
E-41		-	
E-56		-	
E-55		±	
E-68		±	
E-74		-	
E-75		-*	
2) Mannich Bases			
E-43		+	101
E-44		±	110
E-45		+	114
E-46		±	113

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-47		+	194
E-76		+	131
3) Amino Acids			
E-3		-	100
E-18		-	
E-23		-	
(5) Cinnoline Derivatives			
E-19		-	
E-20		+	115
E-34		-	
E-35		-	
E-58		-	
E-59		-	
E-60		-	
E-62		-	

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-63		—	
E-66		—	
(6) Bridge-Head Hydrazines			
E-21		—	
E-24		—	
E-26		—	
E-70		—	
E-71		—	
E-72		—	
E-73		—	
(7) Pyridine and Pyridazine Triazeno Derivatives			
E-57		—	
E-79		—	

screening number	structure	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-82		-	
E-84		-	
(8) Others			
E-27		-	
E-69		-	
E-87		-	
E-88		-	
E-42		-	
E-64		-	
E-65		-	
E-94		-	

* anti-AH-13 effects were evaluated by MED (minimum effective dose) test

まとめ

分類別のスクリーニング結果を一覧表にした。

	化合物数	AH-13 スクリーニング ≥±の化合物数	L-1210 スクリーニング T/C≥125 の化合物数
(1) ニトロソ尿素および関連化合物	25	15	11
(2) ニトログアニジン誘導体	6	3	0
(3) O-置換ヒドロキシルアミン誘導体	9	1	0
(4) ビリダジン誘導体	計 24	計 12	計 2
ニトロ類	15	6	0
マンニッヒ塩基類	6	6	2
アミノ酸類	3	0	0
(5) シンノリン誘導体	10	1	0
(6) 橋頭ヒドラジン化合物	7	0	0
(7) ビリジンおよびビリダジンのトリ アツェン誘導体	4	0	0
(8) その他の化合物	8	0	0
	計 93	32	13

以上のように AH-13 のスクリーニングで 32/93, 約 1/3 の化合物が拾い上げられ, 更に L-1210 のスクリーニングにより 13/32, 約 40% の化合物が効果ありとされ, かなり良好な結果を得たと考える。更に今後, より効力の強い, より毒性の低い抗腫瘍化合物を求めてスクリーニングを続けて行くつもりである。これらの合成法および抗腫瘍効果の詳細については別に報告する予定である。

これらの研究の一部は文部省がん特別研究費によった。

文 献

- 1) C.M. Samour, J.P. Mason: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 441 (1954)
- 2) H. Lettré, U. Broose: *Naturwissenschaften*, **36**, 57 (1949)
- 3) T. Lieser, G. Beck: *Chem. Ber.*, **83**, 137 (1950)
- 4) T.P. Johnston et al.: *J. Med. Chem.*, **6**, 669 (1963)
- 5) T.L. Davis, K.C. Blanchard: *J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 1790 (1929)
- 6) R.A. Henry, G.B.L. Smith: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1858 (1951)
- 7) S. Kamiya: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **20**, 2497 (1972)
- 8) R.H. Meen, G.F. Wright: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2007 (1952)
- 9) Y. Tamura et al.: *J. Org. Chem.*, **38**, 1239 (1973)
- 10) A.O. Ilvespaa, Q. Marxer: *Helv. Chim. Acta*, **45**, 2009 (1963)
- 11) *Inorganic synthesis* Vol. 5 p. 122
- 12) T. Itai, S. Sako: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **9**, 149 (1961)
- 13) T. Itai, H. Igeta: 薬誌, **75**, 966 (1955)
- 14) T. Itai, S. Sako: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **10**, 934 (1962)
- 15) T. Itai, S. Natsume: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **12**, 288 (1964)
- 16) S. Kamiya, M. Tanno: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **23**, 1879 (1975)
- 17) S. Sako: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **11**, 337 (1963)
- 18) H. Igeta: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **8**, 550 (1960)
- 19) T. Itai, S. Natsume: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **10**, 643 (1962)
- 20) 鈴木, 末吉, 薬誌, **93**, 59 (1973)
- 21) M. Nakadate et al.: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **18**, 1211 (1970)
- 22) 神谷ら: 薬誌, **86**, 1099 (1966)
- 23) G. Okusa et al.: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **15**, 1172 (1967)
- 24) S. Kamiya et al.: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **15**, 949 (1967)
- 25) H.J. Haas, A. Seeliger: *Ber.*, **96**, 2427 (1963)
- 26) I. Suzuki et al.: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **12**, 1090 (1964)
- 27) K. Schofield, J.C.E. Simpson: *J. Chem. Soc.*, 1945, 512

- 28) J.C.E. Simpson: *J. Chem. Soc.*, 1947, 237
 29) J.S. Morley: *J. Chem. Soc.*, 1951, 1971
 30) R.A. Clement: *J. Org. Chem.*, 25, 1724 (1960)
 31) A. Nakamura, S. Kamiya: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 18, 1526 (1970)
 32) J. Godin, A. Leberre: *Bull. Soc. Chim. France*, 1968, 4229
 33) J. Godin, A. Leberre: *Bull. Soc. Chim. France*, 1968, 4210
 34) A. Nakamura, S. Kamiya: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 22, 2142 (1974)

2,4,5-トリメチルアニリン及び2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸ナトリウムの製造とそれらの肝酵素活性におよぼす影響について

神谷庄造・中村晃忠・高橋 惇・安斉美知子・大森義仁

Preparation of 2,4,5-Trimethylaniline and Sodium 2,4-Dimethylaniline-5-sulfonate, and Their Effects on Liver Enzyme Activities

Shozo KAMIYA, Akitada NAKAMURA, Atsushi TAKAHASHI, Michiko ANZAI and Yoshihito ŌMORI

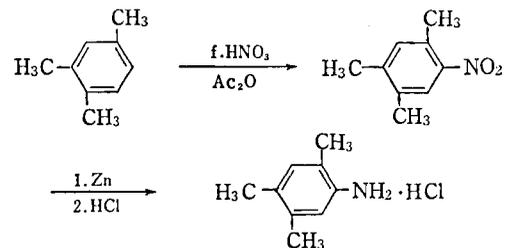
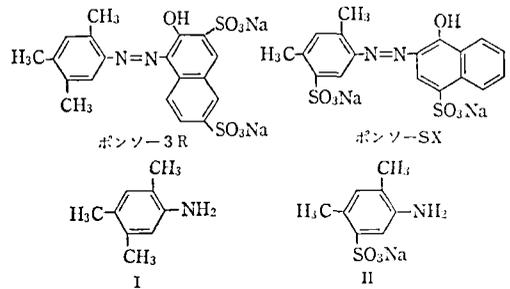
2,4,5-Trimethylaniline and sodium 2,4-dimethylaniline-5-sulfonate were prepared for the studies on the toxicity of azo dyes, Ponceau 3R and Ponceau SX.

The effects of these aromatic amines on liver enzyme activities were examined. In the mice the changes in the enzyme activities were more marked than in the rats. 2,4-Dimethylaniline and 2,4,6-trimethylaniline were more effective than the 2,6-isomer and the 2,4,5-isomer, and the sulfonated aromatic amines were relatively less effective.

(Received May 31, 1976)

薬理部においては、食用色素の安全性の面より、色素の化学構造と毒性との関係および毒性発現機構についての研究¹⁾が行なわれており、合成化学研究部も化合物の製造の面よりこの研究に協力している。

酸性アゾ色素の毒性発現は、主にアゾ結合の還元によって生ずる芳香族第一級アミン類によると考えられる。たとえば、ポンソー 3R と毒性の弱いポンソー SX は生体内還元によってそれぞれ2,4,5-トリメチルアニリン (I) および 2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸ナトリウム (II) が生ずると考えられる。I および II は市販されていないので、今回これらのアミン類の製造を検討したので報告する。また、これらの芳香族アミン類の肝酵素活性におよぼす影響についても簡単に報告する。



実 験

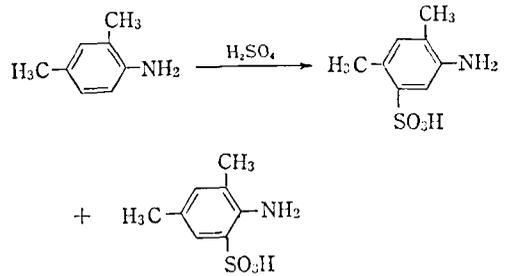
塩酸 2,4,5-トリメチルアニリン

1) 2,4,5-トリメチルニトロベンゼン：攪拌機，分液漏斗および温度計をつけた 500 ml の三口フラスコ

に、40.0 g (0.333 モル) の 1,2,4-トリメチルベンゼンと 60 g の無水酢酸の混液を入れる。別に、31.5 g (0.5 モル) の発煙硝酸を氷冷した 40 g の無水酢酸中に少量づつ滴加する。この液を分液漏斗に入れ、はげしく攪拌しながら約 1 時間にわたって、温度を -5° ~ $+5^{\circ}$ の間に保ちながら滴加する。滴加終了後、氷浴をとり去り、室温で 5 時間攪拌し、さらに一夜放置する。反応液を氷水中にかけ、無水酢酸を分解し、析出した黄橙色の半固体を傾斜して除き、水層をエーテル 200 ml ずつで 2 回抽出し、エーテル層を先の半固体に合する。エーテル溶液を 10% 炭酸ナトリウム液の 30 ml ずつで水層がアルカリ性となるまでくりかえし洗う。エーテルを留去し、残留物に炭酸ナトリウム 20 g を水 200 ml に溶かして液を加え、水蒸気蒸留する。約 3 l の留液をとり、留液がほぼ透明になったところで水蒸気蒸留をやめる。留液を傾斜して底にたまった結晶と分け、水層をエーテルで抽出する。エーテル層をその結晶と合し、得られるエーテル溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、エーテルを留去する。残留物をメタノール 20 ml に加温して溶かし、氷食塩浴で冷却すると結晶化する。結晶を濾取し、冷メタノールで洗い、乾燥する。メタノールより再結晶する。mp $66-70^{\circ}$ (文献²⁾, mp 71°) の 2,4,5-トリメチルニトロベンゼン, 12.5 g (23%) を得る。NMR (τ , CDCl_3): 7.75 (s, 6H, CH_3), 7.48 (s, 3H, CH_3), 3.00 (s, 1H, Ar-H), 2.27 (s, 1H, Ar-H)。

2) 塩酸 2,4,5-トリメチルアニリン: 先に得られた 2,4,5-トリメチルニトロベンゼン, 16.5 g (0.1 モル) を含水エタノール (エタノール 500 ml と水 200 ml の混液) にけん濁する。別に、無水塩化カルシウム 6.6 g を水に溶かした液に、亜鉛末 100g を少量ずつ加え、よく混合したものを先のけん濁液に加え、水浴上で 5 時間還流する。反応液を熱時河過し、濾紙上の亜鉛末を熱エタノールで洗い、濾液と洗液を合し、減圧で約 150 ml に濃縮する。濃縮液をエーテル 200 ml ずつで 2 回抽出し、エーテル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、河過する³⁾。濾液に、氷冷下乾燥塩酸ガスを導通し、減圧でエーテルを留去し、残留物にエタノールの少量を加えて河過する。結晶をエタノールで洗い、乾燥する。9.4 g (55%) の塩酸 2,4,5-トリメチルアニリンを得る。エタノールより再結晶し、無色の小葉状晶, mp $240-242^{\circ}$ decomp., 8.0 g を得る。NMR for $(\text{CH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_2\text{NH}_2$ (τ , CDCl_3): 7.92 (s, 3H, CH_3), 7.88 (s, 6H, CH_3), 6.67 (s, 2H, NH_2), 3.62 (s, 1H, Ar-H), 3.29 (s, 1H, Ar-H)。

2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸ナトリウム



再蒸留した 2,4-ジメチルアニリン (m-キシリジン) 152.0 g を、50% 発煙硫酸 94 ml を濃硫酸 140 ml に溶かしたものに少量ずつ加える。

この混合物を油浴中で $140-150^{\circ}$ に 2 時間加熱し、冷後、氷水中にあげる。氷水でフラスコを洗い、洗液を合し、炭酸バリウム (約 1,500 g を要する) で中和する。直火で反応液を加熱し、熱時河過することにより不溶の 2,4-ジメチルアニリン-6-スルホン酸バリウムを除去し、濾液を減圧で約 300 ml に濃縮する。濃縮液中に無水硫酸ナトリウム 115 g を加えナトリウム塩とし、さらに水浴中で 3 時間加熱する。沈殿した硫酸バリウムを濾去し、濾液を減圧で濃縮し、析出したりん片状晶を吸濾し、結晶をエタノールで洗う。濾液をさらに濃縮し、2 番晶を得る。脱色炭を用い、水より再結晶するとりん片状晶の 2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸ナトリウム [$(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_2\text{NH}_2$ (SO_3Na) \cdot H_2O] の 215 g (68%) を得る⁴⁾。NMR (τ , D_2O): 7.90, 7.57 (s, 6H, CH_3), 3.03, 2.78 (s, 2H, Ar-H)。

アニリン誘導体の *in vitro* における肝酵素活性におよぼす影響^{5,6)}

2,4-ジメチルアニリン (2,4-DMA), 2,6-ジメチルアニリン (2,6-DMA), 2,4,5-トリメチルアニリン (2,4,5-TMA), 2,4,6-トリメチルアニリン (2,4,6-TMA), 2,4-ジメチルアニリン-5-スルホン酸 (2,4-DMA-5-S) および 2,4-ジメチルアニリン-6-スルホン酸 (2,4-DMA-6-S) を投与し、肝酵素活性の変化を調べた。動物は dd 系雄マウスと呑竜系雄ラットを使用した。

マウスに 0.5% のアニリン誘導体を含む飼料を 3 週間与えた場合、対照群における体重の増加が実験開始時の 112.2% に対し、2,4-DMA-5-S 群では 111.4% と差異はみられなかったが、2,4-DMA, 2,6-DMA 群ではそれぞれ、78.4%, 83.8% と体重の減少がみられた。表 1 に示すように、ヘキソバルビタールの水酸化、グルコース-6-ホスファターゼ、乳酸脱水素酵素活性は 2,4-DMA, 2,6-DMA 群で著明に低下するが、2,4-DMA-5-S 群における低下は軽度であった。モノメチルアゾベンゼン (MAB) のアゾ基の還元活性の

表1 アニリン誘導体の肝酵素活性におよぼす影響

	2,4-DMA	2,6-DMA	2,4-DMA-5-S	2,4-DMA-6-S
I) マウス				
投与条件	0.5%, 3週間	0.5%, 3週間	0.5%, 3週間	
ヘキソバルビタールの水酸化	39.3***	60.6***	71.1*	
MAB のアゾ基の還元	45.8***	72.3*	75.3*	
乳酸脱水素酵素	70.8***	79.2**	91.7	
G-6-P 脱水素酵素	277.3***	113.6	109.1	
グルコース-6-ホスファターゼ	48.3***	44.8***	64.4*	
可溶性分画中の酸性 RNase	183.0***	121.7	91.5	
II) ラット				
投与条件	1.0%, 4週間	1.0%, 4週間	2.0%, 4週間	2.0%, 4週間
ヘキソバルビタールの水酸化	89.7*	112.9	99.4	99.5
乳酸脱水素酵素	48.9**	81.7*	103.4	99.5
G-6-P 脱水素酵素	487.1***	119.4	97.4	107.7
グルコース-6-ホスファターゼ	49.7***	93.2	78.8	105.6
可溶性分画中の酸性 RNase	138.4***	111.0	84.1	104.9

酵素活性は対照群の活性に対するパーセントで示した。マウス 13~15 匹, ラット 5 匹の平均値であり, 有意性は * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$ で示した。

表2 アニリン誘導体の経口投与によるマウス肝酵素活性の変化

	2,4-DMA	2,4,6-TMA	2,4,5-TMA	2,4-DMA-5-S
ヘキソバルビタールの水酸化	32.4***	55.6***	81.5*	105.9
MAB のアゾ基の還元	46.1***	50.2***	54.5***	104.3
乳酸脱水素酵素	70.9**	74.5**	83.5*	93.3
G-6-P 脱水素酵素	215.4***	237.0***	139.7*	102.2
グルコース-6-ホスファターゼ	64.5**	87.0*	91.5	101.3

1 群15匹のマウスを使用した。酵素活性および有意性は表1と同じ。

低下も 2,4-DMA 群で著明であり, グルコース-6-リン酸 (G-6-P) 脱水素酵素活性, 肝可溶性分画中の酸性 RNase 活性も 2,4-DMA 群でのみ有意な増加がみられた。ラットでも 2,4-DMA 群で諸酵素活性の著明な変化がみられたが, 2,6-DMA 群では LDH 活性の低下のみであり, 2.0% の 2,4-DMA-5-S, 2,4-DMA-6-S を含む飼料をラットに 4 週間与えても酵素活性の有意な変化はみられなかった。

一方, アミン類 1 m mole/kg をマウスに 1 日 1 回, 3 日間経口投与した場合の結果を表 2 に示した。2,4-DMA, 2,4,6-TMA 群では酵素活性の著明な変化がみられ, 2,4,5-TMA 群も軽度ではあるが変化した。しかし, 2,4-DMA-5-S 群では有意な変化がみられなかった。

文 献

- 1) 池田良雄：衛生化学, 14, 289 (1968)
- 2) G. Schultz: *Ber.*, 42, 3602 (1909)
- 3) "The Aldrich Library of Infrared Spectra", 2nd ed., 1975, p.649. Aldrich Chem. Inc.
- 4) O. Jacobsen, H. Ledderboge: *Ber.*, 16, 193 (1883)
- 5) 高橋 惇, 大森義仁, 竹内雅也, 神谷庄造, 中村晃忠：日本薬理学会第 49 回関東部会 (1973. 11)
- 6) 高橋 惇, 大森義仁：第31回日本癌学会 (1972. 10)

昭和46~50年度日本産あへんのモルヒネ含量について

持田研秀・岡 恒・野口 衛・古謝紀和・植岡澄子

Determination of Morphine Content of Japanese
Opium from 1971 to 1975Kenshu MOCHIDA, Hisashi OKA, Mamoru NOGUCHI,
Norikazu KOJA and Sumiko UEOKA

Morphine content in Japanese opium harvested during the period 1971~1975 were determined.

The number of samples was 100 in all. The contents were ranged from 8.95 to 20.70% and average value was 14.09%.

(Received May 31, 1976)

あへん法32条により、昭和46~50年度に収納されたあへん100検体中のモルヒネ含量について報告する。

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、第八改正日本薬局方「アヘン末」定量法に従ってモルヒネの定量を行なった。

実験結果

収納あへんのモルヒネ含量については Table 1, 2 に示す。

昭和46~50年度に和歌山県、岡山県のけし耕作者および甲種研究栽培者より収納されたあへんのモルヒネ含量は 8.95~20.79% で、平均 14.09% であった。

Table 1. Morphine content of Japanese opium.

Crop season	Province	No. of sample	Average of morphine content (%)	Range of morphine content (%)
1971	Wakayama	11	14.37	12.26~16.24
	Wakayama*	1	12.91	—
	Okayama	11	16.82	12.77~20.79
	Okayama*	7	14.98	8.95~19.00
1972	Wakayama	7	14.16	13.37~15.33
	Wakayama*	1	11.92	—
	Okayama	9	14.33	11.61~16.75
1973	Wakayama	7	11.26	10.10~13.08
	Wakayama*	1	12.77	—
	Okayama	9	13.12	9.16~17.14
1974	Wakayama	5	12.96	11.19~16.19
	Wakayama*	1	12.91	—
	Okayama	14	14.10	10.72~17.62
1975	Wakayama	4	13.74	11.99~15.37
	Wakayama*	1	13.29	—
	Okayama	11	14.10	10.84~17.15

* samples collected only for study and experiments.

Table 2. Classification of Japanese opium samples according to morphine percentage (Harvested from 1971 to 1975)

Province	Morphine content and number of samples													Total %
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20%	
Wakayama	—	—	4	6	6	11	4	5	3	—	—	—	—	39
Okayama	1	1	3	8	3	6	13	9	6	5	2	2	2	61
Total	1	1	7	14	9	17	17	14	9	5	2	2	2	100

薬用植物の栽培試験（第6報）

ミシマサイコの発芽および初期生育について*

堀越 司・本間尚治郎・石崎 昌吾

Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. VI
On the Germination and Growth of *Bupleurum falcatum* L.

Tsukasa HORIKOSHI, Naojiro HOMMA and Shogo ISHIZAKI

Studies on the germination and growth of first year of *Bupleurum falcatum* in a vinyl house and under field condition were carried out from May to October 1974.

1) The seeds of materials, which were produced in six regions, were different in forms, for example seed of Toyama was small and ones of Kanto district were large.

2) The germination percentage of seeds of Tanegashima, Tokyo and Hokkaido in the vinyl house was more than 50%.

3) After the first year, the growth of tops grown from the seeds of the Tanegashima, Ibaragi and Tokyo was better than others in the vinyl house, and Tanegashima's one was better in the field.

(Received May 31, 1976)

まえがき

ミシマサイコ *Bupleurum falcatum* L. は、セリ科の多年生草本で、アジアからヨーロッパに広く分布している¹⁾。

根を乾燥したものをサイコ（柴胡）と称し薬用に供する。根にはサポニンを含む他に脂肪油を含み、薬効は肝機能を調整する作用があり、漢方では解熱、解毒、鎮痛、強壯などに用い漢薬原料植物として重要である²⁾。我が国における栽培は、1955年頃より各地で行われ、近年は静岡、埼玉、茨城、神奈川をはじめ、鳥取、香川、宮崎、鹿児島各県が主産地となっている³⁾。

我が国におけるミシマサイコの栽培の適地は温暖地とされているが³⁾、最近では需給の関係や栽培上の障害、

例えば土壌線虫や根ぐされ病³⁾などにより、温暖地における栽培が相当むずかしくなっているため、北海道にもその生産が切望されていることから、特に道北地方における栽培化を目標にその第1段階として、産地別種子検定や発芽および初期生育について試験を実施したのでその概要について報告する。

材料および方法

供試材料は静岡（御殿場）、茨城（八郷）、種子島（中種子）などの代表的なミシマサイコを生産地より入手したもので、静岡産は1972年産、種子島産は1973、'74年産、その他はいずれも1973年産である。

1. 種子検定：種子の入手後選粒し、1000粒重、1g粒数、良種子（よく充実し形状整う）、不良種子（形状整わず充実しない）などについて実施した。（1974年5月7日）

2. 発芽試験：沖積性砂質壤土を篩選し、直径18

* 日本作物学会第159回講演会に於て一部発表

cm の素焼植木鉢に充填し、1区8連制とし7試験区56鉢を使用した。1鉢5ヶ所5粒づつ計25粒の点播とし、覆土は4mm厚さに行ない、1区200粒播とした。播種後はビニールハウス内に配置し、毎日午前9時、午後2時に巡回し、灌水および管理や観察調査を実施した。(1974年5月14日)

3. 畑地栽培：播種法は沖積性砂質壤土の畑2aを耕起整地後60cm畦とし、作条に基肥施用攪拌後、軽く鎮圧してから条播し、その上にモミガラを散布被覆した。(1974年5月16日)

肥料は基肥に過石3kg、ナタネ油粕12kg、複化成成26410kg、(1974年5月16日)、追肥は過石2.4kg、ナタネ油粕15kg、鶏糞26kgを(1974年7月13日)それぞれ施用した、中耕、除草は6月10日、25日、7月8日、8月22日の4回実施し、間引きは7月29日に行ない株間5cmとした、病虫害の防除は9月12日にアブラムシ、アオムシなどの防除にバダンの水溶剤を散布した。

結果および考察

1) 種子検定：Table 1 によれば、まず良種子即ち充実し形状の整っているもの或は不良種子即ち充実せず形状の整わないものの比率についてみると、富山、種子島産は良種子が多く、不良種子は少なくなっているのに反し茨城産のⅡ、Ⅲと北海道産はいずれも不良種子が多く良種子が少なくなっていた。次ぎに1000粒重については1.1g~1.8gであって富山産が最も軽く、茨城、東京、静岡、北海道産は重い傾向を示した。1g粒数は569~955粒で、1000粒重とは異なり富山産が最も多く、北海道、種子島、茨城産の順で少なく静岡産は最少であった。これらことは、産地による栽培、採種調製など技術的相異、或は植物の個体変異などによって生じるものかは断定しがたいが産

地によって種子の大、小のあることが認められる。例えば、富山産の種子は小粒、茨城、東京、静岡の関東産種子は大粒にそれぞれ分けることが出来る。

2) ビニールハウス内での発芽と初期生育：Table 2によれば発芽率は16%~76.5%と非常に幅があり、50%以上は種子島、東京、北海道産であって静岡、富山、茨城産はいずれも低く中でも静岡産は最も低く16%であった。静岡産種子は1年古い種子(1972年産)によることが追認された。

宮崎ら⁹⁾は、比較的大きく内容の充実した良質種子では、特別の処理を施さなくても、ミシマサイコの発芽率は約80%と可成り高いことを報じている。本試験における発芽率は種子島産のみが76.5と高率を示し、宮崎ら⁹⁾の結果に最も近い傾向を示した。

地上部の生育は既して良好なのが種子島、茨城、東京産であるのに反し、富山、北海道産は全般に劣る傾向を示した。

3) 畑地栽培における初期生育：結果はTable 3のとおりである。藤田ら⁹⁾は、ミシマサイコの実際栽培の播種の最適期は、関東地方においては3月下旬から4月中旬で、平均気温10°前後のころと述べている。本試験では5月16日に播種し、試験地における5月中旬の平均気温は12.4°であって、発芽までに約30日を要した。

ミシマサイコの地上部の生育は、第1年次においては次のような傾向を示した。

草丈、葉長、株張、莖長などは各地産とも大体同じような傾向を示したが、草丈では24.3cmの茨城産(Ⅲ)が最も低く、種子島産は35.2cmと最も高くなっていた。葉長は12.7cmの種子島産が最も低く、17.3cmの北海道産は最高を示し、草丈と相反する傾向であった。莖長では東京、北海道、種子島産は32.8cm、29.8cm、28.5cmの順で比較的良好で草丈

Table 1. Seed Certification of *Bupleurum falcatum* L.

Plot	Perfect seed (%)	Imperfect seed (%)	Weight of thousand kernel (g)	Grain number of one gram	Place of seed production
I	58.4	37.6	1.7	569	Shizuoka, Gotenba
II	27.5	63.7	1.8	643	Ibaragi, Yasato
III	20.9	70.0	1.7	624	" "
IV	62.9	30.1	1.1	955	Toyama, Kamichi
V	60.6	34.7	1.5	674	Tanegashima, Nakatane
VI	30.1	68.0	1.8	586	Tokyo, Kodaira
VII	26.5	73.5	1.7	694	Hokkaido, Nayoro

Table 2. Germination and Growth of *Bupleurum falcatum* L. at Vinyle house Culture

Plot	Germination percentage (%)	*Plant height (cm)	*Number of leaf	*Length of leaf (cm)	*Width of leaf (cm)	*Hill spread (cm)
I	16.0	5.8	3.1	3.8	0.6	3.6×3.4
II	31.0	6.9	3.4	4.7	0.6	5.0 4.5
III	43.0	6.8	3.1	4.7	0.6	4.3 3.9
IV	22.0	5.3	2.7	3.1	0.3	3.5 4.0
V	76.5	8.2	3.5	4.9	0.5	4.0 3.9
VI	64.5	7.1	3.1	4.3	0.6	4.0 4.3
VII	58.0	7.0	2.7	3.8	0.4	3.9 3.9

* All data are mean-values based on 20 plants per plot.

Table 3. Growth of *Bupleurum falcatum* L. at Field Culture

Plot	Plant height (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Hill spread (cm)	Main stem number of node	diam (mm)	length (cm)	Number of primary branch
I	28.2	15.6	1.8	21.7×24.9	11.0	5.2	20.1	4.8
II	30.7	14.5	1.6	23.5 24.8	13.3	5.3	17.0	4.4
III	24.3	16.0	1.8	22.1 23.0	10.2	5.0	12.9	3.2
IV	28.4	13.7	1.2	20.0 19.3	13.4	4.3	24.0	6.3
V	35.2	12.7	1.5	22.5 21.6	14.3	4.7	28.5	7.2
VI	34.9	16.8	1.8	21.3 22.8	14.1	4.5	32.8	4.7
VII	34.1	17.3	1.5	23.6 23.2	13.4	4.4	29.8	1.6

All data are mean-values based on 20 plants per plot.

とはほぼ同じ傾向を示したが、株張りは各産地ともに大差ないことが認められた。

茎の太さについてみれば、茨城、静岡産が他に比し優る傾向を示したが、主茎節数や、第1次分枝数などではいずれも種子島産が最大であって、主茎節数では産地による相異は僅少であるが、第1次分枝数では種子島産が72本と最も多く北海道産が1.6本と最少であった。

摘 要

ミシマサイコの発芽および初期生育について1974年5月から1974年10月30日までに、種子検定、発芽試験、ビニールハウス栽培、畑地栽培などをそれぞれ調査検討した。

1) 種子検定について良種子の多いのは富山、種子島産であって、茨城、北海道産は不良種子が多くなっている。1000粒重は最も軽いの富山産で、茨城、東京、静岡、北海道産は重い傾向を示した。1g粒数

は富山産が最も多く、北海道、種子島、茨城産の順で少なく静岡産は最少であった。産地によって種子の大小が認められ、例えば富山産は小粒に、茨城、東京、静岡の関東産は大粒に属するようである。

2) ビニールハウス内での発芽と初期生育については発芽率が50%以上あったのは種子島、東京、北海道産であって、富山、茨城産はいずれも低く、中でも静岡産は古種子のため最も低かった。地上部の生育は種子島、茨城、東京産が概して良好であったが、富山、北海道産は劣る傾向を示した。

3) 畑地栽培における初期生育については、草丈では種子島産が最も高く、茨城産は最も低かったが、葉長では北海道産は最高で、種子島産は最低であった。株張りは各産地ともに大差は認められないが、茎長では東京、北海道、種子島産は比較的良好であった。即ち第1年次の生育は種子島産が比較的良好で次が東京産であった。

本試験遂行に当り、供試材料を快よく御恵与賜りました東京都薬用植物園小林正夫技師ほか各位ならびに終始御指導賜りました北海道生薬協会長水谷次郎氏、前日本大学薬用植物園主任藤田早苗之助氏に対し感謝の意を表します。

文 献

- 1) 藤田早苗之助：新しい薬用植物栽培法，355 (1970)，広川書店
- 2) 刈米達夫ほか監修：広川薬用植物大事典，346 (1963)，広川書店
- 3) 藤田早苗之助：薬用植物栽培全科，306(1972)，農山漁村文化協会
- 4) 宮崎幸男ほか：衛生試験，91，108 (1973)
- 5) 藤田早苗之助ほか：衛生試験，85，110 (1969)

薬用植物の栽培試験 (第7報) ミシマサイコの生育，収量について

堀越 司・本間尚治郎・石崎昌吾

Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. VII On the Growth and Yield of *Bupleurum falcatum* L.

Tsukasa HORIKOSHI, Naojiro HOMMA and Shogo ISHIZAKI

The growth and yield of *Bupleurum falcatum* two years after the seeding under field condition in Hokkaido were investigated on the seeds obtained from six regions.

- 1) The seed of Hokkaido was inferior in the growth of top to the others, but superior in the yield of root.
- 2) It was estimated from the results of the growth of the seed of Tanegashima that there could be no relation between the first year's growth and the second year's growth, as well as the yield of root.
- 3) The yield of seed was too low for the seed production, even in the seed of Hokkaido in which the maximum yield of seed was obtained.

(Received May 31, 1976)

まえがき

前報¹⁾ではミシマサイコの発芽および初期生育について、1974年5月から1974年10月30日までに種子検定、発芽試験、ビニールハウス栽培、畑地栽培などを主要産地7カ所の種子について調査検討し、産地によって種子の形態が異なり、畑地栽培では種子島産の生育が良かった事を報じた。

本試験においては畑地栽培における2年次の生育および収量について調査し、寒冷地における生育特性を検討した。

材料および方法

播種法は沖積性砂質壤土の畑2aを耕起、整地後

60cm 畦とし、作条に基肥施用攪拌後軽く鎮圧してから条播し、その上にモミガラを散布被覆した。(1974年5月16日) 肥料は、基肥に過石 3 kg, ナタネ油粕 12 kg, 複合化成 264, 10 kg (1974年5月16日), 追肥は過石 2.4 kg, ナタネ油粕 15 kg, 鶏糞 26 kg (1974年7月13日) それぞれ施用した。中耕, 除草は6月10日, 25日, 7月8日, 8月22日の4回実施し, 間引は7月29日に株間 5cm とした。病虫害の防除は9月12日にアブラムシ, アオムシなどの防除にパダンの水溶剤を散布した。

前報¹⁾の畑地栽培と同一材料を供試し, 第2年次の生育, 収量について, 調査検討した。

畑地は沖積性の砂質壤土で, 畦幅 60 cm, 株間 10~20 cm である。肥料は追肥を2回行ない, 過石 2.4

kg, ナタネ油粕 15.0 kg, 堆肥 250 kg (1975年5月9日), 過石 2.4 kg, ナタネ油粕 15.0 kg, 鶏糞 26.0 kg (1975年7月15日) にそれぞれ施用した。

中耕除草 (含, 拔草) は1975年5月12日, 30日, 6月16日, 7月2日, 8月11日の5回実施した。

掘り上げ調査は1975年10月27日に実施した。

結果および考察

ミシマサイコの畑地における第2年次の生育については下記のようなのである。

1) 地上部の生育は Table 1 のとおりである。草丈や株張りは、北海道産に比し他産地のものはいずれも僅少なから優っていた。莖数を除き、全般に北海道

産は劣る傾向を示し、地上部生重は静岡産が最も重く、次が茨城産であって、最も軽かったのは北海道産であった。

2) 地下部の生育は Table 2 のとおりである。地上部とは異なり、種子島, 東京産は、静岡や茨城, 北海道産に比しやや劣る傾向を示した。根長では、27.3 cm~19.9 cm の幅があり、茨城産 (Ⅲ) が最も長く北海道産は最も短かった。根張りについては、根長とは相異して種子島産が 16.7 cm×10.7 cm と最も小さく、東京産は 21.0 cm×14.3 cm と最大であった。根の太さについては静岡産が最も太く 15.6 mm×13.7 mm であったが、種子島産は最も細かった。第1次分岐根の太さと大体同じような傾向を示した。即ち

Table 1. Growth of *Bupleurum falcatum* L. ('75.10.27.)

Plot	Plant height (cm)	Hill spread (cm)		Number of stem	Diam. of main stem (mm)		Number of primary branch	Fresh weight of top (g)	Place of seed production
I	124.1	66.9	51.8	4.0	8.5	27.4	281.7	Shizuoka, Gotenba	
II	125.1	75.1	50.9	2.9	7.4	25.6	208.1	Ibaragi, Yasato	
III	118.6	73.8	58.9	3.7	8.1	26.0	196.4	''	
IV	100.5	73.7	59.5	3.0	7.4	23.8	204.8	Toyama, Kamiichi	
V	103.8	70.1	56.0	2.5	8.7	29.0	162.2	Tanegashima, Nakatane	
VI	130.2	68.3	55.2	1.8	9.2	25.5	150.7	Tokyo, Kodaira	
VII	99.2	62.6	52.1	2.9	7.1	24.9	149.9	Hokkaido, Nayoro	

All data are mean-values based on 20 plants per plot

Table 2. Yield of *Bupleurum falcatum* L. ('75.10.27.)

Plot	Root length (cm)	Root spread (cm)		Diam. of root (mm)		Number of primary branch root	Root weight	
							Fresh (g)	Dry (g)
I	22.2	17.8	12.2	15.6	13.7	9.7	17.81	6.64
II	20.1	17.5	11.1	12.5	11.1	5.6	11.46	4.40
III	27.3	19.9	13.9	12.5	11.3	9.9	12.55	5.36
IV	23.6	20.3	13.3	10.9	6.6	6.6	13.44	4.43
V	22.0	16.7	10.7	9.5	5.4	5.4	9.11	3.78
VI	21.2	21.0	14.3	10.6	6.5	6.5	10.64	4.46
VII	19.9	18.2	12.4	11.4	6.9	6.9	14.48	5.36

All data are mean-values on 20 plants per plot

Table 3. Yielding percentage and T-R ratio of *Bupleurum falcatum* L. ('75.10.27.)

Plot	Fresh weight		T-R ratio (%)	Dry weight of root (g)	Yielding percentage (%)	Dry weight of ratio to VII (%)
	Top (g)	Root (g)				
I	281.7	17.8	15.8	6.6	37.3	122.2
II	208.1	11.5	18.1	4.4	38.4	81.5
III	196.4	12.6	15.6	5.4	42.7	100.0
IV	204.8	13.4	15.3	4.4	33.0	81.5
V	162.2	9.1	17.8	3.8	41.5	70.4
VI	150.7	10.6	14.2	4.5	41.9	83.3
VII	149.9	14.5	10.3	5.4	37.0	100

All data are mean-values based on 20 plants per. plot

Table 4. Seed weight of *Bupleurum falcatum* L. in each plot ('75.10.27.)

Plot	No. of pertiled plant/20	Seed weight (g)/plant
I	1	0.10
II	5	0.36
III	7	0.84
IV	13	1.34
V	10	1.01
VI	4	0.42
VII	13	1.76

当地方における気象条件や肥培管理などの差異およびミシマサイコの性質によって地上部の生育と地下部の生育に差異が生ずるもののように思考される。

3) T-R率および地下部の歩留りについては、Table 3のとおりである。T-R率についてみれば、茨城産(II)は最も高く、北海道産は最も低かった。地下部の歩留りについては茨城産(III)が最高で次が東京、種子島産の順であり、富山産は最低であった。

地下部即ち根の乾物重を北海道産を100とした百分比でみると、静岡産が最高で他産地のものはいずれも北海道産と同じか或は劣っていて種子島産は最少であった。

ミシマサイコの生育は、草丈や茎の太さおよび茎数などによって多少の差異は認められるが、採種地によっても相異なることが確認された。

概して生育が良好なのは、東京、茨城の関東産であって、種子島や富山産および北海道産はやや劣る傾向を示した。

T-R率は全般に低く根の取量については特記すべきことは見当らなかった。

4) 種子生産については、Table 4のとおりであ

る。地上部の繁茂に比し開花結実数が少なく、種子生産を目的としての2年株は不適のようである。これはミシマサイコの性質から考え、当地方の日照或は積算温度などの不足に起因するものと思われる。

ただし、北海道産を対照に生産種子重量比について他をみると富山産の76%が最高で、次が種子島産の43.9%であり、茨城や東京産は7.8~7.4%と少なく、特に静岡産は0.4%と極めて少なかった。これらの傾向は、当地方(名寄)に幾代か栽培されたものは結実が比較的容易であるのに反し、茨城や東京の関東産は当地方では結実しにくく、特に1年古い種子を供試した静岡産では極めて少ないことが確認された。

ミシマサイコを寒冷地、特に北海道名寄地方に栽培化するには次の点が考慮されなければならない。

1) 種子島産が第1年次では生育良好であったこと¹⁾と、第2年次における生育と根取量とは必ずしも一致せずむしろ北海道産よりも劣る傾向を示したことは注目すべきものと思われる。例えば前報²⁾のTable 3(1974.10.30)によれば、生育第1年次の草丈、葉長、株張、茎長などの生長では、種子島産が他に優る傾向を示し、他に主茎節数や第1次分枝数なども同

じような傾向を示したのに反し、本試験の Table 1, 2 によれば、生育第2年次の地上部の生育ではあまり振わず、地下部の生育特に根の収量は種子島産は期待に反し最少であったことである。

2) 当地方における晩秋の降霜や降雨などによる障害や、翌春の雪どけ時の停滞水による根ぐされなどは最も警戒されなければならない。

藤田氏²⁾は、日当たりよく地下水位の低いところに適し、例えば、オカボ、サツマイモ、オオムギなどのよく生育するところがよいと述べている。

以上のことから寒冷地におけるミシマサイコの栽培化について今後の課題は、初期生育がそのまま根の収量や品質の確保と一致しないことの要因などについて十分検討し追求されなければならない。

摘 要

1974年5月16日畑地にて、各地の生産地より採種したミシマサイコの種子を、播種育成した第2年次の株を供試して、地上部の生育、根の収量について比較検討した。

1) 草丈や株張りなどは北海道産に比し、他はいずれも僅少なから優っており、地上部生重では、静岡産

が最も重く、次が茨城産で、北海道産は最も軽かった。

2) 根の収量は、種子島、東京産は静岡や茨城、北海道産に比し、やや劣る傾向を示した。

3) T-R率は、全般に低く、茨城産(Ⅱ)が最も高いのに比し、北海道産は最も低かった。地下部の歩留りについては、茨城産(Ⅲ)が最高で、次が東京、種子島産の順であり、富山産は最低であった。

4) 種子生産については、北海道産を対照に生産種子重量比について他をみると、富山産の76%が最高で、次が種子島産の43.9%であり、茨城や東京産は7.8~7.4%と少なく、特に静岡産は0.4%と極めて少なかった。

本試験遂行にあたり、終始御指導賜りました、北海道生薬協会会長水谷次郎氏ならびに前日本大学薬用植物園主任藤田早苗之助氏に対し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 堀越 司ほか：衛生試報，91，163（1976）
- 2) 藤田早苗之助：薬用植物栽培全科，307（1972），農山漁村文化協会

業 務 報 告

Annual Reports of Departments

昭 和 50 年 度 業 務 概 況

所 長 川 城 巖

昭和 49 年のインフレと不況が共存する経済的不安定状態は本年になっても改善の兆が見られず、企業の倒産は戦後最悪記録とされたほど不況は深刻化し、また 4 月中旬には失業者 100 万人を突破と報ぜられた。したがって税収面でも大きな狂いを生じ国、地方自治体の財政の危機が叫ばれるようになった。その間政府は第 1 次から第 4 次に及ぶ不況対策を打出し、経済安定に必死の努力を傾けたのであったが、なかなか速効的なものはなくこの低迷状態からの脱却は容易ではなかった。しかし 11 月末になって、総理府は消費者物価の上昇率が 1 桁にとどまるようになったと発表し物価上昇傾向がやや鎮静化に向かったことを報じた。このような経済面の激烈な変動の様相から判断して、従来の高度成長時代はすでに去り、経済の低成長期への転換を基盤とする施策が考えられなければならないとする思想が定着して来た。それに対応する姿勢として、科学技術の分野においても生産面、効率面に重点を指向した研究から国民生活に密着した研究、開発の振興の方向に転換する傾向が顕著となって来た。

さて国立衛生試験所については、元来その使命とするところは国民の生活に不可分の関係にある諸物質の品質確保、安全性究明にあるのであるから、上述の科学技術の指向する方向と相待ち、いよいよその本領を發揮し、国の最高専門機関としての重責と期待にこたえなければならない。

そこで当所の昭和 50 年度予算について一言すれば、もっとも注目すべき点は増員分として、本年度も毒性部に研究職 3 G が 8 名認められたことと、所謂「安全センター」と廃棄物処理施設の建設関係必要経費として約 66,500 万円がついたことである。とくに建設経費については、昭和 49 年度において総需要抑制という国策の下に忍従しなければならなかった事情

があっただけに、総額 25 億円余の中の第 1 回分としての金額が認められたことは、私が常々申している当所創立 100 周年記念事業の最終日標に向っていよいよ 1 歩踏み出したことを意味するもので、当所の大発展のため慶賀にたえない。

ところで、昭和 50 年度中の当所業務については後続の各部報告によってその概要を把握することができるが、いずれも当所当面の試験研究業務の質的向上発展と責務遂行に寄与するものであることは言をまたない。なお社会的問題として取り上げられたものには、塩ビモノマーやフタル酸エステル類、米国より輸入されたグレープフルーツ類のオルトフェニルフェノールなどに関するもの等があったが、いずれも印象に残るものである。

なおこれは好ましくないことであるが、本年度から 3 カ年にわたり、第 3 次定員削減が実施されることとなり、当所もその影響を蒙る結果となった。増員は増員、削減は削減と割り切った考え方で対応しなければならぬところにわれわれとして大きな悩みを感じる。

次に所謂「安全センター」については、前述の通り第 1 次の子算措置がとられた訳であるが、さてその建設実施にはいる前提として、附近居住者等との折衝という問題が待ち構えていた。折衝上の主要点としては、日照権、TV 電波障害、工事期間中の工事用大型車輛の通路などが挙げられたが、これらの問題点の解決なくしては法令にもとづく建築許可申請も受理され難いという事情にあったため、当所関係者一同これら難問打開のため日夜苦難の努力を粘り強く続けなければならなかった。

その結果結論として、建築物の予定位置の変更、隣接陸上自衛隊衛生補給処の協力などにより、日照権や

通路の問題は解決し、また TV 電波障害については両者の話し合いにより、その対策について関係居住者から一応の諒解を取りつけることができた。このような状況に到達しえた時はすでに 12 月の初旬であって、それからいよいよ建築許可申請の書類が正式に動き出した訳である。

都庁の関係部局の人々も当所の事情を諒解し書類の処理には誠に好意的であったが、手続上審査会、公聴会等の場を通過しなければならないこともあって、時間的には可成りの期間を要し、最終的に都知事の許可がおりたのは年度末も近い昭和 51 年 3 月 2 日であった。

ここまで建設に必要な措置が進んでくると、次は関東地建が扱う範囲がいよいよ広く展開してくるのであるが、まず当面の問題として昭和 50 年度建設関係予算の繰り越しを大蔵当局から承認してもらうことが急務となった。

昭和 50 年度の当所業務の概況を書くという本旨からすれば、本稿もこの辺で終るべきであらうが、年度末からこの稿執筆時点(昭和 51 年 5 月末)までの間にえられた重要事項について簡単に附記しておく。まず昭和 51 年度予算はこの年度にはいつから国会で承認されたが、当所関係では定員増として研究職 3 G 4 名(毒性部 3 名、病理部 1 名、ただし 10 月 1 日より実施)、所謂センター関係建設費 25 億円余の残り

部分約 187,000 万円、研究調整官(当所生物学的業務の総合的企画調整を行なうもの)などがついた。また昭和 50 年度分建設費の繰り越しも昭和 51 年 5 月下旬承認され、センター関係建設費は予定額が完全に予算上組みこまれた訳である。

そこで当面の急務は一刻も速かに着工することであって、関東地建が中心となり鋭意努力中である。

総 務 部

部長 北村 正 隆

1. 組 織

昭和 50 年度等級別定数の改訂によって、昭和 50 年 4 月 1 日から主任研究官が 2 名増の 35 名となり、これに伴う国立衛生試験所組織細則(第 3 条の 2)の一部改正が行われた。

2. 定 員

昭和 49 年度末の定員は 301 名であったが、昭和 50 年度当初に第三次定員削減計画に基づき行政職(一) 1 名、行政職(二) 1 名、及び研究職 2 名計 4 名の定員が削減された。一方、昭和 50 年 7 月 1 日から研究職 8 名の増員(毒性部 8 名)が認められたので、50 年度の定員は、指定職 2 名、行政職(一) 53 名、行政職(二) 45 名、研究職 205 名、計 305 名となった。

資料 1. 昭和 49・50 年度当初予算額の比較

	昭和 49 年度 千円	昭和 50 年度 千円	備 考
(組織) 厚生本省試験研究機関	1,053,919	1,980,707	188%
(項) 厚生本省試験研究所	918,230	1,883,306	205%
人 当 経 費	707,341	977,984	138% 研究職の定員 8 名増のほか、定期昇級及びベースアップによる増
一般事務経費	47,683	48,973	103% 50 年度で保守料が予算化(914 千円)された増
研 究 費	161,796	187,788	116% 研究職増員分 8 名と人当研究費単価の増 @860,000→@970,000 円
標準品製造費	1,410	3,536	251% 材料費の増
施設整備費	0	665,025	医薬品及び食品等の安全性試験のための施設整備
(項) 血清等製造及検定費	96,716	97,401	101%
(組織) 厚生本省試験研究機関	38,973	37,468	96%
(項) 国立機関原子力試験研究費	35,754	35,785	100%
(項) 放射能調査研究費	3,219	1,683	52% テーマの減と備品費の減

(注) 移替予算額を除く

3. 予 算

昭和 50 年度の当初予算額は 資料 1 のとおりである。

4. 「食品医薬品等安全センター（仮称）」の建設

厚生省に設けられた「食品、医薬品および家庭用品の試験検査体制の整備等に関するプロジェクトチーム」の昭和 48 年 7 月の報告等により、当所は「食品医薬品等安全センター（仮称）」を設置することとなり、その施設整備費として、昭和 50 年度及び 51 年度における国庫債務負担行為 2,503,058 千円が認められ、昭和 50 年度の歳出化分として 655,843 千円の予算が計上された。

5. 「薬用植物研究施設（仮称）」の建設計画

昭和 47 年 5 月の閣議決定により、当所の一部を筑波学園都市に移転させることとなった。

この決定にもとづき、当所としては、薬用植物の栽培等に関する試験研究の近代化を図ると共に、その組織と運営を合理することを目途として、春日部薬用植物栽培試験場を同学園都市に移転させ、これを他の 4 カ所の試験場の中心的な「薬用植物研究施設（仮称）」として設置するとの構想をたてた。その後、昭和 48 年 4 月 27 日の閣議決定により、同研究施設の概成時期を昭和 50 年度、移転時期を昭和 51 年度に行うこととなったが、さらに昭和 50 年 3 月 14 日「筑波研究学園都市移転機関等の移転時期及び施設の概成時期の変更について」の閣議決定が行われ、その施設の概成時期及び移転時期が昭和 54 年度に変更された。

合成化学研究部

部 長 鈴 木 郁 生

研究業績

1) 生物活性を有する化合物の合成化学的研究

i) 1,1'-polymethylenebis(1-nitrosourea) 類の合成とその抗腫瘍作用

1,1'-polymethylenebis(1-nitrosourea) 類のうち、1,1'-ethylenebis(1-nitrosourea) (EBNU) にすぐれた抗腫瘍作用のあることはすでに報告した。本年度は EBNU の合成に当って副成する化合物の構造について研究を進めた結果、この化合物が N-ニトロ基をもつ環状化合物であることを確認した、またこの化合物は抗腫瘍作用をもたない。(→学会発表 4)

EBNU の抗腫瘍作用に関しては佐々木研究所との共同研究が行なわれ、腹水肝癌実験腫瘍 11 種についてしらべられた。その結果、EBNU は ip-ip 投与で

は他剤よりすぐれた結果を得たが、他の投与経路では他剤に比し若干劣る成績が得られた、このほかエチルニトロソ尿素によって Donryu rat に発生した赤芽球白血病細胞 EDEN に対する in vivo における EBNU の感受性が検討された。(→学会発表 104, 113)

EBNU の制癌効果に関する研究は文部省癌特別研究 II として昨年に引続いて行なわれ本年終了した。すなわち薬品病理部においてはその細胞学的効果について、薬理部においてはその酵素阻害作用について、また医化学部においては生体成分との相互作用についての研究がそれぞれ行なわれた。

ii) ピリダジン化合物の合成

これらの化合物の合成は、その生理活性と構造相関を検討するため、また有機合成化学的な研究を目的として引続き実施されている。本年はピリダジン 1,2-ジオキシドの求核置換反応、4-nitro-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide の還元および置換反応について研究した。(→誌上发表 3, 4) またピリダジンのトリアツェン誘導体について、その制癌性と反応性について研究を行った。(→学会発表 3)

iii) O-置換ヒドロキシルアミンの合成

核酸などの N-アミノ化剤である O-置換ヒドロキシルアミン 9 種を合成し、その制癌効果を検討し、このうち 2 種がラット腹水肝癌 AH-13 に対し効力を認めた。

以上の研究は薬品病理部、衛生微生物部、医化学部との共同研究として行ったが、研究費の一部は文部省の科学研究費を使用した。

2) 発癌および変異原性と化学構造に関する研究

当部で合成された各種アルキルニトロソ化合物の発癌実験は引続いて薬品病理部において続行中である。(→誌上发表 89, 学会発表 102, 108, 109) またアシル型 N-ニトロソ化合物の染色体異常原性および変異原性についての研究が衛生微生物部、薬品病理部、国立癌センターとの共同で実施され興味ある結果を得ている。(→学会発表 106, 誌上发表 84)

1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG) の強力な発癌作用はよく知られている処であるが、MNNG のピリジン類縁化合物が合成されその変異原性と発癌性を検討中である。(→学会発表 1, 2, 誌上发表 1, 2)

先に述べたピリダジンジ 1,2-ジオキシド誘導体についてもその変異原性を 4-NQO およびモノオキシド類との比較において衛生微生物部において実験中である。

3) 薬品病理部、食品添加物部、薬品部と共同で厚

生省癌特別研究「癌原性検索法の確立に関する研究」を引続いて行った。この研究に関しては当部は各研究班員に対し、30種の検体の調製と配布を行った。

薬品部

部長 江島 昭
前部長 井上 哲男

概要 国家検定および特別審査、一齐取締試験、特別行政試験などの検査業務については、総件数において昨年度より若干減少しているが、第九改正日本薬局方公布直前の年度に当たり、化学薬品の品目についての総まとめに関して当部の勢力の大半を費したことは特筆すべきことである。

また臨床診断用医薬品基準の最終案の作成、殺虫剤指針改定に関する作業、医薬品添加物基準作成のための規格と試験法およびそれらの安定性の調査研究、地方衛生研究所技術者に対する講習(業務局審査課依頼)など当部の規格基準作成等に関する業務は、上記検定、検査業務と合せて相変わらず過量ともいえる大量なものであった。それにも拘らず、研究面を振り返ってみると、混合剤の分析法の迅速化、近年緊迫している医薬品の有効性、安全性に関する諸問題、特に注射液中の異物の検査法の計量化、固形剤の安定性、Bioavailability と in vitro 法との相関に関する研究、固形剤からの医薬品の吸収排泄および溶出速度に及ぼす主成分の物性および添加物の影響など、それぞれ精力的な活動が行なわれた。これからの研究の数は、本所の特別研究課題「製剤技術の進歩に伴う医薬品の安全性の確認に関する研究」の予算に負う所大であった。その成果については井上哲男主任研究者による報告(本誌本号記載)があるので参照されたい。本特研は50年度でもって一応終了したが、ひきつづき第2次3ヶ年の研究が51年度より開始され、医薬品の種類が重要なものに拡大されるとともに、第1次の3ヶ年の研究を基礎として多大の成果がもたらされるものと期待される。

幻覚剤対策費による研究も昨年度にひきつづき実施しており、合成したDMT, DET, DMHPを毒性部へ供給したこと、および春日部植物栽培試験場との共同研究として「けしの全草抽出法に関する研究」の一環として、抽出エキス中のアルカロイドの種類と含量の分析(15件)も行なったことなどが挙げられる。

業務成績

1) 国家検定

件数の多いものから列記すると、ブドウ糖注射液(49.3%)、エタンプトール錠(26.5%)、エタンプトール、避妊薬、リンゲル液、プロチオナミド錠、プロチオナミドの順となっている。総件数(376件)は昨年度より95件減少している。不適となったものはブドウ糖注射液4件(約1%)、リンゲル液1件(約7%)でいずれも異物による。

2) 特別審査試験

新医薬品に関係するもの(59件)、解熱鎮痛剤に関係するもの(43件)、および殺虫剤(7件)があり、件数は昨年度とほぼ同じであるが、新医薬品、殺虫剤については、一年一年試験項目および試験法の充実が行なわれ、有効性と安全性の観点からも見直されている傾向にある。

3) 一齐取締試験 かぜ薬中のアセトアミノフェンの定量(186件)、スルピリン注射液中のスルピリンの定量(46件)を行なった。

アセトアミノフェンの定量に高速液体クロマトグラフを活用したことは行政的検査の成果を上げる上に大きな貢献をなした。

またスルピリンの分解は現在においてもなお問題を残しており、安定性の基礎的研究の必要性を再確認し、残存試料はここ数年来行なっているスルピリンの安定性研究の材料として活用した。

4) 特行試験

ヒドロキシエチルデンプン注射液(輸液)の品質試験(3件)、国産あへん(6件)および輸入あへん(18件)の依頼があった。

5) その他 臨床診断用医薬品基準(案)に対する検討データの提出(審査課へ報告)、医薬品添加物(5品目)の規格および試験法、ならびに安定性に関する調査および実験結果の提出(審査課へ報告)、殺虫剤指針改訂に関する基礎データの作成(リン系殺虫剤の原薬および製剤38品目、審査課へ提出)などの作業も行なっている。厚生省癌特別研究「癌原性検索法の確立に関する研究」に関して、30種の検体の溶解性、安定性、LD₅₀、含量などを調査した。

研究業績

1) 医薬品の分析化学的研究

i) 防疫用製剤中の O, O-Dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate の新比色定量(一誌上发表 18)

2) 製剤の分析化学的研究

i) 二波長クロマトスキャナ法による安息香酸ナトリウムカフェイン製剤の定量(第3報)〔衛生試験, 93, 83 (1975)〕

ii) 混合製剤中のバルビタール類のけい光および

UV 法を用いた高速液体クロマトグラフィーによる分離定量 (→学会発表 16)

iii) 油剤および乳剤中のダイアジノンの定量〔衛生試報 93, 27 (1975)〕

3) 安定性に関する研究

i) 油剤中の O, O-Dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate の安定性 (→誌上発表 19)

4) 有効性に関する研究

i) クロラムフェニコール錠の Bioavailability と溶出試験法 (→学会発表 15)

5) 安全性に関する研究

i) 注射剤中の微粒子の検出法に関する研究 (厚生科学研究)

6) 麻薬の試験法に関する研究

i) ガスクロマトグラフィーによるオキシコドン製剤中の塩酸オキシコドンの定量〔衛生試報 93, 92 (1975)〕

7) 麻薬および習慣性薬物に関する研究

i) 幻覚剤に関する研究 (第 9 報) トリプタミン系化合物の分析〔衛生試報 93, 95 (1975)〕

8) あへんおよびケシ属植物に関する研究

i) ケシの直接抽出に関する研究 (第 2 報) 数地域における生育の特性について〔衛生試報 93, 77 (1975)〕

生物化学部

部長 川村次良

業務成績

1) 国家検定 インシュリン製剤 83 件および脳下垂体制剤など 61 件について検定を行なったが、いずれも合格品であった。なお、脳下垂体後葉製剤関係の件数が昨年比べて約 2 倍に急増しているのは、塩酸プロカインを 3% 含むフェリプレシン注射液の検定件数が増加しているためである。

2) 特別審査試験 ホルモン製剤, 合成ペプチド製剤など 9 件, 麻酔剤 2 件および酵素製剤 1 件について審査した。その内容は昨年と同様臓器製剤について再検討を加えたものや合成ポリペプチド製剤およびコルチコイド製剤が多く, その活性試験に用いる bioassay は, 長時間にわたって検定するものや特殊技術を必要とするものが日立っている。

3) 一斉収去試験 日局トルブタミド錠 10 件について定量試験を行なったが, 特に問題はなかった。

4) 依頼試験 塩酸チアミン標準液 1 件

5) 標準品製造 昭和 50 年度の標準品製造品目お

よびその出納状況などについては, 巻末の表を参照されたい。なお, 現在日本薬局方標準品を主体にその製造を考えているが, ビタミン A 油標準品などの国立衛生試験所標準品を整理することおよびウロキナーゼ製剤やカリクレイン製剤など単位を決定する必要がある標準品の製造について検討しなければならないと考えている。

6) その他 第九改正日本薬局方の一般試験法などについて検討を行なった。

研究業務

1) 生体内活性物質の作用機序に関する研究

ニューロフィジン (Nph) のオキシトシン, パソプレニンに対する結合部位および結合様式を検索するため, 下垂体から抽出精製した Nph I および Nph II の光酸化的および化学的修飾によるホルモンの結合能への影響を調べ, チロジン残基がホルモン結合において重要な役割を演じていることを明らかにした。(→学会発表 70, 誌上発表 5, 83)

2) ステロイド代謝酵素に関する研究

ステロイドと酵素などの生体高分子との作用様態を明らかにする研究の一環として, *Streptomyces hydrogenuans* 由来の結晶酵素である 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase と各種ステロイドとの相互作用のあり方を検討した。すなわち, 30 種余りの 20-ケトステロイドについて基質特異性, 反応速度定数, 各種条件下における平衡恒数などを測定した結果, 酵素の結合部位および触媒部位との相互作用に果すステロイド骨格上の各部位の役割や作用様式などを推定することができた。(→学会発表 68, 69)

3) 医薬品の溶出速度に関する研究 (原子力研究費)

前年度に引き続き, ジゴキシン錠を投与したときの血中濃度を定量する方法として, radioimmunoassay を用いない immunoassay を開発するため, ハプテンを酵素で標識する方法を検討した。すなわち, ジゴキシン抗体の調製, ジゴキシン-酵素結合体の調製および酵素標識ジゴキシンの抗血清との反応性の検討を行なった。

4) ヘパリンの比較生化学的研究

日局ヘパリンの条文に規定することが要望されている起原の異なるヘパリン製剤の確認試験を N-アセチル-D-グルコサミンに着目したガスクロマトグラフ法によって検討し, その成案を得た。

5) 標準品の品質規格に関する研究

ステロイド, 強心配糖体およびインシュリン標準品などの単位や示性値を決定し, これらの定量法の検討および高速液体クロマトグラフ法などによる不純物質

の検討を行なった。〔一学会発表 17, 20, 誌上発表 26, 衛生試報 94 56, 88~106 (1976)〕

6) ステロイド含有軟膏剤の分析化学的研究 (特別研究)

ステロイド含有軟膏剤の定量法を作成するため、軟膏基剤および添加物などの定量妨害物質の分離除去法を溶媒抽出や高速液体クロマトグラフ法によって検討し、薄層クロマトグラフ法を併用する高速液体クロマトグラフ法によって大部分の軟膏剤中のコルチコイドの分離定量が可能となった。(一学会発表 18, 19, 誌上発表 27, 28)

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

下記の品目について、必要な化学試験と書類の審査を行なった。

RAST キット (アイソトープユニット, レファレンスユニット, アレルゲンディスク g3, アレルゲンディスク g8, アレルゲンディスク t3), レニンリアキット, フィテート

2) 放射性医薬品基準の全面改正

薬局方の改正に伴ない基準の全面改正作業が始まり現在も継続中である。これについて必要な検討を行なった。(一誌上発表 20)

研究業績

1) 2, 5 Dimethoxy-4-methylamphetamine (DOM, STP) の代謝に関する研究

DOM の radioimmunoassay による生体試料中の DOM 濃度測定において問題となる抗 DOM 抗体と DOM の代謝物との相互の交叉反応について検討を行なうため、DOM の尿中代謝物の検索を行なった。

^3H -DOM を皮下注射すると 24 時間でウサギでは投与量の 64%, モルモットでは 69% の放射能が排泄された。尿中代謝物の検討を行なった結果、1-(2, 5-dimethoxy-4-hydroxymethylphenyl)-2-aminopropane, 1-(2, 5-dimethoxy-4-carboxyphenyl)-2-aminopropane, 1-(2, 5-dimethoxy-4-methylphenyl)-2-propanone, 1-(2, 5-dimethoxy-4-methylphenyl)-2-propanol の 4 種の代謝物を確認した。なお尿中主代謝物は 1-(2, 5-dimethoxy-4-carboxyphenyl)-2-aminopropane であり、ウサギでは 24 時間尿中排泄量の 81%, モルモットでは 72% であった。

本研究は原子力研究費により行なった。(一学会発表 95)

2) キノホルム亜鉛キレートのウサギ体内分布について

^{14}C -キノホルム, ^{65}Zn -塩化亜鉛, 両者のキレートの 3 種類の試料をウサギに皮下投与して、神経組織への分布をしらべた。(一誌上発表 6, 53)

本研究は厚生省特定疾患スモン調査研究班の研究費によった。

3) ^3H -Dihydromorphine の合成

諸組織中の微量モルヒネの定量, 分布および依存性発現機構を解明する目的から放射性標識物の作成を試みた。トリチウム化には Wilzbach 法, microwave 法, 接触法および接触還元法などがあるが、比放射能が高く、導入位置も明らかな接触還元法により、 ^3H -dihydromorphine を合成した。

装置は WH 型接触還元装置を使用し、塩酸モルヒネ 600 mg, 触媒としてコロイドパラジウム 12 mg を使用し、トリチウムガス 2 Ci で約 3 時間接触還元したのも触媒を濾過し、中性活性アルミナカラムでメタノールを溶媒として精製したのち、TLC により純度を確認した。収量は 230 mg, 比放射能は 97.47 mCi/mole であった。

4) ^{14}C -イソシアヌル酸の吸収と排泄について

イソシアヌル酸およびその塩素誘導体は、プールの塩素安定剤、消毒用塩素剤としてそれぞれ利用されている。今回ラットへの経口投与による吸収、代謝の実験を行った。すなわち 2, 4, 6- ^{14}C -Isocyanuric acid を 1 回強制経口投与し経時的にその体内分布を見た。投与量に対する臓器等の ^{14}C 濃度は血液、肝臓、腎臓に集中して高く、投与後 30 分前後で最高値を示した。6 時間後においては特異的に高い値を示す臓器は認められず、投与量の 90% が尿中に排泄された。その主なる代謝物は未変化のイソシアヌル酸であることを薄層ラジオクロマトにより推定した。糞および呼気にはほとんど検出されなかった。以上よりイソシアヌル酸は投与後速やかに胃、小腸上部より吸収され血液中に入り、肝臓を経て腎臓に至り、非常に短時間のうちにその大部分がほとんど分解されることなく尿中に排泄されることを知った。(学会発表-98)

5) メチル水銀クロライドのラットによる分布排泄および四塩化炭素の分布排泄

^{203}Hg - CH_3HgCl 溶液をラットに 22 日間連続経口投与して分布、排泄などをしらべた。投与量は CH_3HgCl として 0.01 mg, 0.1 mg, 1.0 mg/kg の 3 段階を用いた。体内蓄積は投与量の多い方が比率もいくらかい

高かった。注目すべき所見としては甲状腺にかなり高濃度がみられたことと、投与後の全身における生物学的半減期が投与量の多い方がいくらか長くなるというような結果が得られた。

四塩化炭素については、 $^{14}\text{C}-\text{CCl}_4$ を用い、前号に報告した結果の補充的な実験を行なった。本研究は科学技術庁の特調研究費によった。

6) カドミウムのマウスにおける体内推移および体内残留の動物種差について

2段階の塩化カドミウムを含む $^{115\text{m}}\text{CdCl}_2$ 溶液をマウスに 30 日間連日経口投与すると、投与中止後 3 日間は急速な体内残留率の低下がみられたが、それ以後は低用量、高用量の両群とも、用量の高低にあまり関係なくほぼ同程度の緩慢な体内残留率の低下を示した。

低用量のマウスについては投与中止後 4 日目および 15 日目に肝と腎の放射能濃度を測定した結果、カドミウムは肝に多くとりこまれ、次第に腎に移動し、それよりもおそい速度で腎から排泄されてゆくことがみられた。

$^{115\text{m}}\text{CdCl}_2$ 溶液をマウス、モルモット、ウサギに腹腔内 1 回投与し、全身における生物学的半減期を測定した結果、マウスで約 240 日、モルモットで約 340 日、ウサギで約 120 日という値が得られた。これら 3 種の動物間でかなり大きい種差が認められた。

前記のウサギについて、連続的に採血して $^{115\text{m}}\text{Cd}$ の血液中の消長をしらべた結果、血中濃度は投与 2 時間後以前にピークに達し、その後急速に低下して 24 時間後に最低値を示し、再び上昇して 4 日後にピークに達し、以後はきわめて徐々に低下するということが認められた。すなわち血中カドミウム濃度の経時変化に明らかな二相性がみられた。

また投与 15 日後において、血中のカドミウムの大部分が血球内にとりこまれていることが示された。

本研究は昭和 50 年度食品中の微量重金属の安全性に関する研究費により、薬理部と共同で行なった。

7) セレン中毒と貧血の関連について

本年度は、セレン中毒ラットにおける鉄の動態について検討した。すなわち、セレン化合物を連続経口投与し、セレン中毒症状を示したラットについて実験を行った。

その結果、Hb 量の低下などにより低色素性貧血であることを示し、骨髄においては赤芽球の増加および赤血球数の激減を認めた。

血清については総鉄結合能、不飽和鉄結合能の増加を認め、また赤血球における ^{59}Fe の取り込み増加が観察された。

なお尿中ポルフィリン代謝物の排泄増加、 ^{14}C -グリシンのヘムへの取り込み低下などによりヘムの生合成系にも異常をきたしていることを示した。

以上のようにセレン中毒ラットにおける貧血の原因の一つとして鉄の欠乏を認めた。(→学会発表 97)

本研究は原子力研究費によった。

8) 生体内における鉛の結合タンパク質に関する研究

^{210}Pb を静脈内投与したラットの肝臓、腎臓中の細胞分布と結合タンパク質について検討した。(1) 細胞分布…肝臓においてミトコンドリア、ミクロゾーム分画に蓄積性を認め、腎臓では投与 48 時間までミトコンドリア分画に濃縮される傾向を示し、さらに投与 7 日目ではミトコンドリア分画中の ^{210}Pb は著しい減少を示した。(2) 鉛の結合タンパク質…臓器ホモジネートの 105,000 G 可溶性分画中の ^{210}Pb 結合タンパク質は肝臓中では主に 13 万, 9 万, 6.5 万, 1 万の分子量に、そして腎臓では Void volume に圧倒的に多く、他は 9 万, 1 万の分子量に相当する蛋白に結合されていることが推察された。分子量 1 万の ^{210}Pb 結合性タンパク質について、肝臓中での存在率は、経時的に増加の傾向を示さなかったが腎臓中では上昇する傾向が認められた。またこのタンパク質は、イオン交換セフデックスおよびディスク電気泳動から Cd-thionein に類似する挙動を示した。(→学会発表 71)

9) 環境試料中の天然放射性核種の分析に関する研究

前年度に引続き、食品中の ^{226}Ra および ^{210}Pb の定量を行なった(→学会発表 13, 14)。また衛生上の見地から、水道水、井水、温泉水中の ^{226}Ra および ^{228}Ra の定量を行なった。本研究は放射能調査研究費によって行なった。

10) 微量放射性ヨウ素の分析法に関する研究

原子炉施設周辺における環境放射線量の低減化にともない、食品中の微量放射性ヨウ素 131 の分析法の改良が必要とされている。本年度は牛乳中に stable ヨウ素を加え、その化学回収率から微量放射性ヨウ素の分析法を検討した。〔衛生試報 94, 59 (1976)〕

生 薬 部

部長名取信策

概要 昭和 48 年以來の欠員の補充がようやく行われ、第 1 室に神田博史技官が発令された。米国 NIH へ出張中だった義平第 2 室長が 11 月に帰国した。

業務成績

1) 一斉取締試験：市場生薬の品質向上を計るためには輸入生薬の実態を捕捉することが効果的と考えられるが、本年度は昭和48年度と同様に輸入時に収去を行った「カンゾウ」23件、「クジン」4件、「サイコ」9件、「サンキライ」4件、「ジャクヤク」5件、「ソウジュツ」5件、「ダイオウ」18件、「ビャクジュツ」9件、「ボタンピ」7件、「マオウ」10件、計94検体について局方適否試験を行った。10品目中不適品があったものは2品目である。「クジン」は4件中3件が不適で、いずれも灰分過多が不適理由であり、調製不良の低品質のものであった。「ジャクヤク」は3件が不適で、いずれも灰分過多が不適理由であるが、これらは中国産の赤芍に属するもので、赤芍は本質的に灰分が多く、これを局方の「ジャクヤク」と同等に扱えるかどうか、今後の局方の規格に問題を残している。

2) 特別審査 従来通り製剤に配合された生薬の試験を中心に審査を行った。

3) 本年度は特行試験等は該当品目がなかった。

研究業績

1) 生薬・生薬製剤の規格・試験法の研究：本年度は局方改正の最終年度であったので、これに必要な紫胡、朮、大黃、麻黃、苦參、芍薬等について研究を行い、また局方収載の生薬の基原植物、常用量等について調査研究を行った。

2) 東洋薬物の基原・形態・利用等に関する研究：1974年10～11月、佐竹技官がタイ薬用資源研究計画の専門家としてタイ国へ出張した際の標本について研究を進めリストを作成した。(→誌上発表97)

3) 主要薬用植物の原種純系の研究：オウレン、センキュウ、ジャクヤク等の約培養について研究継続中である。

4) 医薬資源植物調査：静岡県南伊豆町において調査を行った。

5) 医薬の利用を目標とした植物成分の分離・構造に関する研究：従来の研究を継続。

6) 栽培薬用植物の資源的評価・成分分析：栽培試験場の研究に協力した。

7) 天然有害物質の化学的研究(文部省および厚生省がん特研、文部省試験研究費による)(衛生微生物部、東大医科研等との共同研究)

i) マイコトキシンの化学的研究：*Chaetomium globosum*より分離された新しい cytochalasin である chaetoglobosin A の立体構造が X 線解析で明らかにされ、これに従って chaetoglobosin B, D の構造も決定され、C, E, F の構造も推定された(→学

会発表8, 誌上発表10, 11)。一方、肝、心の傷害をおこす *Aspergillus candidus* の toxin B (xanthoascidin) の構造を決定し、toxin A, B の分布を検索した(→学会発表9, 132, 誌上発表12, 103)。これらの毒性についてはさらに研究が行われている(→誌上発表61)。

ii) ワラビの発がん性物質の研究：地上部および根茎部からえた 1-indanone 誘導体の化学を続け(→学会発表130)、これらの細胞毒性、癌原性を検討したが(→学会発表131, 誌上発表60)、発がん性物質の本態は明らかでない。各種の材料、抽出法等の比較、変異原性の試験等の導入も行いさらに研究継続中である。

療 品 部

部長大場琢磨

概要 療品部には療品室、家庭用品第一室及び同第二室ならびに理化学試験室の4室があり、所員は併任も含めて15名と定員外職員6名とがこれに従事している。

医療用塩化ビニル樹脂から溶出するフタル酸エステルについては47～49年度にわたって協同研究を行なったので、その成果をまとめ総説として本誌93号に掲載した。これまでの研究結果としては、溶出する量と各種生物学的データから一応安全であると判断されるものであった。

昭和49年度から3年計画で始まった科学技術庁の特別研究促進調整費による人工臓器の生体適合性に関するプロジェクト研究は、第2年度を迎え、人工臓器材料研究班として、当部、薬理部、薬品病理部、衛生微生物部及び東京医科歯科大学医用材料研究所、筑波大学、工業技術院繊維高分子材料研究所、同大阪工業技術試験所が、医療用高分子材料の安全性とその評価方法ならびに改質研究について協同研究を行なった。

衣類中に含まれるホルムアルデヒドの家庭用品規制法実施により、50年度に皮膚科外来患者における被覆部皮膚炎は著るしく減少し、パッチテストによるホルマリン陽性頻度も約半分に低下している。

人事移動としては、50年6月毛利技官が辞任し、東京大学工学部から織部澄男技官が理化学試験室へ採用され、鹿庭正昭技官は家庭用品第1室へ配置換となった。また毒性部の増員分として当部家庭用品第2室に田中しづ子技官が併任として採用された。

業務成績

1) 医療用具の基準作成

「人工腎臓装置基準」は昭和 48 年以来引続いて調査会において審査し、ほぼ全文の草案ができたが、現在細かい手直しを行なっている。「医療用エックス線装置基準」は科学技術庁での審議が行なわれたので、近く告示されるものと思われる。

「心臓ペースメーカ基準」はようやく昭和 51 年 4 月 30 日付官報で告示された。

2) 家庭用品の試験検査

50 年度の試験品目は蛍光染料 4 品目、有機スズ化合物 1 品目の合計 5 品目で、このうち当部では全品目の急性毒性と 4 品目の慢性毒性、経皮発がん試験を担当し、他の各種試験は信州大学など 14 カ所へ、49 年度継続の試験も国立西札幌病院など 7 カ所へ委託した。

分析試験法として新たにディルドリンおよびトリス(1-アジリジニル)ホスフィンオキサイド (APO) について検討し、基準案を作った。(環境衛生局家庭用品対策室へ報告)

3) 一斉取締試験

人工心肺用ディスポーザブルセットを指定品目にあげたが、収去にあたって該当品がなかったとのことで、試験は実施されなかった。

4) 輸出検査

腸線縫合糸の昭和 50 年度の輸出検査件数は 27 件(44,672 ダース)で不適はなかった。

5) 特別行政試験

輸入「コンドーム」1 件(検体数 150 個)について、ラテックス製コンドーム基準にしたがって試験を行ったところ不適であった。

塩化ビニル樹脂製医療用具(人工腎臓血液回路、血液セット、輸血セット)中の残留塩化ビニルモノマーの定量分析を行なったが、軟質塩化ビニルのためすべて検出されなかった。

6) 理化学試験室の依頼測定

所内からの依頼で測定した質量スペクトルは約 250 件、核磁気共鳴スペクトルは約 100 件であった。

研究業務

1) 人工臓器材料の生体組織に及ぼす影響

科学技術庁の特別研究促進調整費による人工臓器の生体適合性に関する研究は第 2 年度をむかえた。研究内容は PVC 製人工腎臓用血液回路に人血漿を灌流させたとき、溶出する DEHP の溶出量の定量、さらに DEHP の溶出の少ない血液回路の検討であり、かなりの成果をえた。51 年度は疎水性ポリマーおよび親水性ポリマー等について検討を実施する予定である(学会発表 51, 科学技術庁, 厚生省に報告)

2) 医療用不織布の放射線利用に関する研究

セルロース系, ポリオレフィン系, ポリエステル系, ポリビニルアルコール系の繊維について, 1~10 Mrad の範囲で線量を変化させて照射後の物理・化学的試験を行ったところ, セルロース系及びポリオレフィン系の一部は, 医療用として適用の可能性が見いだされた。無菌試験は, 衛生微生物部で行ったところ, 2.5 Mrad の照射で充分であった。(原子力研究, 衛生微生物部と共同)

3) 衣類中に含まれるホルムアルデヒドの移染に関する研究

販売店内あるいは倉庫内等の流通段階でホルムアルデヒドの移染の可能性についての問題が提起されたため, 実際の店頭での移染調査を行った。その結果, 袋入りにすればその問題はないことが立証された。

〔衛生試報 94 69 (1976)〕

4) 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究 防虫加工剤ディルドリンの分析法を検討し, 多くの市販羊毛製品について調査した。(衛生化学投稿中)

また実際の製品から人体への移行を知るために, ディルドリンの製品から人汗および唾液への溶出ならびに空気中への発散について実験し興味ある知見をえた。(学会発表 54)

他の防虫加工剤ミチン FF, ミチン LA, オイラン U-33 の分析法についても検討中である。

リン系防炎加工剤 APO の遊離分についての分析法を確立した。また種々のリン系反応型防炎剤で加工した布の鑑別法について研究し, APO については新しい方法を開発した。

有機スズ系衛生加工剤の系統分析法について検討し, 良好な結果がえられた。

5) 家庭用品に含まれる化学物質の生物学的研究

i) 急性毒性試験

50 年度の新規品目蛍光染料 FBA 25, FBA 90, FBA 225, FBA 260 および有機スズ化合物 TPTA のマウスでの経口急性毒性を検索した。(厚生省へ報告)

ii) 経皮慢性毒性・発ガン性試験

PCP, ミチン FF, レーキレド, フタロシアニンブルー, ジブチルスズジラウレート, ポリアミド有機酸塩, ホワイトテックス BB, ミカホワイト AT, ジアルキルジメチルアンモニウムクロライドの 9 品目は 1 年目を 51 年 3 月に経過した。(厚生省へ報告)

また赤色素 105, 106 号については, 50 年 12 月に終了し, 現在病理組織学的検索を行なっている。

iii) 経口慢性毒性試験

ミチン FF については, マウスでの 18 カ月飼育を 50 年 8 月に終了し, 現在病理組織学的検索を行なっている。

いる。

ホルマリン水については、ラットでの2年飼育の飲水試験を50年10月に終了し、これも病理検索中であり、さらに無作用量検討のため投与量を下げた追加試験を継続している。

またフタル酸エステル DEHP、DBP およびアジピン酸エステル DOA の18カ月の飼育を51年2月に終了し、現在病理組織学的検索を行なっている。なお DEHP は無作用量の検討のため追加試験を行なっている。(厚生省へ報告)

6) 質量分析法における検出感度の向上に関する研究

マススペクトル・コンピュータシステムでは各種スリットの開口率をあげることができ、また磁場掃引速度を大にしパタン係数の情報をより正確なものとすることができ、(→学会発表 10) スリット開口率をあげることにより検出感度の向上をはかることもできた。

(→学会発表 11)

検出感度を向上させる新たな研究手段として、ピーク面積法により、そのソフトウェアを考案、実験して効果のあることを知った。(→学会発表 12)

7) ^{13}C -核磁気共鳴スペクトルの化学シフト図表化に関する研究

^{13}C -NMR に関する化学シフトの図表化について、ここ数年来他機関に所属する共同研究者とともに一次データの収集、その信頼性の検討を行なったりうえで官能基とその近接原子(団)を分類整理して報告を続けている。(→誌上発表 13~17)

8) 塩化ビニル樹脂中の塩化ビニルモノマー (VCM) の微量分析法の研究

溶液法をガスクロマトグラフィ用試料とするとき、妨害ピークが多く測定に長時間を要する欠点があるので、ヘッドスペース分析法に関する理論的考察を行ない、それにもとづいて、塩化ビニル樹脂からの VCM の放出、溶媒への溶出などにつき研究を行なった。

(→学会発表 63, 64)

環境衛生化学部

部長 井上 哲男

前部長 外村 正治

概要 木嶋主任研究官が米国南カリフォルニア大学へ昭和50年1月から1カ年間の予定で留学した。

業務成績

1) 一斉取締試験

クリームおよび乳液類(輸入品)中のタール色素の

定性試験を135検体について行なった。うち29検体が不適であったが、不適の理由はすべて申請時の処方と相異なるものであった。

2) 特別行政試験

i) 輸入化粧品6件について、タール色素の定性試験を行なった。その内訳はヘアセット(整髪料)2件、クレンジャー(洗顔料)2件、ナイトクリーム(油性クリーム)2件である。

ii) 国立衛生試験所排水管理調査 当所は水質汚濁防止法による特定施設として、昭和50年12月1日から適用されることにともなって、前年度から引続き生物系、化学系研究施設の各集合排水2地点の採水を毎月1回調査している。各排水をとり生活環境項目12、健康項目8計20項目について、延21件の試料について分析を行ない、排水管理の万全を期している。

また、生物系排水における浄化槽の浄化率の向上と水質の安定性をはかるため、廃棄物処理実行委員会と協力し、排水の24時間調査2回8件、半日変動調査6回20件、底質試験1回3件、凝集剤の浄水効果試験4件等について調査研究を行ない、これらを基礎として迂流式貯水槽を設計し、51年1月同施設は完成した。その後、生物系排水については都条例排水基準を満足する好結果が得られている。(総務部会計課へ報告)

iii) 皇居外苑濠水調査 富栄養化現象の進行している本濠水の災害時における水利用対策と環境保全のための水質浄化方法を確立するため、年4回四季別調査を行ない、濠水11地点延44件について各20項目の水質分析を行った。また、濠水の栄養収支について窒素、りんを中心として地下水3地点延10件、雨水5件について研究を行ない、濠水における栄養サイクルを明らかにした。(薬務局を経て環境庁自然保護局に報告)

iv) 国立東京病院給水施設調査 同病院は地下水を自家給水施設によって専用水道として利用しているが、赤水に悩むその改善方法について、その対策の検討を依頼された。2回の現地調査と水道分析結果より、その原因が重炭酸マンガンであることを確認し、結果にもとづいて浄水方法を指導し、病院用水の確保に万全を期した。(国立東京病院へ報告)

v) 厚生省庁舎水道水調査 ビル管理法にもとづく庁舎給水施設の定期検査として、昭和49年度から実施している。本調査では、地下受水槽、高架タンク、給水栓等11検体について水道法にもとづく24項目の成分分析を行ない、庁舎用水の安全確保に資した。(厚生省会計課へ報告)

vi) 水道水質基準策定にともなう水質調査 水道法

改定の基礎資料を得るため、全国水道水中のセレン含有量実態調査に協力し、神奈川県下水道水源に用いられている河川水中のセレン分析6件を実施した。(水道環境部へ報告)

3) 調査業務

i) 国設自動車排出ガス測定所における大気汚染の常時測定 前年度に引き続き東京都内3カ所の測定所(霞ヶ関, 板橋, 新宿御苑)において, 各種自動計測器による大気汚染の常時測定を実施した。この成果は, 大気環境基準設定の基礎資料として活用され, また自動車排出ガスによる汚染状況の把握ならびに自動車排出ガスの規制対策上の貴重な資料となっている。

[環境庁大気保全局へ報告, 衛生試報 94 142 (1976)]

研究業績

1) 環境空気の衛生化学的研究

i) 空気に含まれるガス状および粒子状物質の微量分析方法に関する研究。

① 大気中に含まれる微量アクロレインの吸光光度法による分析法を確立した。[→学会発表 57, 衛生試報 94 138 (1976)]

② オキシダント自動計測器のオゾンによる動的校正方法を確立した。この成果は日本工業規格「大気中のオキシダント自動計測器—JISB 7957~1976」に採用されている。

③ 大気中の NO_2 を連続測定するために, わが国で広く使用されている間欠式の自動計測器と米国で使用されている連続式の自動計測器について, NO_2 測定値に及ぼす O_3 の影響と O_3 濃度に及ぼす諸因について検討した。[衛生試報 94 23 (1976), →学会発表 56]

ii) 室内空気の衛生管理基準の設定に関する研究

密閉構造建築物内における空気イオン及び汚染物質調査を行ない, 建築物における衛生的環境の管理基準を設定するための基礎資料を作成した。(→学会発表 58)

2) 化粧品の分析化学的研究

i) パーマネントウェーブ用剤の試験法に関する研究

製品内容の変遷にともなう基準改正のための試験法および基準の検討を行ない, コールドパーマ液中のチオグリコール酸の定量法を確立した。(日本薬学会衛生化学調査委員会へ報告)。

ii) 化粧品中のホルムアルデヒドの試験法に関する研究

アイライナー製品等のホルムアルデヒドの試験法について研究した。(厚生省薬務局監視指導課へ資料提

出, 厚生科学研究)。

iii) 化粧品原料の試験法に関する試験。

化粧品原料基準に追加が予想される原料の試験法および基準の検討を行なった。(厚生省薬務局審査課へ資料提出)。

iv) 化粧品中の特殊成分等について高速液体クロマトグラフィーによる分析法の研究

① 化粧品および化粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析 (第5報) 防腐剤・殺菌剤の分析法 (→学会発表 46)

② 同上 (第6報) ビタミン類の分析法の検討 (→学会発表 47)

③ 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品用色素の分析 (第1報) 水溶性色素の分析条件 (→学会発表 48)

④ 同上 (第2報) キサンテン系色素の分離 (→学会発表 49)

⑤ 同上 (第3報) カチオン交換樹脂を用いるキサンテン系色素の溶出挙動について, (→学会発表 50)

v) 化粧品中のメタノールのガスクロマトグラフィーによる定量法 (日本薬学会公衆衛生協議会へ提案)

3) 水道水質基準の設定に関する研究

i) 水道水の標準分析法の開発に関する研究

水道水質基準の改定又は追加のため, 昭和 47 年度より継続研究を実施しているもので, 東大薬学部ほか7薬系大学と共同して研究を進めている。本年度はメチレンブルー活性物質, フェノール類, シアン等について分析方法を研究した。(厚生省水質試験検査費, 水道環境部へ報告, →学会発表 60)

ii) 塩化ビニルモノマーの衛生化学的研究 水道水に直接接触する水道用品の安全評価の一環として, 給水用塩化ビニル管よりモノマー体の溶出試験方法, 分析方法およびモノマー体と遊離残留塩素との反応生成物について研究した。(厚生省水質試験検査費, 水道環境部へ報告, →学会発表 61)

iii) セレン関連化合物の衛生化学的研究

水道水の安全確保のため, 本研究は昭和 45 年より継続的に研究を行ない, 分析方法, 毒性実験, 生体運命および代謝についての研究成果について総合的な検討を加え, 水質基準策定のための資料を完成した。(水道環境部へ報告, →学会発表 62)

4) 水利用ならびに排水に関する研究

i) 陸水の浄化に関する研究

皇居外苑澁水の浄化ならびに災害時の澁水利用方法を検討するため, 水中の窒素, りん化合物の季節的消

長と生物相への取込みと遼水中の栄養塩類の収支に関し、地下水、雨水などの由来について研究を行なった。

(業務局一環境庁自然保護局へ報告、一学会発表 59)

5) 有害性金属の衛生化学的研究

i) 有害性金属の生体運命に関する研究

水道水中の微量重金属の生体系における作用機構の研究として前年度に引続き、長期間カドミウム連続経口投与時におけるカルシウムの収支バランスを把握するため、カドミウムのカルシウム代謝に及ぼす影響について研究した。(厚生省水道環境部へ報告, Toxicol. Appl. Pharmacol. 投稿中)

ii) 生活環境における化学的発がん因子に関する研究

重金属の毒性評価の一環として、クロム、ヒ素、マンガ、モリブデン、ベリリウム、バナジウムなどの金属化合物についてヒト末梢血リンパ球の染色体異常の発生と微生物を用いた突然変異誘発作用について、前年度に引続いて研究を行なった。(厚生省がん特別研究、一学会発表 96)

食 品 部

部 長 内 山 充

概要 輸入かんきつ類の不許可添加物に関する行政試験と共に始まった年度であったが、関係機関の協力を得て、この問題は年度半ばでほぼ終息をみた。又、輸入食品中の化学成分が、天然由来か添加されたものかについての議論も多かった。

食品汚染物および変質物に関しては、農薬、マイコトキシン、食品照射、食品害虫など従来から継続された対象に、フタル酸、重油成分、重金属の化学形、生体脂質過酸化などの問題が加わった。そのいくつかは全国規模の実態調査、あるいは数機関との共同実験を組んだが、それぞれ所期の成果を収め得た。

天野立爾第三室長が、9月西独クルンパッハ市の国立食肉研究所へ1カ年の予定で出張した。

業務成績

輸入食品検査：かんきつ類のオルトフェニルフェノール、サイアベンダゾールが大部分を占めたが、その他チーズやナッツ中のソルビン酸、チョコレート、キャビア中の安息香酸、しょうがのスルファミン酸など化学検査検体総数 165, うち不可 30 であった。異物検査は5件で、うちハチミツ2件が不可であった。

特行試験：食品残留農薬実態調査は、いちじく、うづら豆、くり、伊予柑、はっさく、れんこん、すもも

について、生産地並びに市場より送付された 90 検体を対象として行なった。

特殊調製粉乳 10 件につき、重金属等の化学検査と異物検査を行なった。

研究業績

1) 食品中の残留農薬分析に関する研究

新農薬の分析法の開発、未検討食品についての残留農薬分析法の確立等に関する以下の研究を行なった。

i) 有機りん系農薬の分析 多数の有機りん系農薬を同時に分析するための抽出と分離法の開発、各種有機りん剤の溶媒間分配率の測定、活性炭カラムからの回収率の検討、および FPD ガスクロマトグラフ条件と感度との関係の詳細な検討。〔衛生試報 94, 14 (1976)〕(一学会発表 22, 誌上发表 32, 33)

ii) ジチオカルバメート系農薬の分析 二硫化炭素とエチレンジアミンに分解して定量する方法を改良した。(一誌上发表 31)

iii) チオファネート剤の分析 チオファネートメチルを、ベンズイミダゾール代謝物に変換して分析する方法の改良を行なった。〔衛生試報 94, 9 (1976)〕

2) 農薬の代謝に関する研究

各種農薬の、動物、植物、微生物による代謝に関連して次のような研究成果を得た。

i) N-メチルカルバメート系殺虫剤の微生物変換 BPMC の糸状菌による代謝における種特異性や経時変化について検討した。

ii) アルコキシエチル水銀のマウス体内動態 長期投与によるマウス体内分布、代謝、排泄および蓄積水銀の化合物形の検討などを行なった。(一誌上发表 65, 66)

iii) 植物体内におけるパラチオンの光還元 パラチオンからアミノパラチオンへの還元が、光合成とカップルしてクロロプラスト中で起る機構を解明した。(一誌上发表 73)

3) 農薬及びその代謝物の生理活性

農薬の生体影響の研究の一環として行なった研究には次のようなものがある。

i) N-メチルカルバメート系農薬のニトロソ体の変異原性 国内で使用されている8種の殺虫剤からニトロソ体を作り微生物法で試験したところ強い変異原性を示し、構造活性相関にも興味ある結果を得た。(衛生微生物部と共同、一誌上发表 64)

ii) BPMC 代謝物の抗 ChE 作用 カルバモイル基を保持している代謝物7種は、いずれも原体より酵素阻害力は低下していた。(一誌上发表 30)

iii) パラチオンによる光合成阻害 ホウレンソウのクロロプラストにおける光合成をパラチオンが阻害す

る機構を解明した。(→誌上発表 67)

iv) 農薬による薬物代謝阻害 有機チオりん酸系殺虫剤にひきつづき、ピペロニルブトキシイドの薬物代謝阻害の機構を明らかにし、二相性を証明した。(→学会発表 29)

4) 食品中の人工汚染物に関する研究

環境汚染等を介して食品が人工化学合成物質により汚染される実態を明らかにし、食品衛生上の防止策を検討するための基礎研究である。

i) PCT の生体内動態 PCT 長期投与マウスの体内蓄積分布を臓器別に検討した。(毒性部と共同、→誌上発表 63)

ii) 食品中のフタル酸エステルに関する研究 一般食品に適用できるフタル酸エステル類の分析法を確立し、さらに市販食品中の汚染実態の解明を行ない、食品別の特徴やフタル酸エステルの構造による分布上の特色などを明らかにした。(環境衛生局へ報告、→誌上発表 42, 学会発表 23, 26)

iii) 食品の重油汚染に関する研究 重油による食品汚染の化学指標として、*n*-パラフィン、イソパラフィン、含イオウ化合物、ベンゾ(a)ピレンの分析法を開発した。それを用いて食品及び人脂中の石油系炭化水素を分析した。(厚生科学研究、→学会発表 30, 35)

iv) 魚介類中のクロロジベンゾジオキシンに関する研究 テトラクロロ、オクタクロロジベンゾジオキシンの分析法を研究した。(→誌上発表 29, 34)

5) 食品中の重金属の化学形態に関する研究

重金属安全性評価の基礎とするため、カドミウムの米および大豆中の存在化学形を検討し、同時に重金属の溶脱法なども検討した。(環境衛生局へ報告、→学会発表 33, 34)

6) 食品中の天然汚染に関する研究

かび毒およびコナダニについての衛生化学的研究であって、かび毒の化学分析法の改良や開発と、それを利用した調査研究、ならびにダニの防除やかびとの生態学的関連性の研究などが行なわれている。

i) 穀類中のマイコトキシンの同時分析法の確立 前年度に取上げた7種に加え、ペニシリン酸、パツリン、ルグロシン、ルテオスカイリンを系統的に分離分析する方法を検討した。(環境衛生局へ報告、→誌上発表40)

ii) 高速液体クロマトグラフィーによるマイコトキシンの分析 ペニシリン酸、パツリン、オクラトキシンA、チトリニン、ステリグマトシスチン、アフラトキシン B₁, B₂, G₁, G₂ につき液クロ分析の条件を検討した結果、前4者は逆相ポリマーで、後5者は正相

シリカゲルで分析に成功した。(厚生省がん研究報告、一学会発表 24, 28, 32, 36)

iii) 食品のかび毒汚染の調査研究 特定疾病多発地域の食品、事故資料、特定食品につき化学分析スクリーニングを行なった。(→誌上発表 41)

iv) コナダニ類に関する食品衛生学的研究 かびによるダニの誘引性および増殖維持について検討すると同時に、ダニによる食品の損耗や汚染を防止するための方法などについて研究した。

7) 食品成分の変質とその分析法

γ線照射による食品成分の変動を追及しつつあるがそれと同時に、食品成分分析法の改良についての基礎実験を行なっている。

i) カマボコの照射殺菌にともなう成分変動 γ線照射によるトリメチルアミノオキシドの変化、核酸関連化合物の分解、それらに対する共存食品成分の影響などを検討した。

ii) 食品成分微量分析法の改良研究 食品中の揮発性アミンの簡易微量分析法として、ダンジル化後 TLC を行ない蛍光濃度計で測定する方法を開発、さらに流動パラフィン等の噴霧による増蛍光現象を発見し、その定量化への応用に成功した。(→学会発表 25, 31)

8) 生体内脂質過酸化に関する研究

生体試料中の過酸化および抗酸化成分の化学的測定法の検討と、年齢別変動について研究した。さらに実験的高過酸化脂質症動物の作製とその性質についての研究を計画中である。(→学会発表 27)

9) 輸入食品の簡易検査法の開発

かんきつ類表皮からオルトフェニルフェノールの簡易限度試験法、およびかんきつ類被膜剤クマロンインデン樹脂の簡易試験法の検討を行なった。(環境衛生局へ報告)

10) 植物性食品成分の生理活性に関する研究

シクロペンテニル脂肪酸の合成、麩、糠、酵母、ササなどの多糖質の調製、並びにそれらの物質の有する酵素阻害や体賦活作用などの解明を行ないつつある。(→誌上発表 68, 69)

食品添加物部

部長 谷村 顕雄

業務成績

1. 製品検査 (昭和50年1月~12月)

食用色素: 検査件数 224, 合格 224, 不合格 0

2. 特行試験

1) 食品添加物標準分析法の作製

昭和49年度作製したサッカリンナトリウムなど8種の添加物分析法については、各都道府県の関係機関で実地に検討がなされている。この検討された結果は集計され、吟味されてから公定法として告示される予定である。昭和50年度はタール色素「許可外を含む」(粉末清涼飲料、酒精、飲料)、サッカリンナトリウム(しょう油、みそ、みそ漬、粕漬)、繊維素グリコール酸ナトリウム(アイスクリーム)、亜硝酸塩(食肉ハムなど5品目)など8種の添加物についての標準法を作製中である。(括弧内は対象食品)

2) 硬化油に混入した熱媒体分析法の作製

マーガリンなどの硬化油に混入されたときの熱媒体、ジフェニル、ジフェニルエーテル系など9系統の種類につき、抽出、分離、濃縮、GLC測定各操作法を設定した。同時にさきに告示された液状食用油中の熱媒体の検出法についても所要の改良を行ない、食用油脂全体に共通し得る如く改善した。

3) 洗剤の残留試験

昭和48年度からの継続実験である、LAS、AOSについては試験法、残留試験とも継続中である。オキシエチレン系洗剤についてはエステル化→GC法を確立し、野菜についての残留量を測定中である。新たにシヨ糖エステル型洗剤、カリ石鹼が追加され、これらの野菜からの定量法を検討中である。

4) 市販食品に含まれる塩化ビニルモノマー(VCM)の実態調査

塩化ビニル樹脂製容器を使用している市販食品約120検体について、容器より移行したVCMの定量分析を行なった結果、最高で0.5ppmの移行を認めた。(→学会発表65)

研究業績

1. 硝酸塩、亜硝酸塩に関する研究

1) 硝酸塩、亜硝酸塩の摂取量調査

野菜、穀類、食肉、魚肉製品、缶詰類などの市販食品、および調理食品など約500種類の食品中における分布を調査した。これらの含量と、食品の摂取量(国民栄養調査成績)から、亜硝酸塩、硝酸塩の摂取量を算出し、ニトロソアミンとの関連性を解析する予定で、現在集計中である。

2) カドミウム還元法による亜硝酸塩、硝酸塩の同時定量法の確立

使用基準のある亜硝酸塩、硝酸塩の同時測定はカドミウム還元法が最も適当している。食肉、魚肉製品について検討し定量法を確立した。この方法は50年度の標準分析法として提案中であり、引き続き他の各種

食品について適用性を検討中である。

2. ニトロソ化合物に関する研究

1) 亜硝酸塩とグアニド化合物との反応について
生体内あるいは食品中で亜硝酸(塩)と反応してニトロソ化合物を生成すると予想されるものの中から、グリコシアミンをえらび、反応速度、反応生成物および反応速度に影響を及ぼす物質について検討を行なった。(→学会発表5, 6, 誌上発表7, 8)

2) 唾液の存在下におけるニトロソ化合物の生成について

多量の硝酸塩を含む食品を摂取した場合、唾液中に高濃度の亜硝酸が検出されるが、この唾液の存在で、ジメチルアミンのニトロソ化がどの程度進行し得るものか、あるいは同時に口内細菌が存在した場合の影響などについて実験を行なった。(→学会発表80, 81, 誌上発表70, 71)

3) N-メチルカーバメイト系農薬と亜硝酸との反応について

常用されているN-メチルカーバメイト系殺虫剤は容易にニトロソ化され、対応するニトロソ化合物を生成するが、これらは生物、微生物に対して強い活性を示すことが予想される。三種の殺虫剤について、それぞれ対応するニトロソ化体を合成し、その構造決定を行なったが、ひき続き生物活性について検討を行なっている。(→学会発表82)

3. 着色料に関する研究

食品に含まれている紅糖色素の分画と定量法について検討した結果、シリカゲル吸着法により単離したのち、けい光法により測定が可能であった。(→誌上発表72) また合成着色料に含まれる有機微量成分に関する研究として、食用赤色3号製造時の条件で生成するトリヨウ素化体について検討を行った。(→学会発表21)

衛生微生物部

部長 倉田 浩

概要

当部の本年度内に実施した業務は、例年と大きく変わることはないが、特に、医療用具に関する微生物的試験、細菌を利用する医薬、食品添加物、化粧品などの変異原性に関する試験研究が、他の関係部門との協力で大幅に発展した。また医薬品の微生物汚染基準の確立のための調査研究、主としてソルビン酸を含めた殺菌保存料の有効性の再検討に関する総合研究が重点的に進められつつある。人事移動に関しては変動はな

かった。

業務成績

1) 国家検定

ブドウ糖, リンゲル, インシュリンなどの注射剤 1,220 件について, 無菌試験を行った。避妊薬の殺精子試験を 48 件実施した。いずれも不合格品はなかった。

2) 一斉取締試験

スルピリン, コカルボキシラーゼ等の注射液 158 件について無菌試験を行ったが, 不合格品はなかった。

3) 輸出検査

腸線縫合糸の微生物的検査は 52 件, うち真菌試験の 1 件が不合格品であった。

4) 輸入食品検査

主として冷凍の家禽類, 全卵, 魚介類などのほか一般の冷凍食品について, また検出菌株の同定依頼など総数 1084 件について試験検定を行ったが, サルモネラ, 大腸菌, および一般細菌を対象とする不合格率は 8.6% であった。全般に検査件数は前年にくらべてやや減少の傾向が認められた。

研究業績

1. 医薬品および化粧品等の微生物汚染の防止に関する研究 (厚生省審査課要望課題)

医薬および化粧品の汚染微生物の限度基準を設定する目的の調査研究で, 継続 3 年目であるが, 本年は, 浣腸剤, 親水性軟膏剤, 含嗽剤, トローチ剤など 5 品目を 50 事業所より計上記 96 件を採取し微生物汚染調査を行ったが, 全般にその汚染は, ほとんどが $10^2/g$ または ml 以下の低率であった。目下特定菌の検出, 同定を実施しつつある。(→厚生省に報告) この調査研究に併行し, 必要な基礎研究課題に抗菌剤の不活化法をとり上げ検討を行っている。

2. 微生物を用いる変異原性の検定に関する研究

農薬, 医薬品, 化粧品などを含めた種々の化学物質の DNA 損傷と突然変異性に関する研究を行っているが, その結果, N-Carboxymethyl-N-nitrosourea が X-Ray 型の DNA 損傷を誘発し, base pair change 型の変異性を示すこと; 3 価および 6 価クロムについては, 前者に高い mutation frequency と rec-effect または染色剤については 80% に陽性結果を認めた。また Streptomycin dependent *E. coli* の reverse mutation の性格及びその応用に関する研究を実施している。(→学会発表 92, 93, 誌上発表 81)

3. 医療用具の微生物試験法に関する研究

ホローファイバー型人工腎臓のエチレンオキサイドガス滅菌法の検討をなるべく多くの指標菌をえらんで実施すると共にその材料である塩ビ, ハイドロン, シ

リコン等の変異原性についても検索が行われた。一方, これらに関連する研究 (科学技術庁原子力予算) として, 放射性同位元素を利用した注射薬等の無菌試験法の検討を, Bactec 301 を用いて行った結果, 好気性細菌類では, 汚染菌数が $1/vial$ 以上の存在では 24 時間静置培養で検出可能であることなどをつきとめた。また真菌類についても同様の検討を行い, 目下最低培養日数の検討を行いつつある。

4. 食品の細菌学的検査法の開発に関する研究

食品中の一般細菌の測定法がまだ十分に研究されていないので, とくに水産食品からの検出細菌について, 最適検出温度条件などの詳細な検討を行い, 検査法の改良点を指摘した。また遅れている食品中の嫌気性菌の検索基準技術の向上を目的に広島, 東北産のかきを用いて比較研究を行いつつある。(→学会発表 140, 141, 誌上発表 111)

5. 細菌性食中毒の生態に関する研究

主としてサルモネラ菌に関する研究を中心に, 次の 3 項目の調査研究を行っている。①輸入食品のサルモネラ汚染に関する調査, とくに抗生物質に対する耐性菌の分布状況の解明, ②わが国における食肉等のサルモネラ汚染の実態について文献的な調査, ③その各種動物の起病性に関する実験的研究を行っている。

6. 食品の安全性に関する衛生細菌学的研究

(1) 食品添加物の使用基準の再点検

厚生省食品化学課よりの要望研究課題で, 昨年に引き続き, 本年度の当部の担当は, ソルビン酸, 同カルウム, 過酸化水素などの保存料のつくだ煮, めん類, ジャム類等に対する有効性の再検討を行った。(→誌上発表 105, 106, 107)

(2) 腸管内微生物による食品添加物等の代謝に関する研究 (当所特別研究)

サイクラメート投与サル, モルモット等の腸管生棲性の嫌気性菌の種類が CAH 転換性のあることをつきとめ, その細菌学的検索をつづけている。(→誌上発表 77, 78)

(3) 癌原性物質投与動物の腸管内マイクロフローラの動態に関する研究

N-OH-アセチルアミノフローレンとアフラトキシン B₁ 長期投与ラットの腸管微生物の変動パターンを解明し, 特に大腸の腫瘍発生との相関性を究明する目的の研究を聖マリアンヌ医大病理教室と協同研究を行っている。

7. 食品中の有害真菌に関する研究

主としてマイコトキシン産生カビ類の農産物および食品中の分布に関する研究を広範囲に実施している。

現在の主目標は癌原性マイコトキシンおよびトリコテセン系マイコトキシン産生能をもつカビの食品汚染の実態を解明する。本年度は、国内消費、東南アジア原住民の常用食品を含め、さらに米国産トオモロコン、輸入の醸酵ソーセージ(サラミ)などについて調査をつづけた。(厚生省、および文部省がん特別研究、文部省海外学術調査研究および厚生省食品衛生調査等による研究)(→学会発表 134, 135, 136, 137, 誌上発表 101, 102, 104)

8. 医真菌に関する研究

主として、臨床材料、特に皮膚ならびに耳鼻科領域の材料由来の真菌に関して菌学的研究を行っている。

9. 真菌に関する研究

日本産子の菌類の分類を始めとし業務に関連するものとして、輸入生薬由来の真菌類、食品由来のカビ類の同定に必要な基礎的な菌学的研究を行っている。

(→学会発表 138, 139, 誌上発表 109, 110)

薬 理 部

部長 大 森 義 仁

概 要 国家検定件数は、当部の担当する発熱性物質試験の数年間の推移からみて、リンゲル液では昭和47年以降わずかながら毎年減少する傾向がみられ、ブドウ糖注射液についてはほぼ前年同様に従来よりやや多数検体を処理した。

脳波・心電計と各種トランスジューサーならびにコーンターカウンターの購入により、医薬品等による生体生理機能の変動を観察するための薬理研究がさらに充実された。

所内各部との共同研究のほかに、各大学との協力面での拡張もみられ、東京医科歯科大学、筑波大学との血液-凝固研究協力が実現した。

本年1月はじめ、第2室長高仲正技官が、中枢抑制薬の耐性発現機構解明研究の目的で、米ミシシッピ大学メディカルセンターの薬理・毒性学教室に1カ年の予定で留学に出発した。

業務成績

ブドウ糖注射液 376 件、リンゲル液 16 件の発熱性物質試験を行なった。

研究業績

1) 医薬品等の薬理学的研究

i) 医薬品等の相互作用に関する研究

前年度においては、プロゲステゲンによる雌胎児泌尿・生殖器系の分化に際しての男性化作用が、微量の

エストロゲンの併用により増強を受けることを明らかにしたが、本年度は、医薬品の添加物、製剤手技の変更により、薬物の消化管吸収、ならびに薬理作用の発現がどのような影響を受けるかにつき検討を加えた。クロールプロマジンによるラットの中樞抑制と体温下降効果を指標とした実験では、投与錠剤の剤形変更やそれに関連した崩壊時間の増減に伴って消化管吸収の差がみられるとともに本薬の中樞抑制効果も比例して変化することを認めた。(→誌上発表 80)

ii) 医薬品等による血液凝固に及ぼす影響に関する研究

医薬品の各種注射製剤、その添加物や医療用具として使用されるプラスチックならびにその可塑性剤の生体成分との反応に伴う筋拘縮、局所や全身障害の検出と、前臨床段階でのこれら障害を検索する方法を確立し、それを応用して諸種化学物質の安全性を検討する目的で、血液凝固に関連する各種パラメタの変化を指標として研究を行なった。溶解補助剤や局所麻酔剤の添加によって血液凝固や溶血に影響を受け、またプラスチックの溶出物については摘出心の灌流法を用いる方法が極めて鋭敏な手段として利用できるとの知見が得られた。(薬務局依託、科学技術庁委託研究)

iii) 医薬品等による中枢機能障害の検索法に関する研究

医薬品、食品添加物その他の化学物質による中枢障害を機能的に検出する方法として、中枢神経組織の凍結乾燥法を用いる中枢神経アミンの組織化学的簡易検出法を考案し、本法を用いて、有機水銀剤長期連用マウスに於ける中枢神経系のノルエピネフリン、セロトニン等の変化を中毒時の運動障害発現との関連で追及した。また、これらの中樞アミン類の変動が中枢神経系の病理組織学的障害の検出以前に、筋機能、末梢神経伝達能及び条件反射回避能の低下とともに現われ、形態学的障害発現より早期に薬理学的機能変化として把握可能なことを認めた。(→学会発表 90)

iv) 食品添加物ならびに金属等の生体内運命と次世代に及ぼす影響に関する研究

従来、ラットを用いて行ってきた放射性塩化カドミウムをマウス、ウサギ等の他種動物に適用し、生物学的半減期からの種差の検討を行なった。また放射性塩化マンガンを妊娠各期のラットにその胎児移行を検索したがマンガンが比較的容易に胎盤を通過し、一部肝、脳、骨などに移行するが、比較的速やかに減衰することを認めた。同様に放射性ジブチルヒドロキシトルエンを妊娠ラットに与えた実験でも、経口投与した検体の放射能は胎児組織内で母体より2時間ほど遅れて分

布のピークが現われることを認めたが、妊娠期間中におたる検体 0.1~0.3% 含有食餌の投与によって肝肥大が現われる量を用いても胎児ならびに新生児の外形、発達行動に於ける機能的・器質的障害を認めなかった。没食子酸エステル類についても同様な知見が得られた。(→学会発表 91, 環境衛生局委託研究)

v) 化学物質の肝機能障害発現機構に関する生化学薬理的研究

2-アセチルアミノフルオレンを含む各種発がん物質の肝障害発現に際し、肝リソゾームの関与が問題視されて居り、その活性体と考えられる N-水酸化体をラットに連続投与し、発がんに至る以前の早期段階での肝障害発現を、肝の形態変化、肝リソゾーム酵素の *in vivo* と *in vitro* における細胞内局在の変化から観察した。N-ヒドロキシアセチルアミノフルオレンの 0.02~0.03% 含有食餌投与ラットは、1~2週では肝に胆管増殖を現わす程度であるが、4~8週では肝細胞変性と結節状肥大が著明となった。肝のリソゾームを含む分画での Acid DNase, Acid RNase 及び Cathepsin では4週以後に活性低下がみられ、上清分画ではその比活性が対照の倍に増大し、上清対リソゾーム分画の比は3~4であった。このリソゾーム酵素の遊離作用は *in vitro* 実験でも確認され、この変化が肝毒性発現に関与することが示唆された。一方、化学物質による肝障害発現の種差に関する研究として、マウスはラットに比べてオルトアミノアゾトルエンの肝での水酸化活性が高く、しかもその分解が遅いため水酸化体の蓄積が起り易く、またモルモットではラットと異り、アセチルアミノフルオレンの N-水酸化での肝上清分画でのリソゾーム酵素活性の上昇やその他の肝障害を現わさないことを認め、各種化学物質の肝障害発現と酵素活性の局在関連性を示唆した(→学会発表 83, 84)

合成化学研究部で創製されたエチレンビスニトロソ尿素のラット肝機能とくに細胞質および細胞核分画中の核酸やたんぱく質の分解酵素活性の増加は、エチルニトロソ尿素やジエチルニトロソアミンに比べて弱いが流血中白血球減少作用が強いことを認めた。(文部省科学研究費)

毒 性 部

部 長 池 田 良 雄

概要 50年7月に、化学物質、および家庭用品に含まれる諸物質の毒性研究の要員として8名の増員があ

り、そのうち1名が薬品部兼任として家庭用品に含まれる諸物質の研究を、1名は薬品病理部兼任として変異原性の研究を行なうこととなった。

年度末になって安全センター建設のメドがたち、とくに多忙な年度末にもかかわらず、その実施設計製作のための原案作りに部全員が一体となって努力した。

研究業績

1) 医薬品

i) 精神幻覚剤の依存性に関する研究(薬務局行政研究)

ii) 医薬品添加物の毒性に関する研究(薬務局委託研究)

Dimethylacetamide および Benzalkonium chloride について、マウスの長期皮膚塗布による発がん実験を行なったが、結果は陰性であった(→学会発表 116)。また、チオグリコール酸の経皮急性毒性試験を行った(薬務局へ報告)。

iii) 注射剤の安全性に関する研究(薬務局委託研究)
前年度よりの継続研究として、数種の注射剤についてラット大腿四頭筋に注射した場合の局所障害を組織学的に検討した(薬務局へ報告)。

2) 化粧品

タール色素の毒性に関する研究(薬務局委託研究)
化粧品に使用されているタール色素のうち、赤色 201 号, 213 号, 219 号, 221 号, 黄色 204 号, 205 号, および橙色 204 号を対象とし主として経口毒性、1部皮膚適用による毒性の研究を行っている。

3) 照射食品の安全性に関する研究(原子力研究)

i) 照射小麦のラットによる長期毒性試験
ii) 照射小麦のマウスによる世代および催奇形性試験

iii) 照射小麦のマウスによる発がん試験

iv) 照射ウィンナーソーセージのラットによる長期毒性試験

v) 照射ウィンナーソーセージのマウスによる世代および催奇形性試験

vi) 照射ウィンナーソーセージのマウスによる発がん試験

vii) 照射かまぼこのラットによる長期毒性試験

4) 食品添加物(環境衛生局行政研究, 厚生省がん研究)

i) AF-2 の慢性毒性に関する研究

雄マウスに AF-2 の 0.05, 0.15 および 0.45% 含有飼料を 18 カ月投与したところ、かなり高率に、しかも投与量とよい相関のある腫瘍発生が前胃に認められた。(がん研究報告)

ii) 赤色102号のマウスにおける胎仔毒性研究とF₂動物における慢性毒性研究(一部厚生省食品化学課へ報告)

iii) 黄色5号のラットにおける催奇形性試験

iv) 緑色3号のマウスにおける催奇形性試験

v) DABの発がん性に及ぼすDHA-Naの影響に関する研究(自主研究)

5) 家庭用品

i) 中性洗剤の催奇形性に関する研究

ウサギを用い、LASを塗布した場合の催奇形性を検討した。

ii) 柔軟剤の毒性に関する研究

ナトリウムアルキルサルフェートおよびジアルキルスルホ琥珀酸エステル塩のマウスにおける催奇形性を研究した。

6) 既存化学物質

既存化学物質の毒性に関する研究(薬務局行政研究, 委託研究)

ポリ塩化トリフェニール, ポリクロロベンゼン, スチルキシレン, アルキルナフタレン, ドデカクロロドデカヒドロジメタンベンゾジオクテンについて, マウスまたはラットを用いて長期毒性研究を実施している。

7) 高分子凝集剤の毒性に関する研究(環境庁委託研究)

トリニトロプロピオンアミドの0.2, 1.5%添加飼料をラットに3か月投与したところ, 全群に検体投与量とよい相関のある神経症状を認め, 最高用量群において背髄灰白質の神経細胞に変性がみられた。

8) 食品汚染物質

i) サルにおけるメチル水銀の長期毒性研究(環境衛生局委託研究)

メチル水銀の人体耐量設定のための資料とすることを目的として, 46年度から総数25頭のサルを用いて長期毒性研究を行ない, 毛中および血中水銀量の測定から体内水銀蓄積量がほぼ固定化されたと考えられたので52か月目で検体投与を終了した。投与量は0.01~0.3 mg/kg/dayの4段階の量であるが, 高2用量では, 特有の神経症状と大脳の病理組織学的変化を認めたが, 低2用量ではこれらを認めず, きわめて満足すべき結果が得られた(→学会発表 118, 119)

ii) カルシウムの吸収, 分布, 排泄に及ぼすカドミウムの慢性投与の影響(同上)

iii) マレイン酸マンガンの慢性毒性研究(同上)

iv) PCBの慢性毒性研究(環境庁委託研究)

マウスにおけるPCB(KC-400)単独の慢性毒性研

究を前年度より引き続き行くとともに, ラットにおけるメチル水銀の神経毒性に及ぼすPCBの影響についての実験を開始した。

v) 水銀が乳児の健康に及ぼす影響に関する研究
前年度の児童家庭局委託研究の継続である。

vi) 流出油の安全性に関する研究

49年12月岡山県水島の石油流出事故に関連して, 同年度においては流出油についてマウスおよびラットによる急性毒性試験を行なったが, 50年度においてマウスにおける長期毒性研究を開始した。

9) その他

i) 制限食のラットに及ぼす影響 (1)寿命および血清酵素について(→学会発表 120)

ii) 制限食のラットに及ぼす影響 (2)病理所見について(→学会発表 121)

医化学部

部長 山羽 力

概要 本年度当部で行なった業務としては, 行政的要請に基づき合成洗剤, 塩ビ可塑性の代謝に関する研究, 食品添加物の代謝に関する研究, 発がん性物質, 制がん剤の生化学的研究のほか, ビタミンを含む製剤の特別審査試験および一斉取締試験などがあげられる。

人事面では, 50年6月1日嶺岸謙一郎技官が米国ミシガン大学での1年間の留学を終えて帰国した。また50年4月1日付で紅林秀雄技官が採用された。

業務成績

1) 特別審査試験

解熱鎮痛薬2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。解熱鎮痛薬中のビタミンはB₁, B₂, Cなどで, いずれも可であった。

2) 一斉取締試験

注射用コカルボキシラーゼ33件について定量試験を行なった結果, 不適(含量不足)が2件あった。

研究業績

(1) 食品添加物の代謝に関する研究

食品添加物の代謝的および生化学的研究を行なうことにより, その安全性評価に対する基礎データとする。このため発がん性などにより使用禁止になったものも含めて研究対象とした。

i) トリフェニルメタン系食用色素の代謝(厚生省がん研究)

紫1号の発がん性と組織分布との関連性を明らかにする目的で, Sprague-Dawley系とWistar系の雌雄

ラットに本色素を静注後、発がん部位に近い皮膚および耳を中心に色素の分布を比較した。

ii) AF-2 の代謝に関する研究 (環境衛生局行政研究, 一学会発表 72)

動物, 細菌を問わず, AF-2 の代謝の第 1 段階はニトロ基の還元 (異性化反応を含む) であり, その殺菌作用, 変異原性, 発がん性もこの還元によって始まると考えられる。そこでラットの肝ミクロゾーム, 上清ならびに大腸菌抽出液における還元酵素の性状を比較検討し, その異同を明らかにした。

iii) サイクミン酸ナトリウムの代謝に関する研究 (一学会発表 73)

サイクラミン酸ナトリウムは腸管内細菌によってシクロヘキシルアミンに変化するが, これがさらに脱アミノされる機構として, ①腸管内の通性嫌気性菌による酸化的脱アミノ, ②腸管内の嫌気性菌による嫌氣的脱アミノ, ③肝ミクロゾームによる酸化的脱アミノの三通りがある。①に関与するアミノオキシダーゼを精製しその性状を明らかにした。現在②, ③について検討を行なっている。

iv) BHA の代謝に関する研究 (環境衛生局行政研究)

^3H -BHA をラットに経口投与し, 全身オートラジオグラフィによって臓器分布を調べた。さらにその結果をもとに主要臓器内の代謝物の追跡を行なっている。

(2) 合成洗剤の代謝に関する研究 (環境衛生局行政研究)

i) 高級アルコールサルフェートの代謝に関する研究

^{35}S -Octadecyl (stearyl) sulfate をラットに経口投与し, ^{35}S の尿, 糞への排泄, 体内分布ならびに尿中代謝物の同定を行なった。

ii) 各種合成洗剤の赤血球に及ぼす影響

合成洗剤の代謝研究の一環として, 高級アルコールサルフェート (AS), ポリオキシエチレンアルキルエーテル (AE), α -オレフィンスルホネート (AOS), ソフト型アルキルベンゼンスルホネート (LAS), 高級アルコールエーテルサルフェート (AES), ショ糖脂肪酸エステル, ステアリン酸ナトリウムのヒト赤血球に対する溶血作用を比較し, またこれら洗剤の膜透過性, 解糖系に及ぼす影響を検討した。

(3) 塩ビ可塑剤の代謝に関する研究 (環境衛生局行政研究)

i) フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の代謝に関する研究 (一誌上発表 76)

^{14}C -DEHP を合成し, ラットに静注および経口投与し, ^{14}C の吸収, 排泄, 体内分布ならびに尿中代謝物の同定を行なった。

ii) フタル酸ジブチル (DBP) の代謝に関する研究 (一学会発表 74)

^{14}C -DBP を合成し, ラットに静注および経口投与し, ^{14}C の尿, 糞, 胆汁への排泄, 体内分布ならびに尿中代謝物の同定を行なった。

iii) アジピン酸ジエチルヘキシル (DEHA) の代謝に関する研究

^{14}C -DEHA を合成し, ラットによる吸収, 排泄, 代謝の研究を行なっている。

(4) 発がん性物質の生化学的研究 (文部省がん研究)

i) N-ニトロソ尿素誘導体の代謝に関する研究

^{14}C -N-ニトロソプロピル尿素を合成し, ラットによる代謝と全身オートラジオグラフィによる体内分布を検討した。

ii) 内因性発がん物質の研究 (一学会発表 75, 76, 誌上発表 79)

^3H -3-ヒドロキシキスレニンを皮下注射し, 全身オートラジオグラフィによる ^3H の体内分布を調べ, 臓器中の代謝物の同定を行なった。またヒトによるトリプトファン摂取量と尿中へ排泄される発がん性代謝物との相関性を調べた。

(5) 制がん剤の生化学的研究 (文部省がん研究)

合成化学で新たに合成した 1, 1'-エチレンビス (1-ニトロソ尿素) (EBNU) について, 温和な条件での分解とチオール化合物共存時の影響について検討した。また ^{14}C -EBNU を合成し, 核酸, タンパク質への取り込みを調べた。

薬 品 病 理 部

部 長 小 田 嶋 成 和

概 要 薬品部, 食品添加物部, 合成化学研究部と協力し, 厚生省がん研究助成金に依る大型プロジェクトチーム「突然変異原性物質の動物発癌テストに関する研究」班の研究活動の中心として活動すると共に, 下記の研究業務を行った。猶, 9月から12月迄 Dr. Melvin D. Reuber (現, 米国 FDA 勤務) が日米癌研究協力事業に依る研究生として来日, 当部に滞在, 共同研究を行った。

研究業績

1) 実験動物の自然発生腫瘍に関する研究 (厚生省がん特別研究および文部省がん特別研究)

ラット各系 (ACI/N, ドンリュウ, ウイスター, フィッシャー等)を長期間普通食で飼育し,自然発生腫瘍について病理学的検索を行っている。(→誌上発表87)

2) 化学物質の癌原性と標的臓器との相関に関する研究 (文部省がん特別研究)

i) アゾ化合物の癌原性に関する研究

アミノアゾベンゼンのメトキシ誘導体及びボゾンナーの誘導体をラットに投与し,毒性及び癌原性について病理学的な検索を行なった。(→誌上発表 85)

ii) N-ニトロソ化合物の癌原性に関する研究

各種アルキルニトロソ尿素 (メチル, エチル, プロピル, ブチル, ペンチル, イソブチル, メチルアセチル, ジメチルブチル, ジブチル), 各種アルキルニトロソウレタン (メチル, ニチル, プロピル, ブチル, ペンチル) 及び各種ニトロソアミン (ブチルブタノールニトロソアミン等) 等をラットに投与し,癌原性を病理学的に検索中である。(→学会発表 103, 107, 108, 109, 112, 誌上発表 85, 86, 88, 89)

iii) カビ毒の癌原性の検索に関する研究

ステリグマトチスチンをラットに投与し,その癌原性を病理学的に検索している。

3) 食品添加物,蛍光染料および人工臓器材料の安全性に関する研究

i) 亜硝酸塩及び硝酸塩の慢性毒性及び癌原性に関する研究

ii) 安息香酸塩及び亜硝酸塩の催奇形性に関する研究

iii) 蛍光染料の癌原性に関する研究

iv) 人工臓器材料用プラスチックの安全性に関する研究

各種プラスチックをラット皮下に埋設し,その生体にもみられる変化を病理学的に検索中である。

4) 発癌過程及びそれに影響を及ぼす諸因子の研究 (文部省がん特別研究)

i) 発癌に及ぼす宿主要因に関する研究

化学物質による腫瘍発生と宿主免疫能との相関を検討するため,ラットに各種ニトロソ尿素を投与し,免疫抑制剤あるいは免疫賦活剤等を併用した場合, PFC法を指標として免疫能の変遷を見ると共に,白血病発生に及ぼす影響を視察している。

ii) 白血病発生過程における細胞病理学的研究

発癌剤によるラット白血病の発生過程に見られる血液学的,病理学的変化を経時的に視察,検討している。(→誌上発表 92)

5) 実験動物による発癌剤スクリーニング法の開発に関する研究 (厚生省がん特別研究及び文部省がん特

別研究)

i) 新生仔直接投与方法に関する研究

生後 24 時間以内の新生仔マウス及びラットに各種化合物を投与し,腫瘍の発生が見られるか否かを病理学的に検索する。(→学会発表 110, 111)

ii) 経胎盤投与方法に関する研究

各種化学物質を妊娠中の母体に投与し,次世代動物に腫瘍の発生が見られるか否かを,病理学的に検索する。(→学会発表 106)

6) 培養細胞を用いる発癌剤スクリーニング法の開発に関する研究 (厚生省がん特別研究)

i) 発癌性物質による染色体異常発現に関する研究

チャイニーズ・ハムスター培養細胞に対する発癌性物質あるいは非発癌性物質の影響を細胞増殖抑制,細胞分裂期染色体異常を指標として検討し,その方法が化学物質の癌原性をスクリーニングする方法として適当か否かを検討する。(→学会発表 99, 101)

ii) *In vitro*における酵素活性化システムの開発

ラット肝組織を用い,酵素活性化を必要とする癌原性物質の活性化を *in vitro* で試み,染色体異常誘発性を比較する。

7) 化学物質の細胞急性毒性に関する研究 (厚生省行政研究,厚生省がん特別研究,及び文部省がん特別研究)

i) フタル酸ニステルの細胞毒性に関する研究

ii) 人工臓器材料の細胞毒性に関する研究

iii) ニトロソ化合物の細胞毒性に関する研究 (→学会発表 106)

8) 原発及び移植腫瘍の細胞病理学的研究 (文部省がん特別研究)

i) 化学物質誘発白血球の細胞学的研究

各種ニトロソ尿素によりラットに誘発された原発白血病を,染色体異常を指標として細胞病理学的に検討する。

ii) 可移植性ラット白血病,膀胱癌及び培養細胞系細胞の細胞病理学的研究

iii) 移植腫瘍の増殖,浸潤及び転移に関する研究

iv) 可移植性腫瘍系の確立に関する研究 (→学会発表 104, 105)

9) 制癌剤のスクリーニングに関する研究 (文部省がん特別研究)

合成化学研究部との共同研究として, 1, 1'-ポリメチレンビス(1-ニトロソウレア)類, その他の種々の化合物のラット腹水肝癌 AH-13, あるいはマウス白血病 L-1210 に及ぼす影響を検索する。(→学会発表 113)

附 属 図 書 館

館 長 朝 比 奈 正 人

昭和50年4月1日付で永年管理閲覧係に勤務した武田勲事務官が業務課に移り、代わりに長谷充晃事務官が勤務することになった。昭和50年度における所属図書館の図書雑誌の購入は、外国図書購入費206万円、外国雑誌購入費720万円、国内図書雑誌購入費75万円、計1010万円、そのほか調査室図書購入費171万円の予算で実施した。

最近における図書雑誌の価格の高騰は世界的な傾向で、当所の図書購入費もここ数年急激に上昇した。しかし一方当所の全体の経常経費の伸びは期待できない状況となってきた。そこで昭和51年1月から12月までの外国雑誌購入の予約に当って、購入費の節約を目的とした購入雑誌の再検討をしなければならなくなった。この件に関し10月に再々図書委員会を開き、各部毎に継続雑誌利用度調査のアンケートをとり、非常に必要なもの、必要なもの、必要性は少ないがあると便利なものの段階に分けて集計し、その結果を参考にして種々の角度から検討を行なった。

しかしその結果購入とりやめを決めたのは、Chemical Technology, Modern Packaging, Modern Plastics, Nutrition Abstract & Reviews のわずか4種にすぎなかった。一方調査室でも独自に予算の節約を検討し、Bibliographie Rapid, Deutsche Medizinische Wochenschrift, Klinische Wochenschrift, Medical World News, American Medical News の5種の購入とりやめを決定した。したがって附属図書館としては昭和51年は9種の雑誌の購入をやめることにしたが、金額的には一年約20万円の節約にしかならなかった。

また昭和51年から各部の購入雑誌にも若干の変動があった。

購入をとりやめるもの

Nuclear Science Abstract (放射線化学部)

Circulation Research (薬理部)

Genetics (衛生微生物部)

Biometrics (春日部薬用植物栽培試験場)

新しく購入するもの

Journal of Radioanalytical Chemistry (放射線化学部)

International Journal of Applied Radiation and Isotopes (放射線化学部)

Acta Endocrinologica (薬理部)

Acta Pharmacologica Toxicologica (薬理部)

Molecular Pharmacology an International Journal (薬理部)

Journal of Toxicology Environmental Health (毒性部)

Journal of Occupational Accidents (毒性部)

Crop Science (春日部薬用植物栽培試験場)

Experimental Agriculture (春日部薬用植物栽培試験場)

Tropical Agriculture (伊豆薬用植物栽培試験場)

また衛生微生物部で購入していた Canadian J. Botany は附属図書館で購入することとし、附属図書館で購入していた Mycologia は衛生微生物部で購入することとなった。

このように附属図書館としての予算の節約はきわめて僅かな額にとどまってしまったが、一方昭和51年度の予算は前年度の額にとどまったため、昭和51年度は単行本、シリーズ物等の図書の購入費に大幅な削減をせざるをえなくなり、永年継続購入していた Beilstein の予約を昭和51年4月以降打ち切らざるをえなくなったのは遺憾であった。最近 Beilstein の購入費は一年約200万円を要し、このため昭和50年度においてもかなりの赤字となったが、これはなんとか処理することにした。しかし Beilstein はどうしてもそろえておきたいので、今後金の余裕のつき次第漸次バックナンバーとして購入することを部長会で確認した。

昭和50年度より各部に一定の様式の図書補助簿をおき、各部が購入した図書雑誌を適宜記入し、管理の便をはかることを計画実施した。記入管理の責任者は各部の図書委員である。また各部が所有している図書について附属図書館の図書も含め目録を作製する計画を立て、図書委員の努力によって作業を進めたが、完成は昭和51年度に持越された。

複写の設備については今までゼロックスの4000と2400の2台であったが、使用の増加にともない9月より更に4000を1台追加し、2400を一階に移し時間外の使用および総務部等の使用の便を計った。ちなみに昭和50年度のゼロックス使用量は627,423枚、月平均52,285枚であった。またこれより先ゼロックスにキーコーダーを設置し、各ゼロックスに共通のキーカウンターを用意して各部に配分し、各部使用量の集計を行なうこととした。このためゼロックス使用の手続きがきわめて簡略となった。キーカウンターの数は全部で31個である。

附属図書館は薬学図書館協会とも引き続いて連携を密にした。11月17日薬学図書館協会の創立20周年記念式典が東京青山会館で挙行され、当所もこれに参加した。なお昭和50年度における当所附属図書館への外来閲覧者は延201名であった。

衛生試験所報告第93号を11月15日付で発行した。今回は新しい試みとして「医療用塩化ビニル樹脂の可塑剤フタル酸エステル—主に DEHP—の安全性」と題する総説を収載し好評であった。これは薬品部、薬理部、医化学部、薬品病理部の共同執筆で、今後もこのような総説の掲載は衛生試験所報告の意義を一層高めるものであると信ずる。また昭和50年3月に発行された国立衛生試験所百年史の正誤表および注を末尾につけたが、今後も続けて当所の歴史に関する事項を掲載することも意義があると思う。

調査室では引き続き情報の収集に努め、特に社会的な問題に対応して塩化ビニルモノマー、合成食用色素(赤色2号等)、BHT等に関する毒性データを収集し、関連機関および各部に情報の提供を行なった。またアメリカの政府刊行物である Toxic Substance List, Suspected Carcinogens: A Subfile of the NIOSH Toxic Substance List 等を積極的に入手した。

従来毎月発行していた調査月報も人員の不足と諸業務の増加に供って、遂に昭和50年4月から隔月にしか発行できなくなってしまう、通巻第80号から第85号の6冊にとどまった。しかし薬品病理部石館基氏らが貴重な時間をさいて「培養細胞の染色体異常を指標とする各種化合物のスクリーニング・データ(その1)」および「変異原性物質による環境汚染(I)(II)(III)」と題する稿を寄せて協力して下さったことは、まことに感謝に耐えないところである。また WHO Technical Report Series の索引(第8巻第11・12号)を作製したが、これは東京薬科大学女子部宇野たかね嬢の協力によるもので、同嬢に感謝する。

調査室では WHO 国際副作用モニターへの報告の作業に協力しているが、昭和50年度には59件を受け持った。これに関連し我が国における副作用用語の整理と WHO の副作用用語との関連について検討する必要性を生じ、先に昭和49年度の厚生科学研究でその下準備を進めて来たが、昭和50年度も引き続き作業を行なった。その結果基本語 1057、慣用語 2600、計 3657 の用語を選び、日本語に英語を添え分類別、五十音順、アルファベット順の三つの表からなる「副作用用語集」(薬業時報社発行、414 p、昭和51年4月1日)を作成した。今後の副作用情報のコンピュー-

タ化に役立てば幸いである。

一方昭和50年度には日本医情報センターの久保文苗氏を長とする「副作用情報システム化に関する研究」という厚生科学研究に当所も参加し(研究者下村孟)、研究会の討議に加わったが、前述の副作用用語集の作成もその研究の一環であった。

医療情報システム開発センターの主宰する情報機関の横の連絡をとる医療情報サービス関係団体懇談会もその後たびたび開かれ、これに出席し、昭和51年3月24日には厚生省統計情報部とともに当所調査室の紹介を行なった。

大阪支所

支所長 朝比奈 晴 世

大阪支所は、国家検定、製品検査、一斉取締り試験、輸入食品検査など、処理した件数は、今年度も多かった。

それ以外に、製剤の溶出、安全性、食品に関係ある諸物質の安全性に関する特別研究に参加した。

特に薬品部は、日本薬局方改訂に伴う規格、試験法の作成に、また新技術により成型するプラスチック容器のブドウ糖注射液の不良成型、異常なにおい、味の原因究明に、多大の努力を払い、食品部は、食品中の有害物質の検出、食品添加物の規格設定などについて、また薬理微生物部は、発熱物質に関する研究に加えて、農薬、食品添加物の毒性、催奇性について、研究を行なった。

以下各部別に詳述する。

薬品部

部長 持田 研 秀

概要 日局9案の進捗に伴ない審議過程で相遇した問題の整備に積極的に取り組んだ。さらに、継続審議となった生体利用率と相関のある溶出試験法、含量均一性試験法および注射剤に含まれる Foreign particulate matter の検査法の設定など、製剤の有効性や安全性にかかわる研究課題に勢力を注いだ。

昭和51年2月19日、薬品第二室古謝紀和技官はコロンボ計画の技術専門家として、スリランカ国の Drug Quality Control Laboratory へ一カ年間派遣された。

業務成績

1) 国家検定

検定件数はここ数年にわたり、逐次増加の傾向にある(ブドウ糖, リンゲル液 1,135 件, 昨年度より 44 件増), あらたにプラスチック容器入り注射剤として, 薬液充填と同時に成型する技術が導入され, 20%ブドウ糖注 20 ml の国家検定を実施するようになった。しかし, 本年 1 月 29 日, 市販品に成型不良またはにおいのある製品が発見されたので, 製造を自主的に停止し原因を調査中である。別にプロチオナミド (3 件), 同錠 (16 件) の理化学試験を実施した。

2) 一斉取締り試験

市販製剤のうち, 臭化プロバンテリン錠 (3 件のうち 1 件不適), ジメンヒドリナート錠 (5 件のうち 1 件不適) および注射用チオベンタールナトリウム (1 件) の JP 8 定量試験および USP 含量均一性試験を実施した。その結果を本誌に掲載した。〔衛生試報 94 54 (1976)〕

3) 特行試験

収納あへん 16 件 (内訳, 和歌山 5 件, 岡山 11 件) のモルヒネ含量試験を実施し, その成績を最近五ヶ年間のものとまとめ, 本誌に掲載した。〔衛生試報 94 162 (1976)〕

研究業績

1) 医薬品の規格および試験法の作成に関する研究

i) 製剤の溶出試験方法に関する研究 (特別研究)

さきに開発した pH gradient continuous flow 型の溶出試験装置を用い, 水に難溶な腸溶性製剤, サルファ剤, 抗生物質の溶出挙動を明らかにし, 生体利用率との相関性について検討を行なった。

ii) 製剤の含量均一性試験に関する研究

JP 8 収載の市販製剤のうち, メプロバメート錠, インドメタシンカプセル, 臭化プロバンテリン錠, ジメンヒドリナート錠および注射用チオベンタールナトリウムについて, 含量均一性試験を適用し, その分析法として, GC あるいは液体クロマトグラフィーなどの提案を行なった。〔衛生試報 94, 84 (1976)〕

iii) 製剤中の有害微粒子の検査法に関する研究 (厚生科学研究)

临床上, 大量に使用される輸液用注射剤および水性点眼剤に偶発的に混入する微粒子の汚染を未然に防止する一方, 混入の限界を剤型別に厳密に規定し, その検査法を明確にする必要がある。そこで, コールターカウンター, ハイフックなどの自動微粒子計測法とメンブレンフィルター顕微鏡法について検討したところ, 微粒子の種類, 大きさに応じた精度の高い方法を

選択すること, 外国公定書の規格と Groves らの粒度分布図をもとに実態調査から得た成績を評価できることがわかった。(一誌上发表 23)

2) 製剤の分析化学的研究

i) 漢方湯液中における黄連と大黄および甘草の反応に関する研究 (厚生科学研究)

黄連製剤に大黄と甘草が配合され, 煎剤を調製すると, ベルベリンの定量値が著しく低下することから, ベルベリンと大黄中のタンニン様物質あるいは甘草中のグリチルリチンとの沈澱反応により塩が生成することがわかった。これは大黄を配合した瀉心湯類の薬効を変更させることを示唆している。(一誌上发表 100)

3) 薬物と生体膜脂質との相互作用に関する研究

i) フェノチアジン系向精神薬の水溶液中の導電率の測定について。

単分子膜法によるフェノチアジン系向精神薬とリン脂質, コレステロールの相互作用について検討されていたが, このフェノチアジン系向精神薬の水溶液の導電率測定により, 電解質としての性質と会合体形成について熱力学的解析を試みている。(一学会発表 67)

4) 薬物および生理活性物質の作用機序に関する研究

i) ヒマ種子に含まれる ricin の生理活性に関する研究

赤血球膜凝集能にみられる ricin と生体膜との相互作用を明らかにするために, 赤血球膜の透過性調節に関与するアセチルコリンエステラーゼに対する作用を検討した (衛生化学, 投稿中)

食 品 部

部長 慶田 雅洋

概要 昭和 50 年 6 月 1 日付で山路 昭技官が大阪大学薬学部に出向した。同日付で大阪大学薬学部博士課程を終了した鈴木英世を厚生技官として採用した。昭和 50 年 11 月 1 日付で厚生技官中村恵三が食品第二室長に任命され, 食品部長の室長事務取扱が解除になった。昭和 50 年 9 月 16 日付で松本陽子事務官が支所庶務課から支所食品部に配置換になった。

業務成績

1. 製品検査: 水溶性タール色素 387 検体, タール色素アルミニウムレーキ 40 検体, 合計 427 検体について 4,303 項目の試験を行なった。総検体数は前年度の 447 検体と比較してほぼ同数であった。しかしなが

ら、前年度は総検体数で3位であった食用赤色2号(アマランス)が、1976年1月19日のFDAの全面使用禁止の発表の影響があったためか、51年に入ってからには製品検査の申請が零となり、総検体数において前年度の約半数となったのが特徴的であった。検体数の最も多いのは例年通り食用黄色4号であり、以下黄色5号、赤色102号の順であった。アルミニウムレーキは40件中食用黄色4号と5号のレーキが27検体を占めていた。なお、申請検体数427検体を色素量に換算すると123,756kgであり、うち合格は421検体121,956kg、不合格は6検体1,800kgであった。不合格の内訳は食用赤色102号3検体、食用黄色5号3検体であって、項目はいずれも塩化物および硫酸塩の項目で、限量をそれぞれ0.3~0.5および0.3%越えることが認められた。本年度は食用赤色104号、同105号および食用緑色3号の申請はなかった。

なお、参考までに過去5か年間の不合格検体数を挙げると昭和45年度13検体、46年度8検体、47年度19検体、48年度15検体、49年度19検体であった。

昭和51年4月3日付近管監第2第3号により、4月16日に近畿管区行政監察局第2部第2管区監察官の製品検査に関する行政監察があり、最近6年間の資料を提出した。調査項目は検査、検定対象品目の生産、流通等の概況および各省庁および民間等における検査、検定の体制及び実施状況についてであった。50年度の平均検査所要日数は2週間であった。

2. 特別行政試験(1): 農薬の残留基準設定のための食品残留農薬調査試験を90検体について実施した。内訳は生産地調査54検体(さとうきび: 鹿児島6, 沖縄6; らっきょ: 宮崎6, 鳥取6; 伊予柑: 愛媛6, 山口6; はっさく: 和歌山6, 愛媛6; れんこん: 徳島6), 市場調査36検体(くり: 大阪6; 伊予柑: 大阪6; はっさく: 兵庫6; れんこん: 兵庫6; すもも: 兵庫6; うずら豆: 大阪6)であった。試験項目としては有機塩素農薬の試験をアルドリノ、ディルドリン、エンドリン、 α 、 β 、 γ および δ -BHC、p,p'-DDT、p,p'-DDE、ヘプタクロルエポキシサイドおよびジコホルの各農薬について、有機りん農薬の試験を、EPN、ジクロルボス、マラチオン、パラチオン、ダイアジノン、フェニトロチオンおよびフェンチオンの各項目について行なった。総件数1,620件。結果は国立衛生試験所長に報告した。前年度に比較して項目ではジクロルボス(DDVP)、EPNの2農薬を増加した。

3. 特別行政試験(2): 昭和50年6月27日付で鳥取県衛生環境部長より、学校給食牛乳にカルキ臭、消毒臭、異臭を感じたので試験して欲しいとの依頼があっ

た。官能検査の際に舌に感ずる刺激味と飲み込んだ際に鼻に抜けるカルキ臭が認められた。しかし検体からは残留洗剤、中和剤、異種脂肪、抗生物質、スズおよびフタル酸エステルは検出されず、また牛乳のたんぱく質の加熱変性度も通常の範囲内であった。

4. 輸入食品検査: 本年度は輸入食品の行政検査が例年にくらべてとくに多く、総計468検体1,142件に達した。内訳は器具、容器包装およびおもちゃ32検体163件、食品添加物の規格試験3検体26件、酒類飲料63検体245件、清涼飲料水5検体9件、植物性食品(果物を除く)129検体135件調味料1検体2件、菓子18検体20件、水畜産物62検体94件、果実155検体448件であった。総件数の約40%は4~6月にかけてのレモン、オレンジ、グレープフルーツなどの不許可保存料オルトフェニルフェノール、チアベンダゾールの試験であった。

西日本の海空港別の検体の依頼件数は神戸港310件(66.2%)、大阪港118件(25.2%)、名古屋港27件(5.8%)、門司港8件(1.7%)、大阪空港31件(0.9%)、那覇港1件(0.2%)、鹿児島港1件(0.2%)であった。博多港からの試験依頼はなかった。本年度より件数を検体数ではなく項目数によって数えることにした。総数1,142件のうち試験の多かった項目を拾うと、かんきつ中のジフェニル147件、オルトフェニルフェノール155件、サイアベンダゾール146件(小計448件)、安息香酸50件、パラオキシン安息香酸エステル58件、ソルビン酸106件、サリチル酸10件、デヒドロ酢酸18件(小計242件)、この他に特殊なものとしてはぶどう酒の窒化ナトリウム(アジ化ナトリウム)24件、冷凍むきえびのホウ酸12件などが挙げられ、保存料の試験だけで総件数の63%を占めていることが知られた。その他に多かった項目としては亜硫酸(漂白・保存または酸化防止)の65件、人工着色料の39件、スルファミン酸(しょうがの発色剤)116件などがあげられる。

最終的に不合格と判定された検体は56検体であって、総数の12.0%であった。

なお、輸入届出事項に係る厚生省令の改正に伴ない、輸入業者に対する食品衛生の周知徹底を企むために(社)日本食品衛生協会主催の「食品輸入の実務講習会」が昭和51年1月28日(神戸)、同1月30日(北九州)の両日行なわれ、食品部長が出席して、「輸入食品の添加物の問題点について」と題する講演を行なった。

5. 食品添加物の規格の作製および改訂: 現行食品添加物公定書の品目中、乾燥減量測定法並びに定量法文中の乾燥条件「減圧デシケター(硫酸)」を「シリ

カゲル」 「五酸化リン」による乾燥条件に改訂することを検討し、一覧表を作製した。なお「シリカゲル」採用の場合、製品を統一するために「JIS, ZO 701 包装用乾燥剤一級のA」を使用するのが適当である。なお、「五酸化リン」は現行“食添”公定書に記載されていないので新たに記載を要望する。

その他リン酸一アンモニウム、同一カリウム、同一ナトリウム、同一ナトリウム（結晶）、同一ナトリウム（無水）、同一ナトリウム（結晶）、同一ナトリウム（無水）、同一ナトリウム（結晶）、同一ナトリウム（無水）について確認試験および液性の項の水溶液の濃度をすべて（1→20）に統一する改訂案を作製した。リン酸一ナトリウム（結晶）の乾燥減量の測定条件を40°で16時間、ついで120°で4時間に改め、この条件を定量法にも適用する件、リン酸二ナトリウム（結晶）の乾燥減量および定量法の加熱条件を初め40°で3時間、ついで、120°で4時間に改める件、リン酸三ナトリウム（結晶）の乾燥減量および定量法の加熱条件について、200°で5時間とする件についても改訂案を作製し、昭和51年1月に大阪食品添加物協会より厚生省食品化学課長宛に“食品添加物公定書規格改訂要望書”として提出した。

なお、日本食品添加物団体連合会の金原常務理事の斡旋で昭和51年3月12日に食品衛生センターにおいて、“食添”公定書規格改訂原案の東西合同の技術研究委員会が開かれ、関西からは食品部長が大阪食品添加物協会の増川技術委員長らと共に出席した。

研究業績

1. 衛生試験法の作製：粉乳の酸度の測定法として、現在厚生省令において定められている滴定酸度（乳酸%表示法）のほかに、EC諸国において広く使用されているAsfalec酸度を導入し、比色滴定法として原案を提出し、昭和51年4月の日本薬学会96年会公衆衛生協議会において採用された。

かんきつ中のジフェニル、*o*-フェニルフェノールおよびサイアベンダゾールのアルミナカラム・クリアップ、FID または FPD ガスクロマトグラフィーによる系統的試験法については（一誌上発表 36, 37）、50年度試験法原案として関西部会を通じて提出したが、添加物第一部会を通じて提出された“精油定量器を使用する*o*-フェニルフェノールの定量法”と重複することになり、調整がつかず、衛生試験法原案としての提出は見送りとなった。

2. ペノミルとチオファネート代謝物に関する研究：現在、かんきつの不許可保存料として*o*-フェニルフェノールとサイアベンダゾールが注目されている

が、この他にペノミルおよびチオファネートが農薬として広く散布されており、しかもこれらは植物体内で迅速に代謝されてMBC（メチルベンズイミダゾールカルバメート）の形で残留することを突きとめ、ガスクロマトグラフィーによるMBCの定量法を確立した。（一学会発表 41）

3. 食品中のソルビン酸、安息香酸、デヒドロ酢酸、サリチル酸およびパラオキシン安息香酸エステル類の抽出と分別定量法の確立：昭和49年度から50年度にかけてぶどう酒中の保存料の検出定量法を多数の検体について依頼された。まず、ガスクロマトグラフィーによる系統的試験法を確立し（一誌上発表 38）、ソルビン酸については国税庁訓令法による比色法と比較した（一学会発表 39）。保存料の系統的試験法の前処理法を分析のより困難とされている食品、たとえばチーズ、高麗人参茶などについても設定し、保存料を短時間に抽出、精製並びに定量する方法を確立した。（一学会発表 44）

4. 食品中のホウ素の定量について：昨年度はクルタミン比色法の改良による微量化法の開発について報告したが、本年はイオン電極法の応用について検討し、液状試料については灰化を省略して操作できることを確め、ぶどう酒およびミネラルウォーターについて良好な結果を得た。（一学会発表 43）

5. ベルガモット油およびその含有化粧品中のフロクマリンに関する研究にベルガモット油はオーデコロン、香水その他の化粧品の香料として用いられている。しかし未除去のフロクマリン類（特にベルガプテン）によって光化学的皮膚炎を起すのでそのガスクロマトグラフィーによる検出法を確立した。（一学会発表 40）

6. 合成膨張剤の発生ガスの測定法の改良：現行の厚生省令による測定法は発生ガスの温度補正も行わず、また試料添加時の誤差も免れない方法なので全面的改訂を企て、Chittickの装置を参考にして試作した容量法測定装置およびA.G.K.式吸収滴定装置について比較検討した結果、両者共極めて高い精度で測定しうることを認めた。51年2月25日に大阪食品添加物協会合成膨張剤部会の会員に集って戴き討議した結果、Chittick類似試作装置による容量法が迅速性などの点で適当であるとの結論に達した。（一学会発表 45）

7. 特別研究：食品に関係ある諸物質の安全性に関する研究の第2次3年計画（昭和48～50年）の一環として本年度は食品の残留サルファ剤に関する調査・研究を行なった。

8. その他：食用タール色素の活性汚泥による分解に関する研究（一学会発表 42）。ごま油・調合ごま油中のセサモール、セサモリンおよびセサミンの定量とごま油鑑別への応用に関する研究（一学会発表 37）などを行なった。

薬理微生物部

部長 加納 晴三郎

概要 昭和51年1月アメリカ、ミネソタ大学医学部で研究中であった部長が帰庁し、かわって科学技術庁内地留学生として江馬真技官が、薬物による奇形発生に関する実験的研究を行うため京大医学部解剖学教室に派遣中である。

業務成績

国家検定はブドウ糖液 1,116 件、リンゲル液 19 件、計 1,135 件について発熱試験および無菌試験を行なったが、全件合格した。なお、経中心静脈栄養用輸液としての 50% ブドウ糖注射液（500 ml 用バイアルに 200 ml 充填したもの）が国家検定されることとなった。

輸入食品検査については、各種食品の細菌検査を行ない、55 件中不合格件数は 20 件であった。

研究業績

1. 発熱物質に関する研究

i) 細菌性発熱物質による中枢作用を一層明確にするため細菌性発熱物質の発熱性に対する Eserine および Quabain の影響を検討した。（一誌上発表 96）

さらに、ミエリン鞘構成成分である Proteolipid protein が細菌性発熱物質と複合体を形成することを *in vitro* で明らかにし、中枢の発熱機構に関する有力な手がかりを得た。（一学会発表 114）

ii) 前回の腹腔内注射に続いて、細菌性発熱物質の末梢作用を検討するため、妊娠ラットに細菌性発熱物質を静注することによって、母体の一過性の体温下降と体重増加の抑制が認められ、胎仔に対しては著しい致死作用を示すことを明らかにした。（一学会発表 115）

さらに、この胎仔致死作用と胎盤ミトコンドリア Mg^{++} -ATPase 活性との相関についても詳細に検討中である。

iii) 家兎の発育に伴う細菌性発熱物質に対する反応性の変化を追及し、生後間もない家兎は細菌性発熱物質による末梢作用は認められないが、中枢作用は認められること等が明らかにされつつある。

iv) 鋭敏な細菌内毒素の検出法である Limulus test を各種食品や水の細菌汚染に対する指標として適用することが食品衛生的見地から検討された。さらに細菌性発熱物質による発熱や致死作用等に対する Limulus gel 化反応の影響が明らかにされつつある。

2. 薬物代謝に関する研究

本年度は前年に引き続き“製剤技術の進歩に伴う医薬品の安全性の確認に関する研究”の特別研究の分担として上記各種の発熱物質に関する研究を基盤として、発熱時におけるアスピリンの妊娠ラットに対する吸収、代謝、胎仔への移行ならびに胎仔に対する毒性について詳細に研究した。（一学会発表 116）

3. 農薬、食品添加物等の安全性に関する研究

食品添加物明パンの2ケ年にわたるラットに対する慢性毒性試験は現在病理組織学的に検討中である。また、硝酸カリウムのラットに対する催奇形性試験はほぼ終了し、Tween 60 ならびに蛍光染料 FBA 90 のラットに対する催奇形性試験を行ないつつある。さらに食用黄色5号と青色1号との相乗毒性試験を始めた。また、

北海道薬用植物栽培試験場

場長 本間 尚治郎

概要 昭和50年度の栽培試験はトウキ、センキュウ、ジャクヤク、ハナトリカブト、ゲンチアナ・ルテア、オウレン、ハカマオニゲシ、ケジ、ミシマサイコについて試作。展示としてハマボウフウ、キバナオウギ、ダイオウ、シロバナヨウシュチュウセンアサガオ、キハダ、ボタン等についておこなった。

融雪期は平年に比べて4日おそく4月25日であった。5月22日に晩霜があったが、特記すべき被害は認められなかった。6、7月は曇天の日が多く、降水量少く日照不足が目立った。7月下旬になってようやく夏型の天気となり、その頃よりセンキュウにペト病が発生しはじめた。8月22日から23日にかけて台風6号の接近により記録的な大雨（157 mm）となり圃場の一部が冠水被害をうけた。9月末には冷え込みが強くなり29日には初霜を見た。9月下旬から10月前半は雨や曇天の日が多く圃場作業は予定どおり進行しなかったが、天候の回復とともに11月前半には、ほぼ終了した。11月下旬には真冬並の寒気が入って冬型が強まり、25日には積雪 32 cm に達し根雪となった。

種子交換事業は、入手したものは 91 件延 194 種配

布したものの39件延130種であった。植物調査は6月、7月、10月にそれぞれ間寒別、愛山溪、豊平峡、長万部町二股、下川町サンル、幌加内町雨竜にて観察、採集をおこいな腊葉を作成、一部のものは標本として植付した。

来場者の案内のほか栽培農家のトウキ、センキュウ、ジャクヤク、ダツラ、キバナオウギ、ヤクヨウニンジン等について現地指導をおこなった。また7月には、北海道本草研究会主催のキハダの採取調製法について講義と実地指導をおこなった。

研究業績

1) トウキの栽培試験

目的：栽培法を改良するため収穫時期と生育、収量、品質の関係を明らかにする。

内容：'74年秋定植したトウキについて'75年9月20日、9月28日、10月9日、10月21日、10月30日の5回掘り上げ調査した結果草丈、株張りでは10月21日以外は収穫期が遅れるに従い順次増加する傾向が認められ、10月30日のものは草丈、63.4cm、株張りは64.7×51.3cmであった。主根長や根張りも、収穫期が遅れるにしたがい順次増加する傾向を示し、10月30日のものは主根長42.6cm、根張り42.3×31.2cmであった。生根重は10月9日が最高(1株平均398.2g)であるが、乾根重は、収穫期が遅れるに従い順次増加し10月30日の103.1gが最高であった。

2) センキュウの栽培試験

目的：栽培法を改良するため収穫時期と生育、収量、品質の関係を明らかにする。

内容：'74年秋定植したセンキュウについて'75年9月19日、9月28日、10月9日、10月21日、10月30日の5回掘り上げ調査した。草丈、株張りは9月19日(1株平均草丈56.6cm、株張り52.9×49.8cm)のものが最高を示し、収穫期が遅れるに従い順次低下し10月30日(草丈46.9cm、株張り29.5×19.5cm)が最低となる。地上部重もほとんど同じ傾向を示した。これに対し地下部の生育は反対に収穫期の遅れるに従い増加する傾向が認められ、生根茎重は9月19日(1株平均269.9g)より順次増加し、10月30日(395.1g)のものは最高であった。ただし乾根茎重(製品重)は10月21日(102.4g)が最高で、9月28日(82.7g)が最低であった。

3) ジャクヤクの栽培試験

目的：薬用ジャクヤクの優良系統を選抜するため開花期別、花色別、花卉数別と生育、収量、品質の関係を明らかにする。

内容：1970年秋、1年生の実生苗を定植し肥培管理したものを'75年9月16~17日に次の区分で収穫し生育収量について調査した。

開花期別——早生、中生、晩生

花色別——白、赤、桃

花卉数別——一重、八重

地上部の生育は全般に「早生・白・八重」(草丈80.0cm、株張り41.0×60.0cm、茎数24.0)、「早生・桃・一重」(草丈87.5cm、株張り46.7×50.9cm、茎数20.6)、「中生・白・八重」(草丈84.0cm、株張り40.0×40.0cm、茎数25.0)などは良好であるのに反し「中生・赤・八重」(草丈95.0cm、株張り40.0×45.0cm、茎数9.0)「晩生・白・一重」(草丈72.8cm、株張り42.0×46.0cm、茎数7.3)はやや劣る傾向が認められた。

地下部の生育についてみるに、根長は「早生・桃・一重」(57.2cm)が最も長く、「早生・白・八重」(38.0cm)が最も短かい。根張りは「中生・白・八重」(90.0×65.0cm)が最も大きく、最小は「早生・白・一重」(58.0×40.0cm)であった。根数の最も多いのは「中性・白・八重」(33.0本)で最少は「早生・白・一重」(15.0本)であった。地下部重では「早生・白・八重」(2,276.0g)が最も重く「晩・白・一重」(563.6g)が最も軽く、根重も大体同じ様な傾向を示した。以上要するに、ジャクヤクの生育は開花期を問わず花色と花卉数によって可成りの相異があることが認められた。すなわち、比較的に生育良好と思われるものは、白・八重、桃・一重であって早・晩生の白・一重は前者に比して劣る傾向を示した。

4) ハナトリカブトの栽培試験

目的：栽培法を確立するために、苗の大きさと摘花が生育、収量にどの様に影響するかを明らかにする。

内容：'73年秋と'74年春にそれぞれ定植した2年生のものについて'75年10月17日に掘り上げ生育と収量を調査した結果、草丈の最高は春植大・中・小混合苗区(35.4cm)で次いで秋植中苗区、秋植大苗区(23.3cm)が最低であった。株張りや茎の太さ、茎数でも大体同じような傾向であった。附子生重は秋植中苗区(396.2g)が最も多く、秋植摘花区(202.4g)が最も少なかった。附子生産の目的で栽培する場合には、苗の大きさでは小苗を用いる方法が効率が高いようである。本試験では摘花の効果は認められず、方法や時期などについて一考を要する。植付時期は特別の障害のない限り秋植の方が有利のようである。

5) オウレンの栽培試験

目的：当地方では実際に栽培されたことがなく、そ

の適否についても不明であるので生育、収量を調査し栽培法を確立する。

内容：当場で育成した1年生苗を'71年秋定植肥培管理し、'75年10月31日に掘り上げ生育・収量を調査した結果、畑栽培における苗の大きさ別では、大苗区(草丈28.3cm, 株張り33.3×25.5cm, 生根茎重23.1g)が中苗区・小苗区より生育・収量が優っている傾向がみられた。

林間で栽培したものを畑栽培のものと比較してみると、生育・収量ともに前者は劣り特に林間栽培(生根茎9.0g, 乾根茎1.9g)と畑栽培(生根茎27.5g, 乾根茎12.3g)の収量の差が大きかった。

定植後2年間被覆(寒冷沙一重)したものと毎年被覆したものでは、前者の草丈27.8cmに対し後者は30.6cmであったが全般には生育・収量に差はみられなかった。

6) ミシマサイコの栽培試験

目的：当地方における栽培法を確法するために、除草剤ならびに採種地別ミシマサイコの生育・収量を明らかにする。

内容：

イ) 除草剤について：'75年5月14日播種の1年生ミシマサイコを用いてトレファノサイド乳剤、ロロックス水和剤、グラモキソン液剤、ニップ乳剤、MCP粒状水溶剤、シマジン粒剤を散布した結果、アカザ、イスガラシ、スベリヒユ、1ポロギクなどには効果は明確であり特にロロックス水和剤の効果は顕著であり、ニップ乳剤の効果も大であった。ただし、ハコベはむしろ繁茂が助長される傾向を示し、ノポロギクではトレファノサイド乳剤も同様の傾向がみられた。

ロ) 採種地別ミシマサイコの生育について：静岡、茨城(B・C)、富山、種子島、東京、北海道産の種子を用いて'74年春に播した2年生株を、'75年10月27日に掘り上げ生育・収量について調査したミシマサイコの生育は、伸長生長・肥大生長、増殖生長などによって多少異なるが、種子の産地によっても相異していることが判明した。生育旺盛なものは概して東京や茨城の関東系であって種子島、富山、北海道のものはやや劣る傾向を示した。

収量については乾地下重の最高は静岡の6.6g(1株平均)で、種子島の3.8gが最低であった。北海道は5.4gで静岡、茨城(C)以外のものはこれ以下であった。

T-R率は全般に低く茨城が最高で18.1%、北海道は10.3%で最高であった。歩留りは33.0~42.7%で、このうち比較的高いのが茨城、東京、種子島の

41.5~42.7%であった。

7) ケシの栽培試験

目的：当地方のような寒冷地におけるケシの生育・収量を明らかにする。

内容：一貫種、トルコ5、P-1099K(ドイツ系)を用いて'75年5月8日播種し、7月25日~30日に慣行法にしたがいあへんを採取し、その収量を調査した結果6m²当一貫種4.5g, トルコ5 4.8g, P-1099K 4.6gで、あへん中に含まれるモルヒネ含量はそれぞれ10.7%, 12.1%, 10.1%であった。品種間の収量の有意差は認められず、また前年の収量に比べていづれの品種も約60%程度で過去5年平均とほぼ等しかった。7月下旬の天候不良が減収の原因とおもわれた。

春日部薬用植物栽培試験場

場長 小島 康平

概要 前年度に引き続きケシの栽培およびアルカロイドの抽出に関する研究をはじめ、トウキ、センブリ、ハブソウ等の栽培試験ならびにステビア属の栽培および生育特性の調査、異なった温度条件下におけるハマオニゲシの発芽および初期生育について試験を行なった。

種子交換は入手115件、延べ約1500種、分譲70件、延べ約950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、栃木、茨城の各県7カ所で行ない現在約400種の種子を保管中である。

研究業務

1) ケシの栽培およびアルカロイド抽出に関する試験

目的：直接抽出の方法と栽培法の確立

内容：風乾さく果(水分約15%)の水抽出液につきイオン交換樹脂を用いた濃縮法の検討を行なった。

まず各種のイオン交換樹脂および溶剤の中から最も適当と思われる樹脂と溶剤を選定した後、そのモルヒネ吸着量および脱着率を測定した。

イオン交換樹脂についてはアンバーライト IR-118, IRC-50, IRA-900→IRC-50, XAD-2 および XAD-4 について検討した結果強酸性カチオン樹脂ナトリウム型 IR-118 が最も吸着多く適当と認められた。

モルヒネの溶離は35%アンモニア水溶液をSV-5で流して行なったが、溶離液16l/e-Rで完全に行なわれ、そのモルヒネ収量は2.185g, 脱着率は107%であった。

栽培試験では異なった栽植密度における生育収量の比較を行なったほか北海道、春日部、和歌山の3場で地域条件の相違を比較するため連絡試験を行ない次の結果を得た。

すなわち栽植密度が高くなると果数の増加が著しく、高収量（さく果重）がえられた。

これはおもに種子収量の増大に起因し、ある密度以上では種子収量のみが増大することを明らかにした。

また収量および収量構成要素については1株果数、1株果重はともに茎重と高い相関がみられ、葉重、葉面積との相関は栽植密度によって異なり、密植で高い相関がみられた。

モルヒネ含量は栽植密度による影響および地域による差異は認められなかったが、コデインの含有量は低温地域において高い傾向がみられた。

2) トウキ

目的：ホッカイトウキの青茎および赤茎についての遺伝的形質または環境による変異の判定

内容：1974年ホッカイトウキ2年株から1株1系統として56系統を採種し試験に供試した。

56系統中10系統に発芽が見られなかったが、発芽した46系統中、中胚軸が緑色（青茎）の系統はなく逆に苗全部が着色している（赤茎）ものは6系統であった。

また供試した全系統とも淡赤色～濃赤色まで連続的に変異しておりこの着色は栄養および水分に影響されなかった。

3年間にわたるホッカイトウキの栽培の結果、虫害、耐暑性などの点で春日部における試験は困難であるとの考えから本年度でトウキに関する研究を打ち切ることとした。

3) センブリ

目的：低発芽性の原因を知るため、光条件について検討する。

内容：1975年2月、5寸鉢に火山灰土＋水苔末を入れ播種した。区分は3区でヨシズ区（遮光78%）、寒紗区（遮光38%）、対照区とした。地上部の生育に対する日射制限の影響は第1に葉数の減少となって現れた。さらに葉面積の拡大がみられた。すなわち、約80%の強い遮光では無遮光に比し、処理後約25枚の減少がみられ、葉面積は遮光の強い区ほど大きくなる傾向がみられた。

4) ハカマオニゲシ

目的：発芽適温の検討と播種期決定のための予備試験。

内容：① UNB-18(国連麻薬部より入手)はWG-1

(西ドイツより入手)に比べ発芽適温域がやや高く、系統によって温度に対する反応は異なった。すなわち、いずれも15～25°Cで発芽率は高かったが、UNB-18は30°で発芽し、10°で発芽しないのに対しWG-1は10°では発芽したが、30°で発芽しなかった。

② 秋播きにした場合、12～2月の低温のため枯死株は多かったが、3月下旬より生育は旺盛となるのに比べ、春播きでは発芽および初期生育は良好であったが、7月中旬、高温障害を起し、大半の株は枯死した。1975年12月、各播種期の株を掘り取り地上部および根の調査を行なったところ地上部重、根重、根長、生葉数ともに秋播(9月播種)のものが最もすぐれていた。

5) ハブソウ

目的：系統選抜による品種の育成をはかり、各品種の特性を地上、地下部の規則性の面から検討する。

内容：① 品種の育成について

早、中、晩生はこの3年間でほぼ固定したものと考えられる。発芽、生育とも良好な系統を選抜し、個体調査をした上で各1～2個体を子実収量の点から初期選抜を行なった。

② 生育の特性について

密植(60×20cm)、標準(60×30cm)疎植(60×50cm)の3区を設け開花の規則性および個体の子実収量を調査したほか出葉および分枝の特性を調査した。

その結果、主茎の節は35～40、そのうち本葉は25～30枚出るが、個体差が大きかった。栽植密度の相違は有効分枝数の差になって現われた。

6) ステビア

目的：栽植密度と収量との関係およびコルヒチン処理による人為倍数体の育成

内容：10アール当たり乾物業重は疎植区(3,000株/10アール)150.3kg、標準区(5,000株/10アール)、210.9kg、密植区(10,000株/10アール)312.8kgであった。

種子のコルヒチン処理により、4倍体を育成した。気孔の大きさは葉の表面より裏面において、2倍体と4倍体の差異が顕著であり、2倍体に比べ4倍体が大きく、葉の主脈中央部の厚さも4倍体が2倍体のそれに比べて厚かったが、葉脈間の厚さにおいては有意差が認められなかった。

ステビオサイドの含有率は2倍体が13.4%、4倍体では17.3%となり、コルヒチン処理による人為4倍体は2倍体に比べ、ステビオサイド含有率が約30%高くなることが明らかとなった。

伊豆薬用植物栽培試験場

場長 宮崎 幸男

概要 本年は1号および2号温室の改修工事が行われ10月に完成をみた。一方本年も異例の災害に見舞われ、10月8日庁舎床上30cmに及ぶ大洪水のためは場、諸施設、物品、植物などに大きな被害をこうむり、各種業務にも多大の支障を来たした。本年度の業務は後記のようなズボインア、ミツマサイコ、ウコン、ステビア、シンナモムム、ハカマオニゲシの栽培研究が主体をなすが、その他の業務としてつぎのものがあげられる。

1) 系統保存および展示栽培

対象植物は従来と殆んど同じで主なものはつぎの通りである。

コカ、ラウオルフニア、ヒブラウレア、ジオスコレア、サンピロート、クミスクテン、ムラサキオモト、レモングラス、シトロネラ、パチョリ、ゼラニウム。

2) 野生および栽培植物の調査研究

主として伊豆地域および千葉県習志野地区で野生および栽培植物の調査研究を行ない、また交換用種子として野生種29種、栽培種70種(当場産のものを含む)の採集を行なった。

3) 種苗交換

概要はつぎの通りである。

受入れ	国内	21件	延べ	38種
	国外	8件	延べ	89種
配布	国内	29件	延べ	294種
	国外	4件	延べ	14種

研究業績

栽培試験

1) ズボインア

目的：スコボラミンあるいはヒヨスチアミン含量の高い優良系統の育成および栽培法の確立

実績：leichhardtii (L), myoporoides (M) のほ場栽培3年生植物の生育調査を行なうとともに、8月下旬採葉し、千葉大学薬学部でアルカロイドの分析を行なった。L、Mともに耐寒性は強く、越冬は比較的容易なことが確認されたが、一方生育途中で枯死する個体の多いことが注目された。アルカロイド含量の比較的高いものではLでスコボラミン、ヒヨスチアミン各1%前後、Mではヒヨスチアミン約1~2%のものがそれぞれ数個体見出された。

2) ミツマサイコ

目的：暖地栽培の立場からの栽培法の確立

実績：i) 比較的好条件のもとでのポット栽培における生育、収量に関する研究。いままでの本植物に関する一連の研究から良質の種子を用い、好適な環境条件のもとで周到な管理を行なった場合の個体当り収量を知ることを主目的とした。ポットは2千分の1アール、用土は直径0.5~2.0mmの砂土、肥料は基肥に堆肥、追肥には砂耕用配合肥料を用いた。温度条件の異なる区として戸外(A)、無加温ビニールハウス(B)、加温ビニールハウス(C)の3区を設け、本年度は1年生植物の生育、収量を調査した。全般的に生育は極めて良好で個体当り主根風乾重は平均値でA区1.8g、B区1.3g、C区1.6g、最高値はA区3.7g、B区2.1g、C区2.3gであった。本年度は冬の期間を殆んど経ていないので温度の影響は現われていない。

ii) 栽培法を異にしたほ場栽培における収量調査。種子の貯蔵法、播種量、間引などを異にした6区のもとではほ場栽培を行ない、1年生(49年度)および2年生植物の収量調査を行なった。播種後大雨による種子の区外流出があり区間の比較は正確を期しがたいものとなったが、間引は行なう必要のないこと、1年生では病害は少ないが個体当り収根量は高いものでも風乾主根重で1gにも足りない程度で収穫には早すぎることで、2年生では風乾主根重は2g前後になり収穫可能となるが、病害がやや多くなる傾向が認められた。

3) ウコン

目的：栽培法の確立

実績：前年度に引続きほ場栽培で種芋の種類と植物の生育、収量との関係について研究した。結果は前年度と殆んど同じであり、いままでの種芋に関する一連の研究結果を総合すればつぎの如くなる。ウコンを香辛料として栽培する場合は、種芋は商品価値の低い丸芋を利用するのが最も合理的であるが、一方長芋に関しては一般にはくず芋として商品価値の低い小芋でも2g程度以上のものであれば種芋となりうるので、実際生産においては密植栽培などの方法により有効に利用することが望ましい。

4) ステビア

目的：甘味資源開発の立場から栽培法の概要を明らかにする。

実績：本年度はほ場栽培4年生株につき7月23日と9月30日の年2回の収穫を行ない収量調査を行なうとともに広島県衛生研究所で成分の分析を行なった。年間の個体当り平均収量は風乾全地上部重116.8g、風乾葉重56.1gで、第2回収穫では第1回収穫に比

べて収量がかなり低く、かつ第2回収穫では従来と同じく莖重の割合が相対的に大きくなる傾向がみられた。また乾葉のステビオサイド含量は第1回、第2回とも6.5%で両者の間に差は認められなく、一方植物体の各部位のステビオサイド含量の相互関係については従来と同じ傾向がみられた。

5) シンナモムム (Cinnamomum)

目的：漢薬原料ないし香辛料として重要な種類の栽培法の概要を明らかにする。

実績：継続中の *Cinnamomum cassia* の露地栽培について本年度は5年生植物の生育、とくに越冬状態に注意して調査を行なった。本年度も11月ころまでの生育は順調で、12月中旬前年度と同じ方法で一部よし、一部ビニールトンネルで防寒した。所で51年1月の寒さが例年以上に厳しかったため、よし区ではかなり寒害をうけ、4月末現在葉は殆んど落葉し、莖も上半部は枯死しているが、植物自体枯死する恐れはない。一方ビニールトンネル区では、頂部の葉が若干落葉しているが寒害は極めて少なく越冬は容易であった。

6) ハカマオニゲシ (厚生科学研究費)

目的：生育の概要を知るとともに適地としての環境条件を明らかにする。

実績：i) は場における生育の概要調査 UNB18, 三共系ともに発芽ならびに幼苗の生育は比較的良好で、地上部(葉)の生育は3~5月ころ最も盛んであったが、6月ころよりアカダニが発生し、また詳細不明の病害のため地上部は次第に枯死し、7月下旬ころには全個体の地上部が枯死した。その後秋になっても萌芽は全くみられず、地下部も完全にくさっていることがわかった。従って当は場での栽培では病虫害対策が極めて重要な課題となるようである。

ii) 異なる温度条件のもとでのポット栽培

UNB18, 三共系の両系統を用い、30cm 素焼鉢栽培で、戸外(A)、無加温ビニールハウス(B)、加温ビニールハウス(C)の温度条件の異なる区のもとで生育調査を実施中であるが、両系統ともCではA、Bに比べて病虫害の発生が多く、枯死率の高いことが認められている。また三共系は UNB18 に比べて全般的に生育が悪く、枯死率も高い傾向がみられている。ただ高温区における生育の障害は温度の直接的影響というよりもむしろ高温に伴なう病虫害の影響とみなされるので、温度と生育との直接的関係についてはなお今後の研究を要する。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 大 野 忠 郎

概要 昭和50年度の気象状況は概して順調であり、特にケシの開花、さく果生育、採汁の時期に当る5月には好天に恵まれた。すなわち5月には最高気温は上旬(開花)期に高く、最低気温は下旬(採汁期)に低く、気温較差は上旬と下旬に大きく、降水量は上旬から下旬にかけて(特に採汁期である下旬)平年に比し著しく少なく、採汁期(下旬)には温度低く曇量少なく日照時間長く、ケシ栽培に好適した気象状況であったため、あへん収量モルヒネ収量共に多く、あへん中のモルヒネ含量も高く豊作の年であった。ミシマサイコ、オウレン等のその他の試験植物および標準薬用植物も生育良好であった。

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 15件
2. ケシその他薬用植物種苗分譲 12件
3. 植物調査採集採種 近隣の和歌山県日高郡内で3回実施、計56種採集
4. ケシ作況調査 岡山県1回
5. ケシ耕作者栽培講習会2回
和歌山県、岡山県各1回

研究業績

1. ケシに関する試験

目的：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資料を得ようとする。

内容：次の13試験を実施し、また過去の試験成績に基いて、生産力におよぼす気象要因の影響について研究した。

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する。

内容：57系統を栽培し、全系統採種することができ、保存の目的を達した。

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：1962~1975年の14年の平均を比較して、一貫種よりもあへん中のモルヒネ含量の高い3系統を選抜することができた。

iii) 一貫種個体選抜系検定試験

目的：一貫種の個体選抜により得た系統につきその

生育、生産力を検定する。

内容：選抜系統はあへん収量において25系統中15系統が、モルヒネ含量とモルヒネ収量において共に18系統が一貫種に比してすぐれており、本年は系統群の優秀性が明らかに示されていた。各系統の種子収量とあへん収量との間に正の相関が認められた。

iv) 巨大蒴果型育成交配系統検定試験

目的：扁平型系統の一貫種との交配によって得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：種子収量において交配系統はすべて一貫種に比しまさっていた。

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得られた系統につき、その生産力を検定し、早生で多収の系統を育成する。

内容：1965～1975年の11か年間の平均を比較し、Duncanの範囲検定により、あへん収量で一貫種にまさるもの10系統を選抜し得た。種子収量とあへん収量($r=0.337^*$)、種子収量とモルヒネ収量($r=0.318^*$)のおおのの間に正の相関が認められた。一貫種に比しあへん収量が多いAW×I 6-3-1-1-1はさく果の横径が一貫種に比し大きい(1%の危険率で有意)ことがわかった。

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得られた系統につき耐病性、多収の系統を育成する。

内容：1970～1975年の6か年の平均を比較して、モルヒネ収量が一貫種に比しまさるもの9系統をDuncanの範囲検定によって選抜し得た。

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得られた系統につき耐寒性、多収の系統を育成する。

内容：1970～1975年の6か年の平均を比較してDuncan範囲検定によりあへん収量が一貫種に比して多いもの1系統、あへん中のモルヒネ含量が一貫種に比して高いもの3系統、モルヒネ収量が一貫種に比して多いもの4系統を選抜することができた。本年度は種子収量とモルヒネ収量との間にきわめて強度の正の相関($r=0.683^{***}$, $p<0.001$)が認められた。

viii) 採汁時期試験

目的：採汁時期の変化が収量、品質におよぼす影響を調査し、採汁の適期を判定する。

内容：採汁開始期の可なり早い区(開花後9日)から採汁開始の晚い区(開花後21日)にかけてあへん収量、モルヒネ収量共に多く採汁の適期間が長かった。

ix) 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：排水良好な土壌条件下で試験し、あへん収量、モルヒネ含量、モルヒネ収量共に両区に大差は認められなかった。

x) 農薬の種類に関する試験

目的：病害に対する防除法として現在市場にある代表的な農薬を使用して、その効果を比較する。

内容：ボルドー合剤(8斗式)、トップジン(800倍)、ジュネブダイセン(700倍)、マンネブダイセン(600倍)、ダコニール(600倍)、オーソサイド(500倍)について行なった。薬害はボルドー合剤にのみ認められた。ダコニール、オーソサイドの2区ではモルヒネ収量が多かった。

xi) 直接抽出に関する試験(春日部試験場と共同)

目的：ケン栽培の省力化をはかるとともにアヘンアルカロイドの生産を効率的に行ない、その供給を確保する。

内容：10a当り風乾さく果240.3kgを得た。

xii) 交配育成試験

目的：早生型系統の交配により早生で生産力の高い系統の育成をはかる。

内容：一貫種、AW×I 6-3-1-1-1-1, I×AR 2-7-10-1-1-1の3系統の相互間の交配を行ない、おのおのの交配種子(F_1)を得た。

xiii) ケンの生産力におよぼす気象要因の影響に関する研究

目的：気象要因とケン生産力との関係を明らかにし、栽培上の資料とする。

内容：昨年度は一貫種について行なった(一学会発表126)が、早生型の2系統について気象要因と生産力との間の相関を検定した。開花期には気温較差大きく、さく果生育期には気温較差大きく曇量少なく日照時間長く、あへん採汁期には降水量の少ないほどモルヒネの生産力が高い。

2. 大麻に関する試験

目的：各地より収集した系統を栽培保存し、鑑定の資料とする。

内容：12系統共結実し保存の目的を達した。

3. ミシマサイコに関する試験

目的：当地方における栽培法を確立する。

内容：除草剤試験と肥料要素試験を実施中である。

4. オウレンに関する試験

目的：当地方における栽培法を確立する。

内容：当場栽培のものおよび林間栽培のもの共に生

育順調である。

5. ハカマオニゲシに関する試験

目的：テバイ原料植物としての栽培法の確立。

内容：秋播，春播共に夏期にほとんど全株が枯死した。

6. 標本薬用植物栽培

目的：一般に展示し，試験の材料とする。

内容：熱帯，亜熱帯産 33 種，温帯産 165 種を栽培。

種子島薬用植物栽培試験場

場長 高城 正勝

概要 本年度の栽培試験は，ハマボウフウ，ミシマサイコ，ウコン，ガジュツ，ニツケイ属植物，ズボインア属植物等について行ない，ハカマオニゲシについてはその性状を調査し，ステビア，タイマ及び台湾産イノコズチ属植物を試作栽培した。

系統保存および展示栽培としては *Rauwolfia* 属，コカ，キナ，クミスクチン，レモングラス，シトロネラ，パチョリ，サンピロート，ウイタニア・ソムニフェラ等であった。

ミシマサイコ及びステビアについては文書以外の問合せが多く，17件あった。

ミシマサイコの生産については栽培希望者が多く，鹿児島県内4か所において栽培指導を実施した。

交換用種子および野生植物の採集調査は島内全域及び鹿児島県西部海岸において行ない，11月には霧島山麓においてキュウシュウサイコを採集した。

研究業績

1) ハマボウフウ

i) 発芽試験

目的：種子島における栽培法の確立。

内容：種子は昭和50年6月，種子島熊野海岸にて採種し，同年7月1日から10日毎に砂土および壊土区を設けて直径30cmの素焼平鉢に1鉢100粒宛插いた。種子100粒重は1.29~2.51gであった。

調査は50年10月28日から実施したが，7月1日に播種した砂土区が98%の発芽率を示して最高を記録した。7月10日砂土区が80%，7月20日同区が86%，8月1日同区が71%，8月10日同区が52%，8月20日同区が40%を示した。砂土に取播きするのが最良の成績を得ることが判明した。

2) ミシマサイコ

i) 3年生植物の生育および収量

目的：3年生植物の収量を知り，種子島における栽

培法の確立。

内容：昭和48年2月21日に箱播きし，同年4月に定植した。10m×10mのは場に畦幅60cm，10cm×10cmの千鳥植え，肥料は基準量を第1回は3月5日に，第2回は5月13日に，第3回は7月4日に追肥した。欠株は月2回調査し，50年12月10日に収穫した。

植付後の欠株率は平均41.2%，収穫株数は1/17a当り平均109本であった。

1/17a当りの乾燥根の収量は651.1g，内主根重が559.6g，細根重が91.5gであった。10aに換算すると主根収量は95.132kg，細根収量が15.555kgである。

ii) 直播及び移植栽培における摘花試験

目的：両栽培の収量を比較し，あわせて摘花試験を行ない，暖地における栽培法の改善および確立。

内容：供試種子は49年12月当场栽培株から採種したもので試験区は1/2aとし，50年2月28日に害虫防除を目的にビニフェートを1a当り500g，ほ場全面に散布した。

摘花はa)地上5cmの部位にて切除，b)地上30cmの部位にて切除，c)放任の3法とした。

直播区50年3月7日に畦幅60cmに播溝を切り，1a当り100gの種子を条播した。発芽開始は3月30日，発芽良好。

移植区50年2月28日に箱播きにし，発芽開始は3月17日，発芽は極めて良好，定植は4月24~25日，畦幅60cmに10×10cmの2条千鳥植えとした。10mの1条溝に199本植え。

肥料は両区とも硫安，過石および塩加を基準量とし，そのほか鶏糞68kg，骨粉8.6kgを施肥した。

本試験では移植30cmの高さで切除した区が良好な結果を得た。なお，摘花及び無摘花による収量の良否は，ほ場試験においては適正な成績が得がたい。

iii) 4種除草剤の濃度用量試験

目的：除草の省力化をはかり，栽培法を確立する。

内容：使用した除草剤は下記のとおりである。

発芽抑制型 シマジン水和剤，カーメックス水和剤。
接触型 クサトール水和剤，グラモキソン水和剤で，使用量は上記4種の薬剤の標準量，1/2量及び2倍量を用いて試験した。

試験は2千分の1aポットを用い，1ポットに30粒宛3月20日に播種した。肥料は成分量として各ポット当り1gを基肥とした。

殺草効果はグラモキソンとカーメックス併用区が顕著に見られた。オオツメクサおよびイネ科の2，3の種はミシマサイコの発芽前に発生するので前述の併用

区は殺草効果大、次いでカーメックス区、クサトール区、グラモキソン区そしてシマジン区の順であった。又殺草効果の完全なもの程葉害も大きくて併用区が最大を示し、次いでカーメックス区、クサトール区、グラモキソン区およびシマジン区の順であった。

3) ウコン

i) 除草剤による殺草試験

目的：省力化をはかり栽培法を確立する。

内容：試験区は8区とし、カーメックス水和剤及びグラモキソン水和剤を標準量及び倍量として用いた。

1区の面積は1/10aとし、土壌線虫防除として植付前に1a当り5kgのネマナックス顆粒を散布した。

植付は5月6日、植付量は各区とも2,441.4g、肥料は当地慣用の基準量を施した。

除草剤の散布時期は第1回が5月6日、第2回が5月26日、第3回が6月2日に散布した。

殺草効果は雑草の種類を問わず、カーメックス標準量および2倍量区およびグラモキソン散布後更にカーメックスを散布した標準量、2倍量区ともに良好な結果を得た。ただグラモキソン区はやや劣る傾向が見られた。カーメックスは殺草効果が強大で、その2倍量区は葉害が顕著に現われ、収量が極めて低かった。

4) ガジュツ

i) 一芽栽培試験

目的：根茎の芽を1個宛切って植付け、栽培法を確立する。

内容：根茎の最下部の芽を第1芽とし、最上部の芽を第10芽として50年5月20日に60×30cmに植付けた。肥料は基準量の1/2を基肥として施し、残量は更に2分して6月13日および7月22日に追肥した。

草丈は第5芽即ち5区が105.9cmで最高、10区が87.2cmで最低であり、葉数は4区が28.5枚で最も多く、8区が15.4枚で最少、分けつ数は4区が4.0本で最高、10区が1.8本で最低であった。

収量は4区が最高で1株平均245.7g、10区が最低で101.6gを記録した。10個の芽の中で特に第4、第5及び第3芽において良い結果を得た。本試験によりガジュツ種いもの切断栽培も可能であり、しかも或る程度の収量を得ることが判明した。

試作

1) ハカマオニゲシ

目的：種子島における栽培の適否を明らかにする。

内容：春日部試験場から49年11月11日に配布の種子5gを11月14日に1aのは場に畦幅90cmに条播した。

発芽は極めて良好。発芽後4月頃までは葉も茂り旺盛な生育を示していたが、気温の上昇と共に黄変萎ちょうし、1月初旬には殆んど枯死した。11月調査の結果、1a当り生存株は僅か4株のみとなった。以上の点から本植物は夏季冷涼な地域に適するものと考えられる。

特別研究報告

Report of Collaborative Study

製剤技術の進歩に伴う医薬品の安全性確認に関する研究

(昭和48~50年)

昭和48年度から開始された特別研究課題「製剤技術の進歩に伴う医薬品の安全性確認に関する研究」は、昭和50年度をもって第一次研究が終了した。引き続き昭和51年度から3ヶ年間の予定で第二次研究が実施されているが、第一次研究が終了した段階で、本研究費によって行なわれた過去3ヶ年間の成果をまとめて報告する。本研究は本所薬品部、生物化学部、薬理部、支所薬品部、支所薬理微生物部の五部の協力によって実施されている。本研究の研究項目は、1) 混合製剤からの各有効成分の分離および定量法、2) 混合製剤中の配合成分の安定性および相互作用の研究、3) 溶出速度と生体試料中の濃度および薬理作用との関連性の研究、4) 混合製剤中の有効成分の吸収、分布、代謝、排泄に関する研究、5) 相乗効果ならびに毒性に関する研究などとなっており、各々がそれぞれの研究項目に沿って適切な研究課題をとりあげ担当したものである。

混合製剤の分析化学的研究

薬品部

1. 高速液体クロマトグラフィーによる総合解熱鎮痛剤成分の分離定量^{1,2)}

【目的】 解熱鎮痛剤成分の液体クロマトグラフィーについてはすでに強酸性イオン交換樹脂カラムを用いて、良好な分離ピークを得たが、長時間を要するため迅速分析には不適当であった³⁾。高速液体クロマトグラフィー用の充填剤がいくつか開発され、多数の化合物が迅速分離分析されるようになってきた。著者らは分配スペクトルおよび分配量の大きなポリスチレン-ジビニルベンゼン系ポラスポリマーヒタチゲル3010および東曹ゲルTSK-110充填剤を用いて高速液体クロマトグラフィーによる解熱鎮痛剤成分の迅速分

離定量を目的とし検討した。

【実験】 装置 検出器：IYATRON LC-1 (吸収波長 254 nm)。ポンプ：ミニマイクロポンプ KYOWA SEIMITSU-KSD-45。

条件 カラム 5 mm (I.D.) × 50 cm。充填剤：日立ゲル 3010 および東曹ゲル TSK-110。移動相：メタノールを主溶媒とする。流速：約 1 ml/min。温度：室温。

【結果】 I 日立ゲル 3010 を用いた結果

解熱鎮痛剤の主成分およびその配合成分はメタノール系の移動相により、Table 1 に示したような溶出順序を示した。これらの成分のほか、スルピリンは経時とともに2~3ヶの分解ピークを示し、またアミノプロピロンは中性の移動相で一定した溶出時間を示さなかった。アスピリンの検出感度は低くて通常の配合量では分析できなかった。マレイン酸クロルフェニラミン、リン酸ヒドロコディン、硝酸チアミン、塩酸 dl-メチルエフェドリンおよびバルピタールは通常の配合量の2倍量で他成分の検出ピークに支障を示すピークを認めなかった。Table 1 に示したようにアセトアミノフェンとニコチン酸アミド、フェナセチンとエテンザミドとの分離は不十分であった。

カラム効率 HETP (一理論段当りの高さ) は約 0.3 mm (移動相：メタノール) であった。

試料液 10 μ l を7回注入して得たピーク高さ (8~9 cm) の変動係数は約 0.8 であり良好と思われる。

以上の結果にもとずき、解熱鎮痛剤の配合成分と Table 1 の分離傾向を照合して、移動相を選択し、市販製剤の分析を行ない好結果を得た。

II 東曹ゲル TSK-110を用いた結果

Table 2 に示したように、日立ゲル 3010 を用いた結果とほぼ同様な傾向を示した。日立ゲル 3010 で用いた移動相のほか、メタノール・酢酸系、メタノール・クエン酸系では塩基性成分は溶出を速めた。メタノール・

Table 1 Retention Volumes of Antipyretic Compounds

Compound	Mobile phase	Methanol	1% v/v n-Hexane in methanol	80% v/v methanol	6% v/v Chloroform in 80% v/v methanol
Acetaminophen		8.4 ml	8.3 ml	9.9 ml	8.8 ml
Nicotinamide		8.6	8.5	9.5	9.3
Salicylamide		9.9	9.8	14.2	11.1
Nicotinoyl 4-aminoantipyrine		9.9	10.8	16.6	13.2
Bucetin		10.7	10.2	20.6	13.0
Phenacetin		12.1	11.3	24.4	14.3
Ethenzamide		12.6	11.6	21.9	15.5
Isopropylaminoantipyrine		15.4	13.6	37.4	26.2
Aminopyrine		15.8	14.0	28.4	20.3
Caffeine		21.2	20.1	23.9	15.1

Column: Hitachi gel 3010, 0.5 (i.d.) × 50 cm

Detector: UV photometer (254 nm)

Flow rate: 1 ml/min

Sample size: 5 μl (sample concentration: 1 × 10⁻² M or 5 × 10⁻³ M in methanol)

Table 2 Retention Times of Antipyretic Compounds

Compound	Mobile phase	Methanol	1% v/v n-Hexane in methanol	80% v/v methanol	5% v/v Chloroform in methanol	1% v/v Acetic acid in methanol	20% v/v Acetic acid in methanol	1% w/v Citric acid in methanol	0.5% v/v Ammonia water in methanol
Acetaminophen		7.7 ml	7.5 ml	8.8 ml	7.5 ml	7.7 ml	7.6 ml	6.8 ml	7.3 ml
Nicotinamide		7.9	7.7	8.8	7.8	8.1	7.4	6.9	7.8
Salicylamide		8.8	8.7	13.7	8.3	8.9	8.1	8.0	5.8
Nicotinoyl 4-aminoantipyrine		10.4	10.2	15.5	9.3	10.4	8.6	8.7	10.2
Bucetin		9.3	8.9	19.5	8.4	9.4	8.1	8.6	9.2
Aminopylon						5.3	5.3	4.5	
Phenacetin		10.3	10.0	22.5	9.1	10.5	9.5	9.4	10.3
Ethenzamide		11.1	10.8	21.9	9.9	10.9	10.8	10.1	10.8
Isopropylaminoantipyrine		12.8	12.4	42.6	10.9	12.8	9.0	11.6	12.7
Aminopyrine		13.1	12.8	28.6	10.1	11.5	6.0	6.2	13.3
Caffeine		18.6	17.8	25.1	14.0	17.3	13.0	16.8	18.4

Column: Toso gel TSK-110, 0.5(i.d.) × 50 cm

Detector: UV photometer (254 nm)

Flow rate: 1 ml/min

Sample size: 55 μl (sample concentration: 1 × 10⁻² M or 5 × 10⁻³ M in methanol)

希アンモニア系では溶出順序にほとんど変化を認めなかったが、ジフェンドラミンなどはピークを認めた。

カラム効率 HETP は 0.2~0.15 mm (移動相: メタノール) であった。

ピーク高さの変動係数は試料液 6 μl を 10 回注入して得たピーク高さ 13 cm (フェナセチン) では約 0.7%, 4 cm (アミノピリン) では 2.5%, 2.6 cm (カフェイン) では 3.4% であった。

以上の結果にもとづき、Table 2 の移動相に照合して分離可能な配合成分の市販解熱鎮痛剤中のフェナセチン、イソプロピルアミノアンチピリンおよびアミノピリンを定量した。その結果はそれぞれ 103.5, 109.6, 98.2 および 103.2% であった (移動相: 3% w/v クエン酸・メタノール液)。

[考察] 日立ゲル 3010 および東曹ゲル TSK-110 を用いて、解熱鎮痛剤成分の分離定量条件を検討し好

結果を得た。Table 1 および 2 と市販解熱鎮痛剤の成分とを照合して、移動相を選択すれば市販製剤の約 1/2 は分離分析が可能と思われる。

発表報文

- 1) 日本薬学会 第 93 年会報告
 - 2) " 第 95 "
 - 3) " 第 89 "
2. 製剤中のバルビツール酸系催眠鎮静剤のけい光および紫外吸収計を用いた高速液体クロマトグラフィーによる分離定量¹⁾

〔目的〕 かぜぐすりなどの解熱鎮痛剤にはバルビツール酸系催眠鎮静剤が他剤に比して少量(大人 1 回量中 30~15 mg) 配合されている。バルビツール酸類の比色定量にはコバルト・アンミン法²⁾ がよく用いられるが、この呈色は感度がよくなく、かぜぐすりなどに配合されるアミン系薬剤の影響をうけるので、混合製剤への適用性におと、また、バルビツール酸類相互の選択性がない。そこで現在は、ガスクロマトグラフィーが適用されている。高速液体クロマトグラフィーによるバルビツール酸類の分離定量については、すでに、Roos³⁾ の報告があるが、この方法では、混合製剤中のバルビツール酸類の分離定量には十分な適応性がないので、製剤への適用を目的とし、簡便で高感度な高速液体クロマトグラフィーを検討した。

〔実験〕 装置 検出器: IYATRON LC-1 (吸収波長 254 nm), けい光の検出には LC-1 の受光部側に励起光遮断フィルター(保谷 HA-50) を付属させた。ポンプ: ミニマイクロポンプ KYOWASEIMITSU-KSD-45, 試料液の注入: セブタム式注入器(オンカラム方式)。各流路系の接続: 耐圧性テフロンチューブ

条件 カラム: 5 mm (I.D.) × 10 cm。充填剤: 日立ゲル 3010 および 3011 を基質とした強塩基性樹脂(それぞれの末尾に N をつけてよぶ), 移動相: メタノール濃度 45~65 v/v%, 金属水酸化アルカリ濃度 0.3~0.01 M, 金属塩濃度 0.3~0.025 M の範囲で検討した。流速: 0.95~1.1 ml/min, 温度: 20.5 ± 0.5°

〔結果〕 種々検討した分離条件の 1 例を Table 1 に示す。アロバルビタール, プタルビタールおよびブタルビタールはほぼ同時に溶出され、またセコバルビタールおよびヘキソバルビタールは分離されないが、他のバルビタール類相互間とは良好な分離ピークを示した。

これらはメタノール濃度および塩濃度に比例して溶出時間を速めるが、溶出順序は変化しなかった。溶出時間のはやいバルビツール酸類にはメタノール濃度約

Table 1 Chromatographic Properties of Barbitals and Antifebric Compounds on Anion Exchanged Hitachi Gel 3011

Substance	P. H.	R. T.	N
Barbital	5.1	9.8	498
Allobarbital	3.6	16.0	548
Butabarbital	2.9	16.4	440
Butalbital	4.1	16.2	496
Cyclobarbital	1.9	20.0	440
Secobarbital	1.7	30.8	465
Hexobarbital	2.9	29.4	391
Phenobarbital	1.6	44.2	605
Aminopropylon	32.0	2.0	219
Nicotinamide	30.6	2.2	439
Aminopyrine	21.4	2.7	230
Caffeine	10.8	2.8	372
Ethenzamide	2.7	4.4	482
Isopropylaminoantipyrine	9.4	4.6	180
Bucetin	22.8	5.7	307
Phenacetin	19.2	6.6	310
Acetaminophen	34.2	9.5	564
Salicylamide	3.4	32.1	784
Aspirin	—	—	—
Sazapirin	—	—	—
Diphenhydramine	—	—	—
Ephedrine HCl	—	—	—
Chlorpheniramine male.	—	—	—

P.H.: Peak height (cm) for substance 1 μg

R.T.: Retention time (min.)

N: Number of theoretical plates

Column size: 0.5 (i.d.) × 10 cm

Mobile phase: 0.04 M NaCl-0.1 N NaOH 60% v/v methanol

Flow rate: 1.1 ml/min.

Detector sens.: 0.08 Auf

55 % (v/v), おそいものには約 65 % (v/v) が適当であった。

他の解熱鎮痛剤成分はサリチルアミドおよびアセトアミノフェンを除き、速やかに溶出されるので、妨害とはならなかった。サリチルアミドおよびアセトアミノフェンは配合バルビツール酸類の溶出時間を考慮して、塩およびメタノール濃度を調節すれば分離できる。

検出感度は移動相のアルカリ濃度によって変化するが、0.02 M NaOH 以上ではほぼ同様で、Roos³⁾ の用いたホウ砂・硝酸ナトリウム (pH 9.0) 移動相より

約2倍向上した。けい光検出計では2~4倍に向上した。

カラム充填剤 3011N の理論段数は約500で3010Nの約5倍であった。

市販かぜぐすり中のバルビタール、シクロバルビタールまたはアロバルビタールの定量に適用したところ、変動係数 1.0~0.7 の範囲で測定された。

発表報文

1) 日本薬学会第96年報告

文 献

- 2) 柴崎, 和田: 衛生試報, 85, 72 (1967)
- 3) R.W. Roos: *J. Pharm. Sci.*, 61, 1979 (1972)
3. ジビリジル鉄による混合製剤中のアミノピリンの比色定量¹⁾

混合製剤中のアミノピリンの定量法として従来は、インドフェノール法またはフェリシアン鉄法、リンモリブデン酸法などがあったが、操作がはん雑で長時間を要する欠点があった。

そこで、水抽出により製剤中よりアミノピリンを抽出し、ジビリジル鉄試液と反応させ、525 nm の吸収極大波長で吸光度も測定し、比色定量する方法を確立した。

妨害物は、スルピリンおよびフェノール系薬剤であるが、これらはあらかじめアミノピリンを選択的に四塩化炭素で抽出することにより妨害性を除去できる。本法は短時間で定量できる利点があるので、総合感冒剤中のアミノピリンの定量に有力な方法である。

発表報文

- 1) 井上, 立沢, 北条: 衛生化学, 20, 223 (1974)

コルチコイド含有軟膏剤の分析 化学的研究

生物化学部

従来から用いられているコルチコイドの定量法であるブルーテトラゾリウム法 (BT 法) およびイソニアジド法 (INAH 法) は、軟膏剤を対象とするとき、それに含まれる基剤および添加物などの妨害によって定量値に相当な過不足を生じることがある。たとえば、152種の市販コルチコイド軟膏剤に繁用されている49種類の基剤および添加物について、これらのBT法とINAH法に対する妨害を検索したところ、過半数のも

のが影響を及ぼし、特に使用頻度の高いプロピレングリコール、オリーブ油、ラノリンなどは相当な過大値を与えることがわかった。したがって、軟膏剤の安全性および有効性を追求するうえにも正確な定量値を必要とすることから、妨害物質の分離除去法および定量法について検討を行なった。

1) 妨害物質の分離除去法 ジラール法の検討¹⁾ 軟膏中の脂溶性および水溶性夾雑物を除去するために、コルチコイドをジラールヒドラゾンの生成と溶媒抽出を組合せることによって分離する方法を検討した。すなわち、この分離法を適用したのち、INAH法で定量すれば大部分の妨害物質の影響が除去されるか、または著しく軽減されることがわかった。しかし、この方法は、ヒドロコルチゾンなど 4^a-3-ケトステロイドに適用できるに過ぎない。

2) 定量法の検討

a) 酵素法²⁾ 20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素で20-ケトステロイドを20 β -ヒドロキシ体に還元する反応を利用するとき、基質特異性が高いために基剤および添加物などの影響は、それらが大量に存在する場合を除き無視することができる。しかし、ステロイド骨格上の各部位に次のような置換基が存在するものは、酵素の基質となりえないのでこの方法を適用することはできない: C-16のメチル基 (ベタメタゾン, デキサメタゾン), C-16とC-17にまたがるアセトニド基 (トリアムシノロンアセトニド, フルオシノロンアセトニド), C-21のエステル (コルチゾン, ヒドロコルチゾン, プレドニゾロンの酢酸エステルおよびヒドロコルチゾンのリン酸エステル; ただし, エステルを加水分解すれば基質となる)。

b) 高速液体クロマトグラフ法 (HSLC 法³⁾ 日立ゲル 3010 のカラムと紫外吸収による検出器を用いる HSLC 法において、各種のコルチコイドの挙動と軟膏基剤および添加物などの影響について検討した。その結果、試料はメタノール抽出液とし、溶離剤に 0.01~1% ジエチルアミンまたは 1% 酢酸を含む 10% ホルメタノール混液を用いるとき、紫外吸収があるために妨害が予想されるバラベン類、塩酸ジフェンヒドラミン、ヘキサクロロフェンなどの 18 種類の添加物は、その溶出時間の大きく変化することがわかった。したがって、この性質を利用することによって大部分の軟膏剤中のコルチコイドの分離定量が可能となり、さらに、HSLC 法のみでは定量が困難な軟膏剤については、薄層クロマトグラフ法を併用することによってほぼ満足できる結果が得られた。

発表報文

- 1) 中路幸男, 太田美矢子, 早川堯夫, 川村次良 : 医薬品研究, 7(1), 17 (1976)
- 2) 早川堯夫, 太田美矢子, 中路幸男, 川村次良 : 医薬品研究, 6(4), 434 (1975)
- 3) 太田美矢子, 早川堯夫, 中路幸男, 川村次良 : 医薬品研究 (投稿中)

医薬品の安定性に関する研究

薬品部

1. スルピリン固形製剤の安定性に関する研究

〔目的〕 スルピリン固形製剤は注射剤と並び広く用いられている。

一般に固体状態などの不均一系における反応は速度論的解析が困難であり, ピラゾロン系薬剤の固体状態における分解については, アミノピリンの酸化に基づく着色に関する研究などが定性的におこなわれているにすぎない¹⁾²⁾。そこで固形製剤中のスルピリンの分解機構の解明を目的とし, 固形製剤において主に問題となる酸化分解反応の速度論的解析を行なうとともに, 湿度や賦形剤など固形製剤の安定性に影響を及ぼす要因について検討を行なった。

〔実験および結果〕 スルピリンの酸化分解を水溶液中で検討した結果, 分解はスルピリン濃度に関して一次反応であり, その速度は銅イオン (Cu^{2+}) の存在によって著しく促進された。また速度は pH 依存性を示し, アルカリ性において大きな分解を示した。溶存酸素量は分解の初速度には影響を与えなかった。なお酸化分解生成物としては, アミノピリンおよび 4-アミノアンチピリンが確認された。

また, 固体状態のスルピリンの安定性を, 各湿度 (30~90% RH) および各賦形剤 (ブドウ糖, 白糖, 乳糖, でんぷん, タルク, セルロース) について検討した結果, その安定性は湿度によって大きく影響をうけ, 賦形剤の臨界湿度と密接な関係が得られた。さらにブドウ糖には特異な分解促進作用が認められた。

文 献

- 1) T. Kametani: *Tetrahedron Lett.*, 40, 4849 (1966)
- 2) 気賀沢ら: *薬剤学*, 33, 31 (1973)

2. スルピリン水溶液の安定性に関する研究

〔目的〕 スルピリンは解熱鎮痛剤として広く利用され, その剤形としては注射剤および固形製剤が多い。

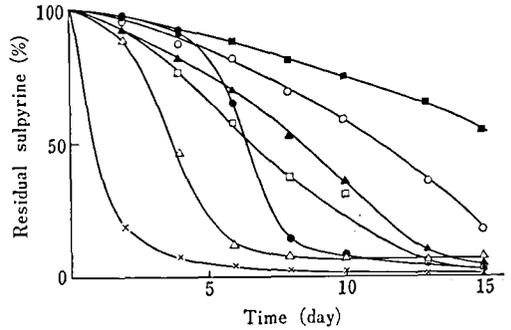


Fig. 1. Effect of Excipient on Stability of Sulpyrine in Solid State at 80° and 81% RH
 ○ no excipient, ● sucrose, × glucose
 ▲ talc, △ lactose, ■ starch, □ cellulose
 Concentration of sulpyrine: 20% w/w

注射剤は2~30% スルピリン濃度のものが大半を占めるが, 低濃度の水溶液では加水分解反応がおこり, スルピリンの安定性に問題が生じてくる。

従来, スルピリンの可逆的加水分解については多くの報告があるが¹⁻⁴⁾, スルピリンと各分解生成物の分離定量に基づいた詳細な速度論的考察はなされていない。そこでスルピリンの加水分解機構の解明を目的とし, 分解に影響を及ぼす諸因子の動力学的検討を行なった。

〔実験および結果〕 pH 0.3~13.0 の領域でスルピリン初濃度, 30 $\mu\text{g/ml}$ ~15 mg/ml にわたって検討した結果, pH 7 以上の領域では, スルピリンの分解生成物として, 4-methylaminoantipyrine (MAA), 4, 4'-[methylenebis(methylimino)] diantipyrine (Bis), 4-(N-hydroxymethyl-N-methyl) aminoantipyrine (HMA) および hydroxymethanesulfonic acid (OMS) が確認され, スルピリンは水溶液中でこれらの分解生成物と平衡に存在することが明らかになり, その平衡値は化学量論に従って濃度依存性を示した。その平衡定数は pH 依存性を示したが, それは OMS の formaldehyde と bisulfite への解離の pH 依存性に起因するもので, 速度定数は pH 依存性を示さなかった。pH 3~6 の領域においても, スルピリンと分解生成物間には平衡が成立したが, 分解速度定数は pH 7 より酸性側では著しく減少し, 加水分解がスルピリンのアニオン型でおこり, 水酸イオンや水素イオンの触媒作用はないことが示された。pH 3 以下では, スルピリンと HMA 間に平衡関係が成立するが, MAA への加水分解は不可逆反応であることが示された。

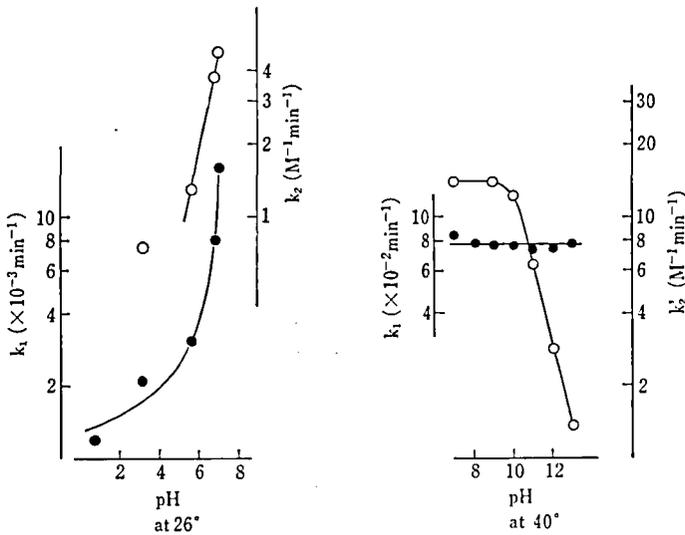
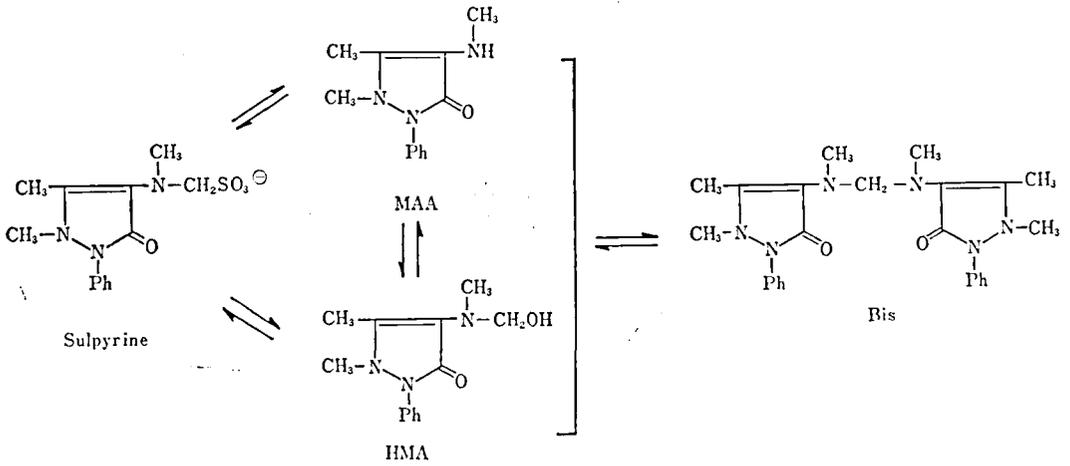


Fig. 2. k-pH Profile for Hydrolysis and Formation of Sulpyrine
 ● k₁ hydrolysis rate constant
 ○ k₂ formation rate constant

発表報文

- 1) 日本薬学会, 第95年会報告
- 2) S. Yoshioka, H. Ogawa, T. Shibazaki, and T. Inoue: Chem. Pharm. Bull. 投稿中

文献

- 1) 鮫島: 薬剤学, 26, 23 (1966)
- 2) 気賀沢ら: 薬誌, 84, 638 (1964)
- 3) 小野ら: 薬誌, 86, 11 (1966)
- 4) 川村ら: 薬誌, 88, 554 (1968)

Pyrabital の溶解速度に及ぼす
 添加物の影響

薬品部

pyrabital は aminopyrine 及び barbital 2 : 1 の割合からなる分子化合物であるが, その溶出挙動並びに溶出速度に及ぼす添加物の影響について検討した。

Pyrabital と添加物 (1 : 1) の混合物にステアリ

ン酸マグネシウム1%を添加し、径8 mm, 200 mgの錠剤を打錠した。溶解試験装置はピーカー法(200 r.p.m.)及び崩壊試験装置を、溶媒は0.1 N-HCl及び第二液(JP VIII)を用い、実験は37°で行った。

aminopyrineの溶解度はbarbitalの溶解度のpH 1においては約8.7倍、pH 7.4においては約3.6倍であり、またpyrabitalの飽和溶液中でもaminopyrineはbarbitalの4~5倍量存在するにもかかわらず、pyrabitalからaminopyrineとbarbitalとは常に2:1の割合で溶出した。CMC, potato starch等の崩壊剤を添加した錠剤はすべて崩壊し、pyrabitalの溶出も2分以内に終了した。lactose, PVPを添加した錠剤は約20分で溶解が完了したが、talcを添加した錠剤ではpyrabitalの溶解は極端に抑制され、またCaHPO₄, MgO·Al₂O₃·2SiO₂を添加した場合は0.1 N-HCl中に比較し、第二液中での溶解速度は遅かった。pyrabitalの溶解には表面積とともに、添加物の溶媒に対する溶解度が影響していると考えられた。ピーカー法と崩壊試験装置とでは、装置間の差はあまり認められなかった。ほとんどの錠剤は約90%溶解するまでHixon-Crowellの式に従い、またWeible分布plotは直線となった。Weible分布のb値はすべての錠剤で1以上であったが、崩壊剤を含む錠剤のb値は有意に高く、溶解patternが極端なsigmoid型であることを示している。

医薬品の溶出試験法に関する研究

大阪支所薬品部

製剤のbioavailabilityは有効量と中毒量が近く排泄速度が濃度依存性である薬物にとって問題であり、重症患者に投与される強力な薬物であるほど、bioavailabilityのわずかの差が重要となる。さらに、消化管から吸収される薬物の溶解速度が問題になる場合は、薬物の水への溶解度が約0.5%以下の難溶性のものが多い。すなわち、溶出試験は薬物のbioavailabilityと溶出が相関するような薬剤を対象とする場合には崩壊試験と同様に製剤の品質管理の規格試験として重要な指標となる。

しかしNF VIII¹⁾溶出試験の項の前文に“溶出試験は試験された製剤の安全性あるいは有効性を測定したり、保証することを目的としてはいないが、この*in vitro*の溶出試験の結果が*in vivo*の成績あるいは臨床的評価と相関性を有することによって保証される”と記載されているように、溶出試験は試験された

製剤の安全性あるいは有効性を測定したり、保証することを目的としていない。

そこで、著者らは種々の装置を試作し、攪拌状態および攪拌力などの基礎的な検討をし、各装置の特長について市販製剤で検討を行なった。さらに溶出溶媒の検討も行なった。

1. 攪拌状態および攪拌力

簡単で、データのばらつきが少なく、再現性があり、攪拌の程度を調節しうるといふ点から、ピーカー法と回転バスケット法を選択した。溶出液の攪拌効率にはポリスチレン粒子あるいはアマランス KBr 錠をもちいて観察した。

すでに回転バスケット法は、低速の攪拌時に溶出された薬物の濃度が不均一であるという欠点があることは良く知られている²⁾。水に不溶なポリスチレン粒子(比重1.06の40~48 meshの粒子)の回転バスケット法においても50 rpmの低速時ではWitheyら³⁾も指適しているようにバスケット下部の液の流れが渦巻状となる。しかし、100 rpm以上では粒子の動きは円滑となり、液の攪拌は良好となることが認められた。一方、ピーカー法の場合も低速時には攪拌が不十分となり、ポリスチレン粒子が溶出液槽の器底に沈着するが、100 rpm以上の攪拌によって均一性は認められた。

そこで、50 rpmのような低速回転時にバスケットの下部に回転方向に対して角度135°の二枚翼を付けると攪拌の均一性が得られた。

さらに、低速時におけるアマランス KBr 錠(アマランス4.2%を含むKBr錠900 mg)の溶出状態を観察するとき、二枚翼付バスケット法が溶出量のばらつきが一番少なく、攪拌効果も優れていることがわかった。ピーカー法では、アマランス KBr 錠がピーカーの底部に固定するため、溶解表面積が減少するので溶出量は他の方法よりも著しく遅れることが認められた。回転バスケット法では50 rpmのような低速回転時の色素の溶出状態はバスケット下部に二枚翼を付けると攪拌むらが消し、100 rpm以上の高速回転時には溶出液槽内は均一に攪拌されることがわかった。

2. 熱量測定による溶出試験装置

固形製剤からの主薬の溶出速度を測定する方法には種々の分析法があり、紫外あるいは可視などの分光法^{4)~6)}および比色法^{7)~8)}がよく用いられている。また、医薬品の溶解熱を利用した熱量測定法もある⁹⁾。

そこで熱量測定による溶出試験について、デュワーびんを用いた恒温型熱量計を試作し検討した。攪拌は300 rpmの三枚翼の攪拌棒を用いた。恒温水槽の

温度を $37 \pm 0.005^\circ$ に制御することにより、安定なベースラインを得ることができた。

アスピリン結晶の粒子径の違い、および打錠圧の異なる自製錠剤について検討したところ、微細粒子の結晶の方が速く溶解し、打錠圧の低いアスピリン錠の方が速く溶出した。

熱量測定による溶出試験が可能な市販製剤（アスピリン錠、メプロバメート錠、スルフイソミジン錠、インドメタシンカプセル剤）について試みたところ、錠剤は崩壊、溶出の過程で、主薬が徐々に溶出していく状態が観察されるが、カプセル剤の場合はカプセルからの主薬の放出が不均一であるため、不連続な溶出状態が認められた。

熱量測定法は、とくに結晶の粒子径および打錠圧と溶解性との関係など、基礎的研究に有効な方法であると考えられる。

3. pH 変化を伴う連続流出法による溶出試験法

固形製剤が胃から腸へ消化管内を移行するとき、pH は酸性からアルカリ性へ変化する。したがって、アルカリ性側で溶解する主薬や製剤は、酸性側では溶出されず、アルカリ性側で溶出される必要がある。

そこで、回転バスケット法を利用し、簡易かつ便利な pH 変化を伴う連続流出法の溶出試験装置を試作した。液の流出および流入はマイクロチューブポンプをもちい、酸性側溶出溶媒に 8 局崩壊試験法第 1 液を、アルカリ性側溶出溶媒に 8 局第 2 液をもちいた、pH は第 2 液の流入により gradient に変化させた。溶出量の測定はフローセルをもちいて自記分光光度計で測定した。

まず、異なった pH でのカプセルの溶解状態およびアマランス-結晶セルロースカプセル剤の溶出状態について調べたところ、酸性側での溶解は速いが、アルカリ性側では若干溶解の遅れが認められた。

インドメタシンの溶解度はアルカリ性側の方が酸性側に比し数倍大きく、そのカプセル剤の場合、pH 変化を伴う溶出試験器をもちいて検討したところ、市販の製剤の種類により酸性側ですでに飽和濃度まで溶出されるものほとんど溶出しない製剤とがある、後者はアルカリ性側で急速に溶出速度が増大した。

したがって、pH 変化を伴う溶出試験器は主薬の pH 変化に伴う溶出状態を同一装置内で観察できた。しかし、流出液の濾過時にガラスフィルターの日づまりが起るため一考を要することがわかった。

4. 溶出溶媒について

薬物の溶解速度におよぼす溶出溶媒の影響を回転円板法をもちいて検討した。

アスピリンの溶解速度は pH が高くなるにつれて増大した。また、アスピリンの吸収部位は pH 3 あるいは 4 ぐらいの小腸上部といわれている¹⁰⁾。しかし、アスピリンは加水分解によりサリチル酸を生じ、pH 約 2 付近が一番安定¹¹⁾ であるため、溶出溶媒として 0.01N 塩酸 (pH 2.0) をもちいるのが良い。

トルブタミド製剤の溶出溶媒として USP XIX には Tris-塩酸緩衝液が採用されているが、Mattock ら¹²⁾ は Tris-塩酸緩衝液の pH が温度に影響されやすいので温度による pH 変化の少ないリン酸緩衝液の採用を推奨している。そこで、Tris-塩酸緩衝液およびリン酸緩衝液についてトルブタミドの溶解速度に及ぼす pH の影響について検討した。pH がわずか 0.4 の差異で、Tris-塩酸緩衝液における溶解速度は大きく変化するが、リン酸緩衝液では小さかった。したがって、pH による溶出速度の影響および温度による pH 変化の少ないリン酸緩衝液が適当な溶出溶媒であると認められた。

文 献

- 1) *The National Formulary*, 13th ed., 802 (1970)
- 2) R.J. Withey: *J. Pharm. Pharmac.*, 23, 573 (1971)
- 3) G. Levy: *J. Pharm. Sci.*, 50, 388 (1961)
- 4) *The United States Pharmacopeia*, 19th rev. (1975)
- 5) R.N. Nasipuri, A.H. Khalil: *J. Pharm. Sci.*, 62, 473 (1973)
- 6) 齊藤太郎, 鈴木清二, 南部直樹, 永井恒司: *薬剤学*, 34, 143 (1974)
- 7) J.W. Poole, G.M. Irwin, S. Young: *J. Pharm. Sci.*, 60, 1850 (1971)
- 8) 北澤式文, 前田 温, 伊藤洋子, 岡田寿太郎: *薬誌*, 95, 872 (1975)
- 9) 福沢 寿, 仲井由宜, 権津和雄, 中島新一郎: *薬剤学*, 30, 21 (1970)
- 10) 日本公定書協会: 第八改正日本薬局方第一 部 解説書, 広川書店, (1971)
- 11) E.R. Garrett: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 3401 (1957)
- 12) G.L. Mattock, I.J. McGilveray, R.D. Hossie: *J. Pharm. Sci.*, 61, 460 (1972)

配合薬物の生体内における相互作用 および薬効におよぼす剤型の影響に 関する薬理学的研究

薬理部

1. 薬物の消化管吸収および薬効におよぼす併用薬物の影響

ある種の薬物は、胃内容排出速度 (gastric emptying rate; G.E.R.) に影響を与えることにより経口投与された薬物の吸収、分布を変化させ、ひいては薬効をも変動させることが知られている。そこで、現在一般に用いられている薬物のうち特に消化管障害の多くみられる 10 種の解熱・鎮痛薬について、それらの薬物が G.E.R. や同時投与薬物の組織内濃度および薬理作用におよぼす影響を雄ラットを用いて検討した。

フェノールレッドと被検薬物をそれぞれ同時に経口投与し、30 分後におけるフェノールレッドの胃内残存率から G.E.R. を算出したところ、塩酸ベンジダミン、イソプロピルアンチピリン、アンチピリン、スルピリン、オキシフェンブタゾンにより対照群の 4~2 倍の遅延がみられたが、フェルブタゾン、ジフェニルオキシピラゾリジン、アミノプロピロン、ケトフェニルブタゾンでは有意の変化は認められなかった。これらの薬物とカリソプロドールとの同時投与後 30 分におけるカリソプロドールの血中濃度の上昇抑制と G.E.R. 遅延との間には相関関係 ($r=0.87$) が認められた。また G.E.R. を著明に遅らせた塩酸ベンジダミンは、同時に経口投与したカリソプロドールの筋弛緩作用を減弱させたが、G.E.R. に影響を与えなかったフェルブタゾンではカリソプロドールの作用にも影響はみられなかった。さらに、塩酸ベンジダミンを経口投与した直後にカリソプロドールを十二指腸内に直接注射したラットにおけるカリソプロドールの血中濃度は、対照群との間に有意の差を示さなかった。したがって、経口投与したカリソプロドールの血中濃度上昇や筋弛緩作用の強さに関してみられた塩酸ベンジダミン投与群とフェルブタゾン投与群との間の差異は、G.E.R. の異同によることが示された。

2. 雌胎仔の男性化におけるステロイドホルモン剤の相互作用

月経周期調節の目的で、合成黄体ホルモン剤と卵胞ホルモンとの合剤が広く使用されている。ところが、合成黄体ホルモン剤にはテストステロンを母核とするものがあり、したがって男性ホルモン作用を発現する

ことがある。このような薬物を妊娠中期以後に、諸疾患の治療あるいは流産予防の目的で使用した場合、女性胎児の外性器に男性化を生じる。そこで、女性胎児の男性化作用試験法としてラット雌胎仔の泌尿生殖中隔短縮を指標に判定する方法を確立し、この方法によりノルエチノドレル (合成黄体ホルモン剤) とメストラノール (合成卵胞ホルモン剤) のラット雌胎仔におよぼす影響について、それぞれ単独投与の場合と両者併用投与 (ノルエチノドレル 98.5%, メストラノール 1.5%) の場合とを比較検討した。

ノルエチノドレルは 5 mg の投与で、またメストラノールは 0.075 mg 以上で泌尿生殖中隔に有意の短縮がみられた。また両者併用の場合は同用量のノルエチノドレルより強い作用が認められた。これらの成績を解析した結果、卵胞ホルモン剤添加による基質エロイドの男性化作用の増強は相加作用であることが確認された。

3. 錠剤の溶出速度と薬効との関係

錠剤は胃内で崩壊し、胃乃至は腸内で溶解して吸収される。一方、錠剤を実際に投薬した場合、同一薬物、同一用量でも薬効に大きな差が生じることが、しばしば認められている。その要因の一つとして、剤型の種類 (賦形剤) による溶解までの時間の異同が薬効発現に影響を及ぼしていることが考えられた。そこで、この点について、薬品部から提供された錠剤を用いて検討した。薬物はクロルプロマジン塩酸塩を用い、50% 溶解までの崩壊-溶解時間が約 1 分の錠剤 (A)、約 20 分のもの (B)、どうしても 50% に達せず、10% 溶解に 5 分を要するもの (C) の 3 種類の錠剤 (直径 3 mm, 15~20 mg/1 錠) を、若干改良した胃ゾンデでラット胃内に水 1 ml と共に投与し、6° の環境温下で直腸温をポリグラフで記録した。各賦形剤より成るプラセボは 4 時間後でも殆んど体温を変化させなかった (プラセボ (A) 0.4°, (B) 0.1°, (C) 0.2° の低下)。各種クロルプロマジン錠剤を投与したラットの体温は錠剤 (A) では投与 4 時間後で平均 8.4° 低下し以後更に低下が続いた。錠剤 (B) ではバラツキは大きい が 4 時間後で平均 2.9° 低下し、依然低下傾向がみられた。これに対し錠剤 (C) 投与 4 時間後の体温低下は平均 0.8° でバラツキも大きい が、回復傾向を示した。同時に血中濃度を測定する必要があるが、これらの結果から推論すると bioavailability の最も大きな因子は胃あるいは腸内における錠剤の賦形剤の種類による崩壊-溶解速度の差ではないかと考えられるが、更に検討の必要がある。

以上のことから、医薬品の bioavailability を確保するためには、個々の薬物単独の薬理作用を検討するのみならず、製剤化された場合の剤型による影響や数種類の薬物を同時に摂取した場合の配合薬物間の相互作用についても十分に検討する必要があると考える。

発表報文

- 1) Japan. J. Pharmacol. 23, 745 (1973)
- 2) Endocrinol. Japon. 22, 439 (1975)
- 3) 第47回日本内分泌学会総会(1974)
- 4) 第14回日本先天異常学会総会(1974)

発熱時における解熱剤の薬効と吸収、代謝に関する研究

大阪支所 薬理微生物部

近年、臨床面での治療薬の副作用が社会問題となっている。これらの治療薬の副作用をチェックするためには人間の疾患に近似している病態実験動物の使用による治療薬の吸収、代謝、排泄および薬効の検討が望ましい。

われわれは以前より細菌性発熱物質(=発熱物質)を家兎に静注することによって誘発させた発熱現象について、その誘発機作ならびにそれに伴って起る諸現象の解明を行なって来た。この発熱状態を用い解熱剤の吸収、代謝、排泄を追究する目的で本研究に着手し、その研究成果について報告する。

1. 家兎発熱時におけるアスピリン(ASA)の吸収、代謝、排泄について

発熱時における解熱剤として広く使用されているASAの吸収、代謝、排泄については、いまだ十分に検討されていない。そこで、これらの点について解明を試みた。まず、*E. coli* lipopolysaccharide(=発熱物質)を0.2 μg/kg 静注を行ない発熱の状態に対しASAの前投与あるいは後投与の解熱効果がどの様に示すかを検討した。その結果、ASAは24時間前投与を除いてすべてその抑制効果を示した。特に3時間前にASAを投与した場合が最も強い抑制効果を示したことは今後、ASAの解熱効果の機作究明に重要な示唆を興えたと考える。また、発熱物質投与後のASAの投与についても検討したが、いずれの場合も投与後、直ちに解熱効果を示した。

一方、発熱物質を静注後、直ちにASAを経口投与した場合、その血漿中のASA濃度は正常時におけるASAの血漿中濃度よりわずかに高い値を示した。しかし、発熱物質投与後2時間後にASAを経口投与し

た場合は、2.5~3倍の高いASA濃度を示した。これらの成績からわれわれの主張している病態下における解熱剤の吸収、代謝、排泄を研究するうえに発熱物質投与後、発熱がほぼ最高に達する2時間目を実験の最適条件として設定し、以下この条件下で実験を行なった。上記条件下で実験を行なった結果は次の通りである。すなわち、発熱物質投与2時間後ASAを投与するとき、正常時ASAを投与する場合よりもASAの血漿濃度は約2.5~3倍と著明に増加した。また、ASAの主代謝産物のサリチル酸(SA)が投与後24時間目においても血漿濃度が正常値(=SAは殆んど認められない)に比べて約10倍と著しく高い値を示した。さらに、これらの機作についても若干の検討を行なった結果、発熱物質投与による胃内容排出速度の低下、胃液分泌の低下が一役を荷っていることを推定した。これらの結果はASAの副作用の点において重要な問題を提起したと考える。

2. 家兎発熱時におけるピリン系解熱剤の吸収、代謝、排泄について

ピリン系解熱剤としてアミノピリン、アンチピリンについて前述同様、発熱物質投与2時間後アミノピリン、アンチピリンを経口投与し、その吸収、血漿中の挙動を究明した。その結果は投与15分、30分において正常時投与に比べて正常値の約40%、60%と著しく低い値を示し、その最高値に達する時間もやや遅れる傾向にあった。これらの現象の機作の解明を若干行なった。すなわち、ピリン系解熱剤は主として腸より吸収されると考えられる。この過程を抑制する事実として発熱時は胃排出量は正常時に比べ約20%低下を示した。また、生物学的半減期についても検討し、発熱時において明らかに短縮されたことから両解熱剤の血漿濃度の低下が起ったと考えられる。

以上のことから、これら解熱剤の臨床上の投与経路が問題となることを暗示したと考えている。

3. 家兎発熱時における複合剤の薬効と吸収、代謝、排泄について

近年臨床においては種々の疾患の治療に2種以上の薬剤を併用し、多面的な効果を期待する傾向が強くなって来た。すなわち、副作用を減弱したり、効果を増大することもあるが、逆に副作用の増大や効果の相殺を引き起すこともある。これらの基礎的研究については、まだ充分でない。われわれは前記ASAとアミノピリンの併用について検討し若干の興味ある知見を得られた。

すなわち、ASAとアミノピリンを併用したときの発熱に対する解熱効果とそのときの両薬物血漿濃度に

ついて検討した。

ASAとアミノピリンを各々単独で発熱物質0.2 µg/kg i.v. 投与2時間後に経口投与した。ASAを500 mg/kg, 375 mg/kg, 250 mg/kg, 125 mg/kgとその投与量を1/2量つづ減少して行くに従ってその発熱抑制効果も42%, 33%, 27%, 16%と減弱した。一方、アミノピリンも同様100 mg/kg, 75 mg/kg, 50 mg/kg, 25 mg/kgと経口投与量を減少させて行くに従って発熱抑制効果も46%, 35%, 27%, 18%と減弱することを認めた。

しかし、これら二者の併用による解熱効果についてはASAとアミノピリンの併用割合を375 mg/kgと25 mg/kg, 250 mg/kgと50 mg/kg, 125 mg/kgと75 mg/kgとし前記同様発熱物質投与2時間後に経口投与してその発熱抑制効果を検討した。すなわち、ASAおよびアミノピリン単独の解熱効果はその投与量の増加に従って増大したが、しかし、アミノピリンとASAの組合せを75 mg/kgと125 mg/kg, 25 mg/kgと375 mg/kgの併用の解熱効果は両薬物の単独効果から予想される期待値と実験上から示される解熱効果は予想に反し、期待値よりも実際の解熱効果はやや減弱された。これら解熱効果を決定する因子としてのこれら解熱剤の血漿中濃度を検討した。すなわち、前記の組合せで同様の条件下で経口投与した場合、ASAアミノピリンの血漿中濃度はそのおのおのの単独投与よりも低い値を示した。特にアミノピリン75 mg/kgとASA125 mg/kgの組合せの場合が著明であった。この実験結果は上記の解熱効果における減弱の結果をまねいたと考えられる。

4. 家兎発熱時におけるスルファニールアミドの吸収、代謝、排泄について

化学療法剤としてのサルファ剤の基本骨格であるスルファニールアミドの消化管よりの吸収を検討した。すなわち、発熱物質投与2時間後にスルファニールアミド500 mg/kgを経口投与した結果、血漿中のTotal型の濃度は経口投与後1時間目、2時間目において正常時におけるその血漿中の濃度と比べると約40%と約20%と著明に低下している。しかし、Conjugate型は著しい差異は認められなかった。この結果は腸管よりの吸収が遅れたことが1つの原因と推定される。

以上4つのテーマについて過去3年間研究を行なってきた結果を報告した。この研究を通じて臨床的な面からも発熱している患者に対する内服薬の適用にあつて基礎的な薬理効果を十分に検討した上で行なうことが必要であると痛感した。また、近年盛んに使用されている複合剤においてもその期待に反する事実が明確になり、臨床面での予想し得ないトラブルが生じない様に十分な基礎的研究を行なう必要があると考える。さらに、現在広く使用されている薬剤においてもその薬剤の効果を人間の疾患に近い病的状態を起した実験動物を使用しての基礎的研究が行なわれることを期待したい。

発表報文

- 1) 日本薬学会, 第93年会報告
- 2) 日本薬学会, 第94年会報告
- 3) 日本薬学会, 第95年会報告

食品に関係ある諸物質の安全性に関する研究

(昭和年48~50年)

昭和45年度から開始された特別研究課題「食品に関係ある諸物質の安全性に関する研究」は、昭和47年度に第一次研究を終了し、衛生試報第91号(昭和48年)p.139に報告した。第二次研究は昭和48年度より昭和50年度までの3年間に行なわれたので、その業績をまとめて報告する。

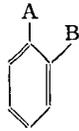
カルバメート系農薬の代謝変換にもなう毒性の変化について

食品部

研究目的 カルバメート系殺虫剤は環境や動植物体内での分解や変換が非常に速やかであることと、作用機構が主としてコリンエステラーゼ(ChE)阻害のみから説明され標的が明らかであるため安全性評価が容易と考えられることとの2つの利点から、塩素剤等に代り使用量の増えつつある農薬である。

このカルバメート剤の安全性に関連して現時点で確認しておかねばならぬ残された問題点は何かという次の2点であろう。1つはいわゆるmetabolic activation即ち代謝物の中に原体よりも作用が強いものは

Table 1. Cholinesterase Inhibiting Concentration of BPMC Metabolites

Chemical structure		IC ₅₀ (M)	
		Bovine erythrocyte	Mouse serum
	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> A B </div>		
1. (BPMC)		5.2×10^{-6}	7.5×10^{-5}
2. OCONHCH ₂ OH	CHCH_2CH_3 $ $ CH_3	3.3×10^{-5}	3.9×10^{-3}
3. OCONH ₂	CHCH_2CH_3 $ $ CH_3	3.3×10^{-5}	3.9×10^{-4}
4. OCONHCH ₃	$\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ $ $ CH_3	1.8×10^{-4}	3.6×10^{-4}
5. OCONHCH ₃	$\text{CHCH}(\text{OH})\text{CH}_3$ $ $ CH_3	2.3×10^{-4}	4.8×10^{-4}
6. OCONHCH ₃	$\text{C}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_3$ $ $ CH_3	2.9×10^{-4}	4.8×10^{-4}
7. OCONHCH ₃	CHCOCH_3 $ $ CH_3	1.7×10^{-4}	2.8×10^{-4}
8. OCONHCH ₃	CHCH_2COOH $ $ CH_3	1×10^{-2}	1×10^{-2}

無いかという点であり、第2は残留農薬として食品衛生的には問題は少くとも農家で使用される際に何か労働衛生的に生じる問題は無いかということである。本研究はこの2点を解明することを目的としたものであり、対象としては国産カルバメート剤中最も消費量の多い BPMC (*o*-sec-butylphenyl *N*-methyl carbamate) をえらんだ。

研究方法 BPMC の metabolic activation: 従来の農薬生化学上の知見から判断して、BPMC の代謝物の中で metabolic activation を考慮して検討する必要のある代謝物は、主としてカルバモイル基を残し側鎖の酸化されたものである。微生物を用い BPMC を代謝させ Table 1 記載の諸代謝物を得、牛血球真性 ChE とマウス血清偽性 ChE とに対する各代謝物の阻害を DTNB 法で測定し IC₅₀ を求め、代謝物の構造と阻害力との相関を求めた。

ニトロソカルバメートの微生物に対する突然変異誘起性: カルバメート系農薬施行作業者が蒙る影響として ChE 阻害の他に、多量のカルバメート剤の経口侵入につづく胃内でのニトロソ化によって生じるニトロソ体の変異原性を考慮しておくことが必要である。わ

が国で使用されている代表的カルバメート殺虫剤8種を化学的にニトロソ体に誘導し、それらの変異原性を back mutation 法および rec-assay 法により検討した。(衛生微生物部と協同実験)。

研究結果 1) BPMC はベンゼン核の1位に -OCONHCH₃、2位に -CH(CH₃)CH₂CH₃ を有するが代謝により両側鎖に修飾をうけると Table 1 に示すようにいずれも ChE 阻害力が低下し metabolic activation のおそれは無いものと判断された¹⁾。

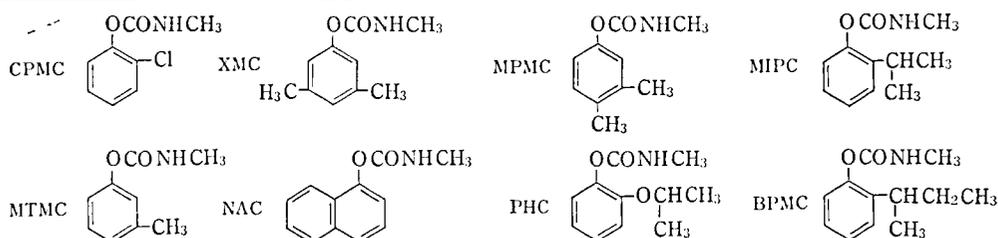
2) ニトロソカルバメートは Table 2 に示すように MMNG や MMC に匹敵あるいはそれらを凌ぐ変異原性を有する。したがって胃内でのニトロソ化を考慮に入ればカルバメート剤を使用する作業時には取扱いに安全を期し、大量摂取を防止するよう留意すべきであろう²⁾。

発表論文

- 1) 鈴木, 武田, 内山: 衛生化学, **21**, 330 (1975)
- 2) M. Uchiyama, M. Takeda, T. Suzuki, K. Yoshikawa: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **14**, 389 (1975)

Table 2. Minimum Amount of Nitrosocarbamates Required for Positive Mutagenicity in Microbiological Assay

Utilized system Compound	Back mutation <i>Escherichia coli</i> B/r WP-2 try ⁻	"Rec-assay" <i>Bacillus subtilis</i> Marburg 45 T and 17 A
NO-CPMC	0.5 µg/plate	0.5 µg/plate
NO-MTMC	1.0	1.0
NO-XMC	5	0.5
NO-NAC	5	5
NO-MPMC	10	0.5
NO-PHC	50	0.05
NO-MIPC	50	0.01
NO-BPMC	50	0.005
MNNG*	0.5	50
MMC**	—	0.5



* MNNG: *N*-methyl *N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

** MMC: mitomycin-C

ニトロソ化合物の生成に関する研究

食品添加物部

ニトロソ化合物は、2級アミンやアミド化合物などと亜硝酸塩とから生成するが、この亜硝酸塩は食品添加物として使用されているほか、唾液中にも比較的多量に含まれている。この唾液中の亜硝酸塩の由来について検討を行なった。また食品に含まれる2級アミン、グアニド化合物および農薬と亜硝酸塩との反応について *in vivo*, あるいは *in vitro* で検討を行なった。

1) 唾液中の亜硝酸塩の由来

ヒト唾液中に認められる亜硝酸塩の濃度は食事により大きく影響された。特に白菜漬、ほうれん草等の硝酸塩を高濃度に含有する食品を摂取した後に硝酸塩、亜硝酸塩共に急激に増加した。この原因は食品に含まれる硝酸塩が唾液中に分泌され、口内微生物によって還元される事であった。

2) ジメチルニトロソアミン (DMNA) の生体内生

成

ヒト口腔内にジメチルアミン、硝酸ナトリウム混液を15分間貯留し、DMNAの分析を行なったが検出できなかった。しかし唾液より分離した数種の細菌を前記前駆物質と共に保温したところ、数ppmのDMNAが認められた。また分離菌を同前駆物質と共にモルモット胃内に投与したところ、約1µgのDMNAが検出された。

3) 食品に含まれる2級アミン、グアニド化合物と亜硝酸塩の反応

2級アミンとしては魚類、大豆等に含まれるピペリジン、脂肪酸エステルとして食品添加物に用いられるモルホリンを、またグアニド化合物としては肉類中に多く含まれるクレアチンおよびグリコシアミンを選びこれらが亜硝酸塩と反応してニトロソ化合物を生成する速度について検討した。人の胃内に近い条件で、2級アミンのニトロソ化の初速度は、亜硝酸塩の濃度の2乗に比例し、グアニド化合物がニトロソ化合物になるときの初速度は、亜硝酸塩の濃度に比例したが、ニトロソ化合物の生成はモルホリン以外はきわめて遅かった。

4) カルバメート系殺虫剤と亜硝酸塩との反応

カルバメート系殺虫剤のうち、3-メチル-フェニル-N-メチルカルバメート (MTMC)、3,4-ジメチルフェニル-N-メチルカルバメート (MPMC)、ナフチル-N-メチルカルバメート (NAC) について亜硝酸塩との反応を検討した。反応生成物の N-ニトロ誘導体は光に対してきわめて不安定であり、酸性が強くなるにしたがい分解が速くなった。また、MTMC と亜硝酸塩との反応速度は、N-メチルウレタンの約 1/400、エチル-N-エチルカルバメートの 1/4 であった。

発表報文

- 1) T. Yamada, M. Yamamoto, A. Tanimura : *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 15, 201 (1974)
- 2) M. Yamamoto, T. Yamada, A. Tanimura : *ibid.* 15, 461 (1974)
- 3) M. Harada, H. Ishiwata, Y. Nakamura, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.* 16, 11 (1975)
- 4) H. Ishiwata, P. Boriboon, Y. Nakamura, M. Harada, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.*, 16, 19 (1975)
- 5) H. Ishiwata, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.* 16, 89 (1975)
- 6) H. Ishiwata, P. Boriboon, M. Harada, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.* 16, 93 (1975)
- 7) H. Ishiwata, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.* 16, 234 (1975)
- 8) H. Ishiwata, A. Tanimura, M. Ishidate : *ibid.* 17, 59 (1976)
- 9) M. Yamamoto, T. Yamada, A. Tanimura : *ibid.* 17, 176 (1976)
- 10) T. Yamada, M. Yamamoto, A. Tanimura : *ibid.* 17, 182 (1976)

腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究

—サイクラミン酸ナトリウム—

衛生微生物部

昭和 45 年度第一次研究において、サイクラミン酸ナトリウム (CHS-Na) のシクロヘキシルアミン (CHA) 転換を種々な動物を用いて試みた結果、この転換に関与するものは肝ではなく、腸管内微生物であることを明らかにした。

第二次研究では、この一次研究に引き続いて CHA 転換に関与する腸管内微生物の検索に必要な培地を検討すると共に CHS-Na 経口投与サルならびにウサギ、モルモットの糞便内マイクロフローラの動態から転換菌の検索を試みた。

培地の検討

pH 8.0 に修正した CHS-Na 0.25% 添加 BC 液体培地の 14 日間嫌気性振とう培養が最も高率に CHA を産生した。

CHA 排泄動物の糞便内マイクロフローラの消長

CHS-Na を投与し、CHA を常に 1 日約 100 mg を排泄しているサルの糞便と CHS-Na 未投与サルのそれとを比較し転換菌の検出を試みたが、フローラにおいて特に指摘しうるほどの相違が認められず、CHS-Na 250 mg/kg 投与量の程度では CHS-Na が糞便内マイクロフローラの構成に何の変動をもたらししていないという結果を得た¹⁾²⁾。

そこで CHA 排泄サルの糞便を転換菌の源とみなし、この糞便をフローラの異なるウサギならびにモルモットの盲腸内に注入してサル由来転換菌の腸管内定着を試みたところ、両動物とも糞便注入前と比較して *Clostridia* においてのみ検出率が高く認められる傾向を示した³⁾。

in vitro における転換菌の微生物学的追求

CHA 排泄モルモットの盲腸内容物を *in vitro* に接種して 14 日間培養し、CHA 産生と盲腸内フローラの消長をみたところ、CHA 産生と *Clostridia* ならびに *Bacteroidaceae* の間に相関が認められた。そこでこの培養液を数十代にわたって継代培養を続けながら CHA の産生を指標において、抗生物質によるスクリーニング、温度差などを利用して転換菌の分離を試みたが、いずれの方法も CHA 産生能が直ちに失活し、現在希釈法により 2 種の *Clostridium* と偏性嫌気性菌のグラム陽性ならびに陰性の桿菌 1 種類ずつを分離し、かつこれらの菌種を組合せて培養した場合にのみ CHA が産生されることを確認した⁴⁾。

発表報文

- 1) 松井道子, 林 長男, 谷村顕雄, 倉田 浩 : 食衛誌, 17, 48 (1976)
- 2) 松井道子, 林 長男, 小沼博隆, 谷村顕雄, 倉田 浩 : 食衛誌, 17, 54 (1976)
- 3) 日本食品衛生学会第 26 回学術講演会発表 (1973. 11. 9) ; 同第 28 回学術講演会発表 (1974. 10. 25)
- 4) 第 48 回日本細菌学総会発表 (1975. 4. 3)

食品添加物の胎仔移行と次世代に及ぼす影響に関する研究

薬理部

第1次の研究では主として食用色素等の次世代への影響をそれらの薬理活性と生体内での動きとの関連で検討したが、第2次の3年間には殺菌保存料について同様な見地から研究を行なった。

サリチル酸、AF-2 (Furylfuramide) および BHT (Butylated hydroxytoluene) を妊娠ラットに与え、その胎仔移行と胎仔および新生仔に及ぼす影響について検索した。

1) サリチル酸

胎仔移行の実験では、1群5匹の妊娠ラットを用い、サリチル酸は、0.2% 含有飼料を妊娠8~14日まで、150 mg/kg を同期連続強制経口、または同量を妊娠14日目に1回強制経口適用し、最終処置3hr後にと殺して母体と胎仔中のサリチル酸濃度を蛍光定量した。

サリチル酸の母体内分布は3適用群とも同様なパターンを示し、組織中濃度はいずれの適用時においても血清が最高、ついで腎、脳が最低で、胎盤、羊水、胎仔中濃度はその他の母体器管とほぼ同じ値であった。母体組織および胎仔中濃度をそれぞれ3適用群間で比較した場合、強制適用群間では著しい差はみれなかったが、飼料添加群はこれら2群に比べて、サリチル酸の1日あたり摂取量に大きな差がなかったにもかかわらず、いずれの組織も明らかに低濃度を示し、胎盤、羊水、胎仔中では強制適用群の約1/3濃度であった。

催奇性の実験では、1群20匹のウィスター系妊娠ラット(11~13週令)を用い、サリチル酸は、飼料添加適用の場合0.06, 0.1, 0.2 および0.4% 含有飼料を妊娠8~14日までの1週間自由摂取させ、強制経口適用の場合75, 150 および300 mg/kg を同期間毎日胃ゾンデにより投与した。

飼料添加適用した場合、0.1% 以下の群では異常例はみられなかったが、0.2% と0.4% 群ではともに外形、臓器、骨格に種々の形態異常が観察された。強制経口適用した場合、75 mg/kg 群では重篤な異常例はみられなかったが、150 mg/kg 群では種々の形態異常が胎仔のみならず新生仔においても高率に観察された。300 mg/kg 群では母体に中毒症状が観察され生存胎仔は得られなかった。異常の種類、好発部位は両適用群とも同様な傾向であったが、発生率は、強制適

用した150 mg/kg 群とはほぼ同量のサリチル酸を食餌から摂取した0.2% 群(165.4 mg/kg)と比較したとき、後者が明らかに低率であり、サリチル酸の胎盤通過と催奇形作用との関連がうかがわれた。

2) AF-2 (Furylfuramide)

胎仔移行の実験では、¹⁴C 標識 AF-2 を妊娠20日目のラットに1回経口投与し、3および6hr 後にと殺して母体および胎仔中の¹⁴C 放射能を測定した。

母体の各組織中濃度はいずれも6hr より3hr 群が高い値を示しており、また両時点とも肝と腎に高濃度に分布し、ついで血清であった。母体の血清中濃度に比較して胎盤と胎仔中濃度は両時点とも低く、胎盤は約1/3、胎仔は約1/10程度であったが、3hr 群の場合投与量の約0.4% が胎仔組織中に分布しており、吸収されたAF-2は胎盤関門を通過して胎仔へ移行することが示唆された。

催奇性の実験では、1群20匹のウィスター系妊娠ラット(11~13週令)にAF-2の0.02, 0.06, 0.2 および0.6% 含有飼料を妊娠期間中(20日間)与えた。0.6% 群のみ母ラットの体重増加が著しく抑制され、胎仔体重は有意に低い値を示した。しかし本実験条件下ではAF-2が催奇形性を示したと考えられる成績は得られなかった。なお、母ラットの肝重量が用量反応関係をもって大きな値を示したが、新生仔の肝重量はいずれのAF-2群も対照群と大差なかった。

3) BHT (Butylated hydroxytoluene)

胎仔移行の実験では、³H 標識 BHT を用い、妊娠19~20日目のラットに1回経口投与し、定時間後にと殺して母体および胎仔中の³H 放射能を測定した。

投与後30min では投与量の91.6% が母体消化管内に残存していたが、その後すみやかに減少して24hr では10.9% となった。母体血液中濃度は1hr で最高値を示したのち漸減した。胎盤と胎仔中濃度も1~3hr にはほぼ最高値を維持したのち減少し、経時的分布パターンおよび濃度とも母体血液と胎仔との間に特に大きな差は認められず、吸収されたBHTは比較的すみやかに胎仔へ移行することが示唆された。また主要臓器内分布においても胎仔は母体に近似のパターンを示し、ともに肝が最も高濃度であった。

催奇性の実験では、1群20匹のウィスター系妊娠ラット(11~13週令)にBHTの0.1, 0.3, 1 および3% 含有飼料を妊娠期間中(20日間)与えた。1% 以上の群では母ラットの体重が妊娠期間を通して対照群より低い値を示したが、本実験条件下ではBHTが催奇形性を示したと考えられる成績は得られなかった。なお、0.3% 以上の群において母ラット肝重量の

体重比が用量反応関係をもって大きな値を示したが、BHTの投与中止4週間後(離乳時)においてはいずれの群もほぼ対照群のレベルになり、また新生仔では雌雄とも対照群と特に大きな差を示さなかった。

以上の研究から、薬物の次世代への障害を検討するに際しては、妊娠母体より胎仔への移行の程度が重視されるべき問題であり、同用量の投与時にもその適用方式によって障害発現が大きく変化するものであることを明らかにした。

発表報文

- 1) S. Tanaka, K. Kawashima, S. Nakaura, S. Nagao, T. Kuwamura, A. Takanaka, Y. Ōmori: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **14**, 549 (1973)
- 2) S. Tanaka, K. Kawashima, S. Nakaura, S. Nagao, T. Kuwamura, A. Takanaka, Y. Ōmori: *Cong. Anom.*, **13**, 73 (1973)
- 3) 田中悟, 小野田欽一, 川島邦夫, 中浦慎介, 長尾重之, 桑村司, 大森義仁: 第16回日本先天異常学会発表(昭和51年)
- 4) 田中悟, 小野田欽一, 川島邦夫, 中浦慎介, 長尾重之, 桑村司, 大森義仁: 日本食品衛生学会第31回学術講演会発表(昭和51年)

食品に関係ある諸物質の生化学的研究

医化学部

当部においては第一次研究にひきつづき、食品添加物および食品汚染物質の代謝研究の一環として、酵素レベルでのこれら物質の作用を研究した。すなわち、

1) 現在使用されている食用色素を中心にその消化酵素に及ぼす影響を膵リパーゼについて研究(昭和48年度)、2) 現在使用されているアゾ系食用色素を中心に、それらの細菌および肝ミクロゾームの還元酵素による還元能の比較研究(昭和49年度)、3) 塩化ビニル製容器、包装の可塑剤として用いられている各種フタル酸エステルの生体を与える影響について、肝ミトコンドリアの呼吸作用の抑制という面から研究(昭和50年度)を行なった。以下、各項目についてその概略を述べる。

1) パンクレアチンの脂肪消化に及ぼす食用色素の影響について¹⁾

現在許可されている食用色素11種類と禁止されている2種を合わせた13種類について、パンクレアチンと *in vitro* で作用させ、その脂肪消化作用に及ぼす影響を調べた。キサンテン系色素と紫1号が酵素活性を低下させ、その他の色素は全く影響がなかった。キ

サンテン系色素ではその阻害作用は、赤色105号>赤色104号>赤色3号>赤色103号の順であった。これらの色素の阻害機構を考察した。

2) 細菌および肝ミクロゾームのアゾならびにニトロ還元酵素の比較²⁾

現在許可されているアゾ系食用色素はすべて水溶性で、これらは体内で肝ミクロゾームならびに腸管内の細菌により還元される。そこで大腸菌の可溶性酵素とモルモットの肝ミクロゾームによるアゾおよびニトロ還元活性を、種々のアゾ色素ならびにパラニトロ安息香酸を用いて比較した。細菌酵素の方がミクロゾームより還元能ははるかに高く、両者は各種阻害剤に対してかなり違った態度を示した。

3) ラット肝ミトコンドリア呼吸に及ぼすフタル酸エステルの影響³⁾

フタル酸エステルの安全性を調べるための代謝研究の一環として、各種ジアルキルおよびモノアルキルフタレート(ジアルキル)の肝ミトコンドリアにおける酸素吸収ならびにリン酸化に及ぼす影響を調べた。ジアルキルフタレートの場合、プロピルエステルによる阻害が最も強く、炭素鎖がこれより長くても短くても阻害が減少した。一方、モノアルキルフタレートの場合、アルキル側鎖の炭素数が多くなる程阻害が増加し、ヘプチルエステルが最高であった。現在最も多く使われているジエチルヘキシルフタレート(DEHP)は殆んど阻害を示さず、その代謝物であるモノエステル(MEHP)が最も強い阻害を示したことは興味がある。さらに構造と阻害の関係ならびに阻害部位についても検討を加えた。

発表報文

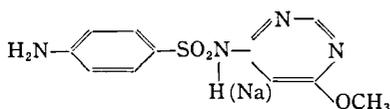
- 1) 足立透, 山羽力: 日本食品衛生学会第26回学術講演会発表(昭和48年11月)
- 2) 南原精一, 山羽力: 日本薬学会第94年会発表(昭和49年4月), 薬誌, **95**, 1302 (1975)
- 3) 高橋昭江, 田中 彰, 山羽 力: 日本薬学会第94年会発表(昭和49年4月)

食品の安全性に関する研究

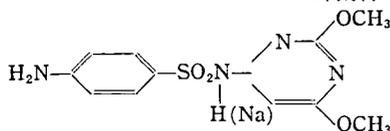
大阪支所 食品部

1) 食品中の残留サルファ剤に関する研究

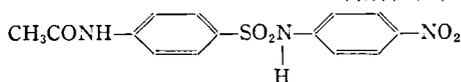
実験目的 サルファ剤は抗生物質と共に牛、豚、鶏、養殖魚類等の疾病予防ならびに治療に広く用いられ、とくに鶏のロイコチゲンの予防の目的で飼料に多量に添加されている。従って、鶏肉および臓器等へ



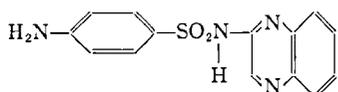
2) Sulfadimethoxine およびそのナトリウム塩
10g/飼料 (t)



3) Sulfantran
200g/飼料 (t)



4) Sulfaquinoxaline
60g/飼料 (t)



のサルファ剤の残留については十分に考えられ、これらの可食部を摂取することにより、薬剤耐性菌の形成およびアレルギー疾患を起す可能性は否定できない。

今回、著者らは鶏の肉部および臓器中からの残留サルファ剤の抽出・定量法を検討し、また経時的な市場調査を行ない、各月ごとの検体中の残留サルファ剤量を測定した。

わが国で家禽飼料に多用されているサルファ剤と飼料への添加量

1) Sulfamonomethoxine およびそのナトリウム塩
5g/飼料 (t)

サルファ剤の定量法 従来よりサルファ剤の定量法としては Read ら¹⁾のディスク・アッセイ法、Osadca ら²⁾ および Zagar ら³⁾の Bratton-Marshall 反応の比色法を用いる方法があるが、定量感度および特異性の点で欠陥がある。また、GC 法としては Daun ら⁴⁾の FID-GC を用いる方法、Schutzmann ら⁵⁾および井崎ら⁶⁾の ECD-GC を用いる方法があるが、FID-GC では感度の点で、ECD-GC では特異性の点で若干問題が認められた。そこで著者らは、各サルファ剤をジアゾメタン試薬でアミノ基をメチル化した後、サルファ剤が含硫化合物であることに着目し、FPD-GC を用いて定量することにより、特異性のある良好な結果を得た。

鶏肉および臓器からの抽出精製法 検体 50g に飽和食塩水 50ml および酢酸エチル 200ml を加え、ミキサーでホモジナイズした後、上澄液をとり、下層にさらに酢酸エチル 200ml を加え、同様の操作を繰返

した。次に酢酸エチル層を合せ、N-NaOH 100ml ずつで2回振り混ぜ、サルファ剤をアルカリ層に移行させた後、アルカリ液を 10N-硫酸で弱酸性とし、エーテル 100ml ずつで2回再抽出を行なった。エーテル層を脱水した後、減圧で濃縮し、ジアゾメタンを加え、FPD-GC 用検液とした。

鶏におけるサルファ剤の臓器分布 肝臓、腎臓および脂肪部分のサルファ剤の総残留量は 0.02~0.04 ppm で、各臓器間の差は余り認められなかった。鶏肉部は約 0.015 ppm であった。

市販鶏肉の残留サルファ剤の月別分布 6~10月に残留サルファ剤量が多く、これは鶏のロイコチゲンの発生状況と一致する。従ってこの期間に使用量が増加するためと考えられる。

文 献

- 1) R.B. Read, J.G. Bradshaw, A.A. Swartzentruber, A.R. Brazis: *Appl. Microbiol.*, **21**, 806 (1971)
- 2) M. Osadca, E. de Ditter: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **53**, 639 (1970)
- 3) J.B. Zagar, P.P. Ascione, G.P. Chrekian: *ibid.*, **54**, 1272 (1971)
- 4) R.J. Daun: *ibid.*, **54**, 1277 (1971)
- 5) R.L. Schutzmann, D.W. Woodham, C.W. Collier: *ibid.*, **54**, 1117 (1971)
- 6) 井崎やえ子, 戸田和子, 藤原光雄: *食衛誌*, **16**, 391 (1975)

2) 食品中のポリリン酸の安定性に関する研究

食品添加物としてのリン酸塩および縮合リン酸塩は風味、着色度の改良、結着力の増大などに用いられているが、個々のリン酸塩の作用は明確ではなく、使用基準もカリシウム塩についてのみ定められている現状で、特に食品中のそれらの安定性についてはまったく知られていない。

そこで、まず食品中のリン酸塩の薄層クロマトグラフィ (TLC) による定性法および原子吸光法による定量法を開発して、それらの添加状況を調べた。一リン酸から六リン酸までのナトリウム塩は、アビスル SF (セルローズ吸着剤) およびピリジン-アセトン-トリクロル酢酸-水混液 (展開溶媒) を用いた TLC により相互によく分離同定できた。また定量は陰イオン交換樹脂 (Dowex 1×4) から塩化カリウム (pH 9.3) で濃度勾配溶出して分離した各リン酸塩を、モリブデン酸と反応させてリンモリブデン酸錯体を形成させ、有機溶媒に転溶した。この錯体中のモリブデン量を原子吸光法で測定してリン酸塩を間接定量する方法で行なった。

この方法を調製食品(18種)および食品原料(5種)に適用してみた結果、ハム、ソーセージおよび清涼飲料水には縮合リン酸塩が見出されたが、残りの大部分には P_2O_5 として 0.21~23.0 mg/kg のオルトリン酸塩のみが検出された。このように試験した試料中には人体に害を及ぼすほどのリン酸塩は添加されていないことがわかった。

天然果汁を含まない市販清涼飲料水5種には P_2O_5 として 160~380 ppm のリン酸塩が検出された。コーラおよびオレンジ類にはオルトリン酸のみが添加されており、縮合リン酸塩が見出されたのはグレープ類だけであった。ポリリン酸の添加がグレープの風味により効果を与えることが予想される。

縮合リン酸のうちメタリン酸は水溶液として放置するのみでオルトリン酸に分解され、またカビ、酵母、

ある種の細菌、動物組織などに存在するメタホスファターゼにより直鎖三リン酸に分解され、三リン酸もまた生体中のピロホスファターゼによってオルトリン酸に分解される。

さらに前述のイオン交換カラムクロマトグラフィによる分画に際しても、二リン酸および三リン酸塩のそれぞれ 1.5 および 7% が加水分解されることを認めた。

このように試料に添加された縮合リン酸塩は、保存中および分析操作中に分解されてオルトリン酸になる。

したがって、微量添加された縮合リン酸塩はオルトリン酸としてしか検出できず、また多量添加された場合もやや低い含量として検出されることが考えられる。

1 Pyridine Analogs of 1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine and Related Compounds

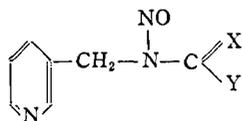
Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 2744 (1975)

3-Pyridylmethyl analogs (Ia, b, c) of 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG), 1-methyl-1-nitrosourea (MNU) and N-methyl-N-nitrosourethan (MNUT) were synthesized by nitrosation of the corresponding N-acyl-N-(3-pyridyl) methylamines.

3-Alkyl (aryl)-3-nitroso-1-(3-pyridyl) methylureas (IIa, b, c, d) were also synthesized by nitrosation of 3-alkyl (aryl)-1-(3-pyridyl) methylureas.

The reactions of some of these N-nitroso compounds with alkali, were examined.

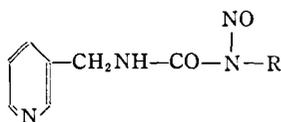
Among these N-nitroso compounds the mutagenic activity of 3-nitro-1-nitroso-1-(3-pyridyl)-methylguanidine (Ia) was as potent as the ethyl analog of MNNG in the mutation assay using streptomycin-dependent *E. coli* Sd-4.



Ia: X=NH, Y=NHNO₂

Ib: X=O, Y=NH₂

Ic: X=O, Y=OC₂H₅



IIa: R=CH₃

IIb: R=C₂H₅

IIc: R=C₆H₅

II d: R=C₆H₄Cl (*p*)

2 Photochemical Formation of Nitroxide Radicals from Carcinogenic N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and Related Compounds.

Y. IOKI*, A. IMAMURA*, C. NAGATA* and M. NAKADATE: *Photochemistry and Photobiology*, 21, 387 (1975)

Potent carcinogenic N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) was found to be converted

into a free radical by photoirradiation in organic solvents. The structure of the free radical produced was investigated by means of the electron paramagnetic resonance (EPR) method using isotope-replaced compounds and also considering the results of the molecular orbital calculations. Upon illumination, release of the nitroso group and oxygen attack at the N-methyl nitrogen occurred, and the radical was identified as a nitroxide radical. Similar types of nitroxide radical were obtained from the N-alkyl-N-nitroso compounds, such as N-ethyl-, N-propyl-, and N-butyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

* National Cancer Center Research Institute

3 Studies on Pyridazine 1,2-Dioxides. IV. Reduction and Substitution of 4-Nitro-3,6-dimethylpyridazine 1,2-Dioxide

Shoko SUEYOSHI and Ikuo SUZUKI: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 2767 (1975)

Catalytic reduction of 4-nitro-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide (II) over palladium-charcoal in ethanol, the reaction being stopped after absorption of four moles of hydrogen, afforded 4-amino-3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (III) and 5-amino-3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (IV), while after absorption of three moles of hydrogen, II gave 5-hydroxylamino-3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (V) in 38% yield.

Heating of II with hydrochloric acid or with hydrobromic acid formed 4-chloro-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide (IXa) or 4-bromo-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide (IXb), respectively. When II was treated with acetyl chloride at room temperature for 7 days, 3,6-dimethyl-4,5-dichloropyridazine 1-oxide (X), 3-chloromethyl-4-nitro-6-methylpyridazine 1-oxide (XI) and 3-methyl-4,5-dichloro-6-cyanopyridazine 1-oxide (XII) were obtained besides IXa.

In addition to above-mentioned new pyridazine dioxide derivatives (IXa and IXb), 4-methoxy-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide (XIIIa) and 4-benzyloxy-3,6-dimethylpyridazine 1,2-dioxide (XIIIb) were synthesized.

4 **Pyridazine 1,2-Dioxide 類の研究 (第3報)**
3,6-Dimethylpyridazine 1,2-Dioxide の求核
置換反応

末吉祥子, 鈴木郁生: 薬誌, 95, 1327 (1975)

3,6-Dimethylpyridazine 1,2-dioxide (I) was reacted with phosphoryl chloride, followed with sodium methoxide, to give 4-chloro-5-methoxy-3,6-dimethylpyridazine (Va), 4,5-dimethoxy-3,6-dimethylpyridazine (VI), 3-methoxymethyl-4-methoxy-6-methylpyridazine (VII), and 3,6-bis(methoxymethyl) pyridazine (VIII). It was presumed that 4,5-dichloro-3,6-dimethylpyridazine (II), 3-chloromethyl-4-chloro-6-methylpyridazine (III), and 3,6-bis(chloromethyl) pyridazine (IV), were produced in the reaction. When the reaction of I carried out with phosphoryl bromide at room temperature, deoxygenation occurred and 3,6-dimethylpyridazine 1-oxide (XII) was obtained preferentially. Treatment of I with acetylanhydride at 138° for 3 hr gave 3-acetoxymethyl-6-methylpyridazine 1-oxide (XVII) and 3,6-bis(acetoxymethyl) pyridazine (XVIII) in 4% and 2% yields, respectively.

5 **Photooxidation of Bovine Neurophysin II in the Presence of Rose Bengal**

Hideo FUKUDA, Takao HAYAKAWA, Jiro KAWAMURA, and Yoshio AIZAWA*: *Chem. Pharm. Bull.*, 24, 36 (1976)

In order to elucidate the role of some amino acid residues in bovine neurophysin II (NP-II) for its binding ability for oxytocin and vasopressin, NP-II has been photooxidized in the presence of rose bengal and oxygen, and the relationships between the loss of hormones-binding ability of modified protein and the destruction of photosusceptible amino acids were examined.

Photooxidation of NP-II causes rapid oxidation of single methionine residue to corresponding sulphoxide followed by a slow destruction of single tyrosine residue. More prolonged irradiation causes also slight decomposition of cystine residues. The hormones-binding ability of NP-II is almost completely retained even when the methionine residue was completely photooxidized, but is gradually decreased with the progress of the photodegradation of the tyrosine residue. The

decrease in binding ability of the photooxidized protein proceeds almost identically for oxytocin and [18-arginine]vasopressin as the ligand. The binding ability is decreased to about 70% of the original when 80% of tyrosine were degraded and to about 30% of the original when the tyrosine was completely photooxidized and about 6% of cystine residues were degraded. The influence of the destruction of tyrosine residue for the loss of hormones-binding ability of protein seemed to be amplified by the subsequent photooxidation of cystine residues since there is no direct correlation between the photodestruction of cystine residues and the decrease in the binding ability. The pH binding profiles of photooxidized NP-II are found to be essentially identical with those of native protein, indicating the non-essential role of phenolic hydroxyl group of tyrosine residue of NP-II in hormones-binding process. O-Acetylation of the tyrosine residue of NP-II with N-acetylimidazole gives no significant effect on the binding ability for oxytocin or [8-arginine]vasopressin.

These findings suggest that the single methionine residue of NP-II has no contribution to the binding process, while the single tyrosine residue, particularly its aromatic ring, of NP-II may participate with the binding process of the protein to both oxytocin and vasopressin with similar contribution.

* 東京薬科大学

6 **Skraup 反応による Chinofom (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol)-¹⁴C の合成**

浦久保五郎, 城戸靖雅: *Radioisotopes*, 24, 500 (1975)

Skraup 反応を応用して, 高比放射能 chinofom-¹⁴C の合成条件を検討した。

その結果, 2-amino-4-chlorophenol 1 m mol に 2-nitro-4-chlorophenol 0.5 m mol, glycerol 約 1 m mol を硫酸中で 125~135° に 2 時間反応させることによって約 59% の化学収率で 5-chloro-8-quinolinol を得た。これを塩酸酸性下, ICl でヨウ素化し, glycerol-¹⁴C からの放射化学収率 48% で 14.3 μCi/mg (4.4 mCi/m mol) の chinofom-¹⁴C (5-chloro-8-quinolinol からの化学収率 84.4%) を合成した。

7 **Studies on the Formation of Nitrosamines (III) The Reaction Products of Glycoeyamine and Sodium Nitrite.**

山本 都, 山田 隆, 谷村顕雄: 食衛誌, 17, 176 (1976)

自然界に存在するグアニド化合物であるグリコシアミンと亜硝酸塩との反応生成物について検討を行なった。

主生成物は、元素分析、NMR の結果、ヒダントイン酸の二級アミノ基がニトロソ化されたカリボキシメチルニトロソ尿素 (CMNU) と考えられ、ヒダントイン酸を亜硝酸塩でニトロソ化して得た結晶と混融・吸収スペクトル、IR スペクトルで一致した。ニトロソシアナミドが生成する可能性も考えられるが、種々の pH, 温度, 反応時間で吸収スペクトルを検討した結果、ニトロソ尿素体のみが見出された。CMNU の溶媒中での安定性および反応の副生成物・分解産物についても検討した。

8 **Studies on the Formation of Nitrosamines (IV) Kinetical Studies on the Carboxymethylnitrosourea Formation from Glycoeyamine and Sodium Nitrite**

山田 隆, 山本 都, 谷村顕雄: 食衛誌, 17, 182 (1976)

グリコシアミン (GC) と亜硝酸塩からカルボキシメチルニトロソ尿素 (CMNU) が生成する。CMNU は発がん性をもつメチルニトロソ尿素などと類似した構造をもつので、胃内に近い条件でその生成速度について検討した。pH 2.5, 37°C で反応を行ない、394 nm の吸光度を測定して CMNU を定量した。CMNU の生成初速度は GC の濃度および亜硝酸塩の濃度に比例した。また塩化ナトリウム、チオシアン酸塩、酒石酸塩、クエン酸、アスコルビン酸が CMNU 生成速度におよぼす影響についても検討した。チオシアン酸塩、酒石酸塩、クエン酸は CMNU の生成を促進し、アスコルビン酸は抑制した。塩化ナトリウムはこの実験条件下では影響を与えなかった。

9 **Diphenylmethane 系抗ヒスタミン剤の水溶液中における会合体形成**

岡田敏史: 医薬品研究, 7, No. 3 (1976)

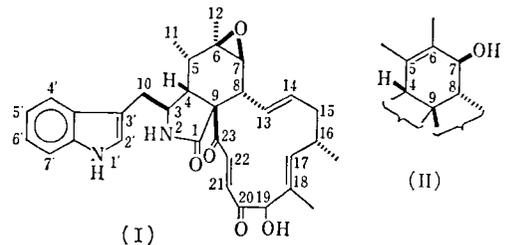
Diphenhydramine をはじめとする diphenylmethane 系抗ヒスタミン剤 (DPMs) は水溶液中において数分子から 10 数分子の会合体を形成することが Attwood ら, Farhadieh らにより報告されている。

彼らが DPMs の会合体形成を明らかにするためにおこなった実験とその解析法について一般論を交えて紹介するとともに、ミセル形成の理論が如何に適用されるかについて述べた。また、DPMs 以外に水溶液中において会合体形成の認められた医薬品類についての事例をまとめ、併せて界面活性剤における“ミセル”を含めた会合体 (self-association) についての Mukerjee の分子構造論的考察を紹介した。

10 **X-Ray Analysis of Chaetoglobosin A, An Indol-3-yl-[13]-cytochalasan from *Chaetomium globosum***

J.V. SILVERTON*, Toshiyuki AKIYAMA**, C. KABUTO*, Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHIRA, and Shinsaku NATORI: *Tetrahedron Letters*, 1976, 1349

X-Ray analysis was carried out on the crystal of chaetoglobosin A by direct methods and the relative stereochemistry of the compound was established as I. Thus the structure of chaetoglobosin B was proved to be II.



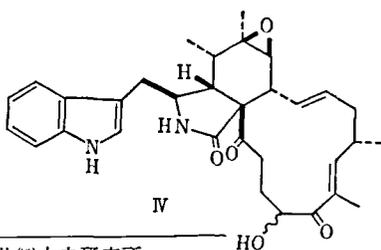
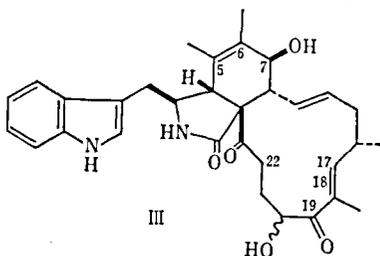
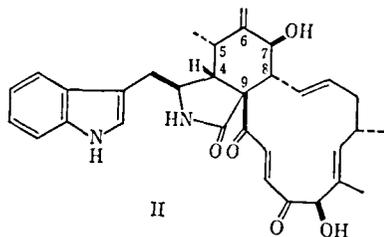
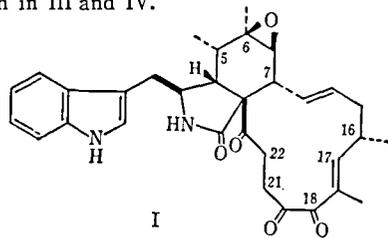
* N.I.H., Bethesda, U.S.A. ** 東京大学薬学部

11 **Structures of Chaetoglobosins C, D, E, and F, Cytotoxic Indol-3-yl-[13] cytochalasans from *Chaetomium globosum***

Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHIRA, Shinsaku NATORI, and Harumitsu KUWANO*: *Tetrahedron Letters*, 1976, 1351.

Chaetoglobosins C-F were isolated from the mold and the structures were studied by physical (chiefly PMR) and chemical means. The structures of C and D are proved to be the isomers of chaetoglobosin A and B as shown in the formulae I and II, while of E and F, the dihydro derivatives corresponding to B and A respectively

as shown in III and IV.

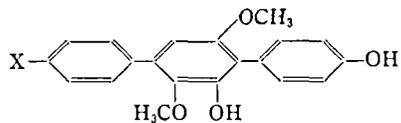


* 三共(株)中央研究所

- 12 The Structures of Toxic Metabolites of *Aspergillus candidus*. I. The Compounds A and E, Cytotoxic *p*-Terphenyls
Chikako TAKAHASHI^{*1}, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI, and Makoto UMEDA^{*2}: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 613 (1976).

The metabolites, compounds A-E, were isolated from a toxic strain of *Aspergillus candidus* and the structures of the characteristic cytotoxic compounds A (terphenyllin) and E (deoxyterphenyllin) were elucidated to *p*-terphenyl derivatives (I and II) by spectral data, oxidation reactions, and synthesis of compound A trimethyl ether. The cytotoxicity of the compounds and the derivatives

was also discussed.



I : X=OH

II : X=H

*1 春日部市立病院 *2 横浜市大(医)

- 13 C-13 NMR 化学シフトの図表化: (第6報) メチル炭素の化学シフト
田中誠之^{*1}, 戸田昭三^{*2}, 武拾 清^{*3}, 永田親清^{*4}, 叶多謙藏, 橋本 茂^{*5}, 名古屋一郎^{*6}, 山口和夫^{*7}: *分析化学*, **24**, 484~491 (1975)
約 2000 種のデータを基礎としてメチル基の炭素-13 NMR 化学シフトの図表化を試みた。α, β, γ の各置換基の影響を考慮して図表化すると, 各種置換基の効果を如実に説明できる。

*1 東京大学工学部, *2 東京大学農学部, *3 旭電化 K K, *4 芝浦工業大学, *5 ライオン油脂 K K, *6 旭化成工業 K K, *7 協和発酵工業 K K

- 14 C-13 NMR 化学シフトの図表化: (第7報) エステル, カルボン酸及びアミド類のカルボニル炭素の化学シフト
同上: *分析化学*, **24**, 491~496 (1975)
約 1000 種の化合物中のカルボニル炭素-13 NMR 化学シフトを整理し, エステル, カルボン酸, アミドについて, α, β 位の原子, 官能基の差異によるシフトの図表化を試みた。

- 15 C-13 NMR 化学シフトの図表化: (第8報) ケトン類のカルボニル炭素の化学シフト
同上: *分析化学*, **24**, 553~558 (1975)
一連の炭素-13 NMR スペクトルの化学シフト測定値の中からケトン類のカルボニル炭素のデータを集め, 化学シフト図表を作成し, また, 隣接置換基の影響を解析して化学シフト値に対する加減則を見いだした。

- 16 C-13 NMR 化学シフトの図表化: (第9報) ステロイド及び関連化合物中のメチル炭素の化学シフト
同上: *分析化学*, **25**, 206~210 (1976)
ステロイド及び関連化合物のメチル炭素の C-13 NMR スペクトルのデータを収集し, 図表化を試み

た。特に 18-メチルと 19-メチルの両炭素の化学シフトには、置換基の示す影響が大きく、化合物の判定、構造推定などに役立つ。

17 C-13 NMR 化学シフトの図表化：(第10報) アルケン及びアルキン炭素の化学シフト

同上：分析化学，25，18 (1976)

標題炭素への各種置換基の化学シフトに及ぼす影響を明確にするため、エチレン誘導体では、2つのアルケン炭素の化学シフト値を併記し、更に一置換体，1，1-二置換体，1，2-二置換体，3-置換体，1，1-二置換体，1，2-二置換体，三置換体及び四置換体に分類して図表化し、アレン及びアセチレン誘導体についてもこれに準じて、化学シフトの傾向を明らかとした。

18 防疫用製剤中の O, O-Dimethyl 2, 2-Dichlorovinyl Phosphate の新比色定量法

緒方宏泰，斉藤恵美子，村田久子，柴崎利雄，井上哲男：薬誌，95，1483 (1975)

O, O-dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate (I) とケトン試薬とのアルカリ性エタノール溶液中での呈色反応において、アセトフェノン(II)が最もよいことがわかった。すなわち活性メチレン基を有し、副反応を起こさず、共存物質による妨害を最少とする試薬としてIIが選ばれた。呈色機構についてはIからアルカリ性で生成するジクロロアセトアルデヒド(III)とIIとの脱水縮合反応の可能性が示唆された。市販製剤中妨害するジブテレックスおよびIIIはヘキサン抽出によって水層中に除去でき、1～2%の誤差で精度よく定量できた。

19 油剤中の O, O-Dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate の安定性

緒方宏泰，斉藤恵美子，村田久子，柴崎利雄，井上哲男：薬誌，96，434 (1976)

油剤中の O, O-dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate (DDVP) の安定性を 70°, 110°, 130° および 150° で調査した。これらの温度で DDVP はアルデヒド化合物に分解し、放置時間に対してシグモイド曲線を示した。Arrhenius プロットから 20° では induction time は約 17 年を示し、分解速度定数は約 2%/年となった。ケロソンのロットの違い、また長期保存したケロソンによって DDVP の安定性は大きく異なり、ある場合は誘導期が消失し、実験開始時から速い速度で分解した。DDVP としばしば同時に処方されるフェニトロチオン、バイテックス、ピナミン、ピペロニルブトキシサイドは有意な影響を与えなかった。

20 放射性医薬品の品質基準に関する検討(第3報) 水銀製剤中の水銀の定量について

浦久保五郎，田中彰，東条憲一*，医薬品研究，7(1)，26 (1976)

放射性の水銀 (^{203}Hg , ^{197}Hg) を含むクロルメロドリンとメリソプロール注射液について、水銀の定量をジチゾン法と原子吸光法について比較した。前者は水銀として 20～70 μg の定量に最適であったが、後者は 0.035～0.12 μg の定量に適しており、検液の採取量も少量でよいために操作中の放射線被ばくも軽減される。

* 陸上自衛隊衛生学校

21 土壌中の ^{226}Ra および ^{210}Pb の含有量について

亀谷勝昭，戸村加代子：Radioisotopes, 25, 260 (1976)

日本全国 46 個所の土壌の ^{226}Ra および ^{210}Pb を定量した結果、乾燥土壌 1 g あたり、それぞれ平均で 0.79 pCi および 1.56 pCi を含み、 ^{210}Pb 含量が ^{226}Ra にくらべて約 2 倍の高い値を示すことを知った。

土壌中の ^{210}Pb 含量の多い原因の一つは、雨水中に含まれる ^{210}Pb が降水時に土壌に吸着されると考えられるから、年間降水量と土壌中の ^{210}Pb 含量の関係を、土壌が降水中の ^{210}Pb を吸着するとして検討した。その結果、土壌中の ^{210}Pb の一部は、中国大陸などの岩石土壌から発生した ^{222}Rn が大気中で ^{210}Pb となり、雨水とともに日本各地に降下して土壌に蓄積されたものと推定された。

22 裁判化学領域におけるラジオイムノアッセイの応用(総説)

城戸靖雅：衛生化学，21，239 (1975)

ラジオイムノアッセイ (RIA) 法の原理、特徴、Immunogen および標識 Hapten の合成法、RIA の一般操作法および特異性について解説し、更にモルフィン、Lysergic acid diethylamid (LSD)、2, 5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (DOM)、メスカリン、バルビツール酸誘導体、ツボクラリン、ジアゼパム、ニコチン、アンフェタミン、フェンタニル、ジフェニルヒダントインなど、主に裁判化学上問題となる薬物について、今日までに開発された RIA 法、鋭敏度、特異性についての総説を試みた。

更に、上記の薬物について報告された Enzyme Immunoassay, Spin Immunoassay の原理、特徴にも簡

単にふれてある。

23 赤外吸収スペクトル測定法によるX線造影剤の確認試験

持田研秀, 伊阪 博, 柴田 正, 中原 裕: 医薬品研究, 7(2), 148 (1976)

第9改正日本薬局方に新収載されるX線造影剤ならびに製剤はそれぞれの原薬の特定吸収波数を定めて、それと比較する赤外吸収スペクトル測定法(臭化カリウム錠剤法)によって確認する方法を採った。

アミドトリゾ酸, イオタラム酸, ヨーダミド, アジピオドン注射剤は塩酸性で得られる白色沈澱を用いるが, ヨーダミド, アジピオドンの白色沈澱はしばしば凝結晶多形を示し, 種々検討した。ヨーダミドは100°で濃縮して得られる結晶, アジピオドンは75°で0.1N塩酸を徐々に滴加して得られる結晶を用いる。

イオパノ酸錠剤およびイオポダートナトリウムカプセル剤はそれぞれアセトン処理, 石油エーテル処理で得られる結晶を試料とする。

23 医薬品製剤中の有害微粒子の検査法に関する研究

持田研秀, 伊阪 博, 森下裕子: 昭和50年度厚生科学研究報告

注射液, 水性点眼剤の微粒子検査法は, 製造上の品質管理面および生体に対する障害を配慮した観点に立って設定する必要があると思われる。コールター・カウンター法, メンブランフィルター顕微鏡法を主体に, 各測定方法の検討をおこなった。さらに, 微粒子測定結果から, それぞれの測定法の特徴として, 径の小さい粒子にはコールター・カウンターなどの機器による測定が, 径の大きい粒子にはメンブランフィルター顕微鏡法が精度のよい方法であることを認めた。また, コールター・カウンターによる微粒子実態調査の結果について, 外国公定書に設定された規格ならびにGrovesによって提案された粒子数および粒子径のプロットからの粒度分布図をもとにして評価を試みた。

25 薄層クロマトグラフィーデンストメトリーの生薬分析への応用(第1報) 南天および南天製剤中のアルカロイドの定量

野口 衛, 持田研秀: 生薬, 20, 31 (1975)

南天中のアルカロイドを定量する場合の抽出条件を検討し, ソックスレー抽出器を用い, アンモニア性メ

タノール, 4時間抽出が最適であることを見出した。つぎに薄層クロマトグラフィーデンストメトリー(TLC-DM)により λ_s 310 nm, λ_R 360 nm で, O-methyl domesticine (I) を再現性よく定量することができた(4~6 ng)。TLC-DM法は滴定法よりやや低い値を与えるが, これは後者では南天中に微量存在する副アルカロイドが同時に定量されるためである。

著者らの入手した南天試料中のアルカロイド含量は0.45~0.5%, (I)含量は0.35~0.45%であった。

南天エキス含有シロップ製剤よりアルカロイドをエーテル抽出により分離し, TLC-DMを用いて分析したところ, (I)含量は0.02%で, 南天表示量より換算した値の10分の1以下となった。一方添加回収実験においては, 回収率は90%になり, さらに, シロップ剤調製時と同じ条件で南天を処理した場合の抽出率も約12%であることから, 製剤中の(I)含量の低下は南天エキス製造時にアルカロイドが十分に抽出されていないためと考えられる。

26 高速液体クロマトグラフ法によるジギタリス配糖体中のギトキシン系配糖体の定量

徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: 医薬品研究, 7, 10~16 (1976)

ギトキシン系配糖体(ギトキシン, デアセチルラナトシドB, ラナトシドB)の定量法の研究を行ない, 高速液体クロマトグラフ法(HLC法)による定量法を確立した。この方法をジギトキシン, ジゴキシン, デスラノシド, ラナトシドCの各標準品およびジゴキシン錠, ラナトシドC錠, デスラノシド注射液中のギトキシン系配糖体の定量に応用した。上記配糖体の定量結果より, 標準品および製剤中に未知の配糖体が混入していることを見出した。

JP VIII ジゴキシンの純度試験の方法を応用して, 上記配糖体中の発けい光性類縁物質(ギトキシン系配糖体を含む)の定量を行ない, この純度試験の方法が, ラナトシドCおよびデスラノシド中の発けい光性類縁物質の試験に応用できることを明らかにした。

27 酵素反応を利用したステロイドホルモンの定量法に関する研究(第1報)

早川堯夫, 太田美矢子, 中路幸男, 川村次良: 医薬品研究, 6, 434~434 (1975)

In an attempt to determine the steroid hormones in pharmaceutical preparations the enzymatic method using 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase (EC 1.1.1.53), crystalline enzyme from *Strepto-*

myces hydrogenans, has been applied. In this paper, substrate specificity or reactivities of the enzyme toward various 20-ketosteroids, effects of pH, enzyme or coenzyme concentrations on the reaction and also influences of organic solvents or some substances containing in ointment, which interfered with the determinations of steroid when UV or colorimetric method was applied, have been described.

28 軟膏剤中の副腎皮質ホルモンの定量

中路幸男, 太田美矢子, 早川堯夫, 川村次良 :
医薬品研究, 7, 17 (1976)

152種の市販副腎皮質ホルモン軟膏の組成について、繁用されている49種類の添加物のブルー・テトラゾリウム法とイソニアジド法による定量法の妨害性を検索したところ過半数のものがコルチコイドの定量値に過不足を与へ、特に使用頻度の高いプロピレングリコール、オリーブ油、ラノリンなどは相当な影響を及ぼすことが判かった。

これら妨害性物質を分離除去するために、コルチコイドを水溶性のジラールヒドラゾンとし適切な溶媒抽出とイソニアジド法を組合せることによって大部分の脂溶性および水溶性添加物は完全に除かれるか、あるいはその影響は軽減された。

本法は4¹, 3-ケトステロイド(コルチゾン, ヒドロコルチゾン等)を含む軟膏剤に適用することができる。一方, 4¹¹, 3-ケトステロイド(プレドニゾン, デキサメサゾン等)はジラールヒドラゾンを生成しなかった。

29 魚介類中の 2, 3, 7, 8-テトラクロルジベンゾ-p-ジオキシンの分析法

福原克治*, 武田明治, 内山 充, 田辺弘也**
衛生化学, 21, 318 (1975)

- 1) 魚介類中の TCDD 微量分析法を確立した。
- 2) ECD-ガスクロマトグラフィーでは、最小検出量 0.15 ng, 試料 100 g を使用した場合の検出限界は 0.15 ppb であった。
- 3) TCDD 20 ppb の添加で回収率は 85.4% から 92.5% の範囲内にあった。
- 4) マスフラグメントグラフィーでは、最小検出量 10 pg, 検出限界は試料 100 g を使用した場合 10 ppt であった。

* 食品, 薬品安全センター

** 相模女子大学

30 N-メチルカルバメート系殺虫剤の微生物による代謝 (第5報) o-sec-Butylphenyl N-Methylcarbamate の代謝物の血球並びに血清コリスエステラーゼに対する阻害作用について

鈴木 隆, 武田明治, 内山 充 : 衛生化学, 21, 330 (1975)

N-メチルカルバメート剤の一つである BPMC (o-sec-butylphenyl N-methylcarbamate) より環境中で微生物, その他により生産される事が予想される酸化代謝物7種をとり上げ, ChE 阻害度を指標として, 原体より強い活性を有するものが存在するかどうかについて検討した。

その結果, N-メチル基, 側鎖の sec-butyl 基の各種の水酸化物, 脱N-メチル体, カルボキシル体などいずれも原体より強い酵素阻害を示すものは認められず, 代謝は解毒にそって, 行なわれている事が確認された。

いわゆる真性, 偽性の血清の ChE についても各代謝物間の相対強度は類似していた。

31 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第19報) 農作物中のジチオカーバメート系殺菌剤の残留分析法

佐々木久美子, 武田明治, 内山 充 : 食衛誌, 17, 72 (1975)

- 1) 農作物中のジチオカーバメート剤の分析法を二硫化炭素による方法と EDA による方法につき検討した。
- 2) 二硫化炭素法はジチオカーバメートを酸分解して発生する二硫化炭素を FPD ガスクロマトグラフィーによって分析する方法で, 操作は簡便かつ容易であった。今回検討した試料ではガスクロマトグラム上に妨害ピークは全く認められなかった。
- 3) 二硫化炭素と同時に生成する EDA についてはメチルトリフルオールアセテートと反応させて EBFA に変換し, ECD ガスクロマトグラフィーにより分析する方法を改良した。従来の方法に比較してガスクロマトグラム上の妨害ピークが非常に改善された。
- 4) 5種の農作物に対する各ジチオカーバメート剤の添加回収実験を二硫化炭素法で行い, 75.5~91.0% の範囲の回収率を得た。
- 5) EDA 法で分析した場合, ジネブの添加回収率は 69.5~105% の範囲内にあった。

32 食品中の残留農薬の分析に関する研究(第18報)
ガスクロマトグラフィーによる有機りん農薬の
系統分析法並びに有機りん農薬の蛍光々度型検
出器に対する感度に及ぼす水素及び空気流速の
影響

青木葉一*, 武田明治, 内山 充: 衛生化学,
22, 81 (1976)

FPD-ガスクロマトグラフを用いて有機りん農薬の
同時分離・同定について検討した。10% DC-200, 0.5
% OV-225, 10% QF-1, 10% DC-200+15% QF-1 及
び 5% DC-200+0.5% エポキシ樹脂 1009 を用い、適当
な操作条件においてガスクロマトグラフィーを行なう
ならば、28 種の有機りん農薬の分離が可能であった。
なお、これらの諸条件下における検出限界は 0.001 ng
から 12.5 ng の範囲内にあった。

FPD-ガスクロマトグラフを用いて有機りん農薬の
検出感度に及ぼす水素並びに空気流量の影響につい
ても併せ検討した。これらの気体流量の変化は FTD に
おいて認められるほど大きな影響を及ぼさず、若干の
例外は認められるが、有機りん農薬全般について水素
及び空気流量は、それぞれ 150~200 ml/min 及び 50
~100 ml/min の場合に感度が良好であった。

* (財)医療食協会・食品検査センター

33 Comparative Study of Methods for the
Extraction of Eleven Organophosphorus
Pesticide Residues in Rice

Yoichi AOKI*, Mitsuharu TAKEDA, and
Mitsuru UCHIYAMA: *Journal of the AOAC*,
58, 1286 (1975)

Several extraction methods are compared for
the simultaneous analysis of organophosphorus
pesticides in unpolished rice. Four stationary
phases were used for the subsequent gas-liquid
chromatographic (GLC) determination of the
selected pesticides. Using 3 different GLC col-
umns, 11 pesticides were completely separated
and identified. The efficiency of the clean up
and the sensitivity of the analytical method were
evaluated by using powdered unpolished rice sam-
ples fortified with the pesticides and also wheat
and dried bean samples. Average recoveries
ranged from 74.7% for disulfoton to 97.4% for
malathion in unpolished rice and from 68.1% for
disulfoton to 108.3% for malathion in other crops.
The method described is applicable to the analysis

of selected organophosphorus pesticide residues in
unpolished rice, wheat, buckwheat, and dried
beans.

* Food Research Center, Japan Medical Foods
Association

34 魚介類中の 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-オクタクロルジ
ベンゾ-*p*-ジオキシンの分析法

福原克治*, 武田明治, 内山 充: 衛生化学,
22, 31 (1976)

- 1) 魚介類中の OCDD の微量分析法を確立した。
- 2) ECD-ガスクロマトグラフィーでは、最小検出
量 0.01 ng, 検出限界は試料 50 g を用いた場合 0.2
ppb であった。

3) OCDD 0.01 ppm 添加の場合の添加回収率は平
均 85.3% であった。

4) マスフラグメントグラフィーによる最小検出量
は *m/e* 460 のフラグメントを用いた場合、0.01 ng,
検出限界は 0.1 ppb であった。

* 食品・薬品安全センター

35 次亜塩素酸カルシウムによる有機塩素農薬の分
解(第2報)アルドリンの主分解物の構造

金田吉男, 慶田雅洋: 衛生化学, 22, 73(1976)

次亜塩素酸カルシウムによるアルドリンの酸化成績
体(I)の構造研究を行なった。Iの赤外吸収スペクトル
には、アルドリンに見られた C-H (710 cm^{-1}) 変
角振動の消失、二級アルコールとみられる吸収 (3400
および 1060 cm^{-1}) の出現および C-Cl 吸収の
存在を認めた。

Iの高分解能質量分析の結果から $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2\text{Cl}_2$ (M^+ ,
 m/e 369.868; 計算値 m/e 369.865) の実験式をえ
た。したがって I は 2つの水酸基で置換された 4, 5,
6, 7, 8, 8-ヘキサクロロ-4, 7-エンドメタノ-ヘキサヒ
ドロインデンと推定され、さらに核磁気共鳴分析の結果
から、Iの推定構造は 4, 5, 6, 7, 8, 8-ヘキサクロ
-4, 7-エンドメタノ-1.3-*trans*-ジハイドロキシン-1, 2,
2, 3, 3a, 7a-ヘキサヒドロインデンであることがわか
った。

36 かんきつ中のジフェニル, *o*-フェニルフェノ
ールおよびチアベンダゾールの簡易測定法(速報)

外海泰秀, 伊藤啓志男, 慶田雅洋, 佐野裕子*:
衛生化学, 21, 235 (1975)

かんきつ中の 3 種の 保存料 (防かび剤), ジフェニ

ル (DP), *o*-フェニルフェノール (OPP), およびチアベンダゾール (TB) の分別定量法を考案した。総果を酢酸エチルで抽出し、抽出物を濃縮した。濃縮液に途中でキシレンを加え、さらに濃縮した後、アルミナカラム (1.5×8cm) に流し込み、ヘキサンで妨害物を溶出し、以下酢酸エチル、アンモニア水、メタノール混液 (1:4) の順に流下し、酢酸エチル層に DP を、アンモニア水、メタノール層に OPP および TB をそれぞれ回収した。3種保存料の定量は DP および OPP は水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフにより、TB は電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフを用いてそれぞれ行なった。レモン、オレンジ、グレープフルーツの総果に対して DP (2 ppm), OPP (0.8 ppm) および TB (0.5 ppm) を添加したときの回収率はそれぞれ 96.1, 95.4 および 93.7% であった。輸入レモン、オレンジ、グレープフルーツの検査に適用した。

* 日本食品分析センター大阪支所

37 **かんきつ中のジフェニル, *o*-フェニルフェノールおよびチアベンダゾールの系統的試験法**
外海泰秀, 佐野裕子*, 伊藤善志男, 慶田雅洋:
食衛誌, 16, 397 (1975)

かんきつ中の DP, OPP および TB の同時抽出・精製操作による系統的定量法を考案した。試料からの抽出およびアルミナカラムによるクリーンアップの操作法としてはすでに発表した外海らの速報 (一誌上発表 36) の方法を骨格とし、3種の溶離液を用いて溶出した区分の 10 ml を 1 フラクションとして集め、GC または TLC により検出・定量した。測定妨害成分 (精油区分) は大部分 Fract. No. 2 に溶出し、DP は Fract. No. 7, OPP と TB は Fract. No. 12 に溶出することを認めた。GC による検出感度は DP: 0.025 ppm, OPP: 0.05 ppm および TB: 0.01 ppm であった。本法によるかんきつからの回収率は DP 50 および 2 ppm 添加の場合は 98.5 および 96.1%, OPP 10 および 0.8 ppm 添加の場合は 95.3 および 95.4%, TB 2 および 0.5 ppm の添加の場合は 98.1 および 93.7% であった。

DP, OPP および TB を確認するために TLC によって検討し、展開溶媒としてシクロヘキサン・クロロホルム混液 (8:2) およびクロロホルム・メタノール混液 (19:1) による二次元展開法により良好な結果を得た。フラクションから3種保存料を検出するのに TLC を用いる場合は、Fract. No.7 の一定量をスポ

ットし、シクロヘキサン・クロロホルム混液 (8:2) で展開して DP を、Fract. No. 12 より得られた試験溶液の一定量をスポットしてクロロホルム・メタノール混液 (19:1) で展開して OPP と TB を検出した。検出感度はいずれも 0.5 μg であった。

これらの方法を用い、市販輸入レモン、オレンジ、グレープフルーツ中の DP, OPP および TB 含量を測定した。

* 日本食品分析センター大阪支所

38 **ガスクロマトグラフィーによるぶどう酒中のソルビン酸, デヒドロ酢酸および安息香酸の同時定量ならびに検出法の確立**

伊藤善志男, 外海泰秀, 慶田雅洋: 栄養と食糧, 29, 44 (1976)

ぶどう酒をアルカリ性でエーテル処理して不純物を除いたのち、酸性でエーテルによりソルビン酸, デヒドロ酢酸および安息香酸を抽出し、蒸発・乾固したのち、アセントに溶かし、水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ (2% DEGS+0.5% リン酸カラム装着) に注入して、ソルビン酸の定量およびデヒドロ酢酸と安息香酸の検出を同時に行なう方法を開発した。ガスクロマトグラフィーの内部標準物質としては *p*-トルイル酸の使用が好適であった。

0.1 g/kg のソルビン酸の添加による回収率は、ほぼ 100% であった。3種保存料の検出感度は、いずれも 0.005 g/kg であった。輸入ぶどう酒検体中 3 検体からソルビン酸が定量されたが、その量はいずれも基準値 (0.2 g/kg 以下) の範囲であった。デヒドロ酢酸および安息香酸は、いずれの検体からも検出されなかった。

39 **炎光光度型検出器 (FPD) 付きガスクロマトグラフによるサッカリナトリウムの定量について**
伊藤善志男, 外海泰秀, 慶田雅洋: 食衛誌, 17, 89 (1976)

ガスクロマトグラフィーによりサッカリンを定量する場合に、エステル化の条件として、ジメチルホルムアミド・ジメチルアセタールによるメチル化法、ヨウ化メチルによるメチル化法、ジアゾメタンによるメチル化法およびトリメチルシリル化法の4種を設定し、比較した結果、感度ではヨウ化メチル法、再現性ではジアゾメタン法が優れていることを認めた。

N-メチルサッカリンの測定の場合は、FPD-GC を用いた場合には FID-GC の場合にくらべて約 200 倍

の感度を有し、前者の場合にはしょう油のように夾雑物の多い試料でも妨害ピークはきわめて少く、微量のサッカリンでも定量が可能であった。

しょう油にサッカリンナトリウム 500 および 5 ppm 添加した場合の回収率はそれぞれ 97.4~98.4% および 93.2% であった。

40 マイコトキシンの化学分析に関する研究 (V)

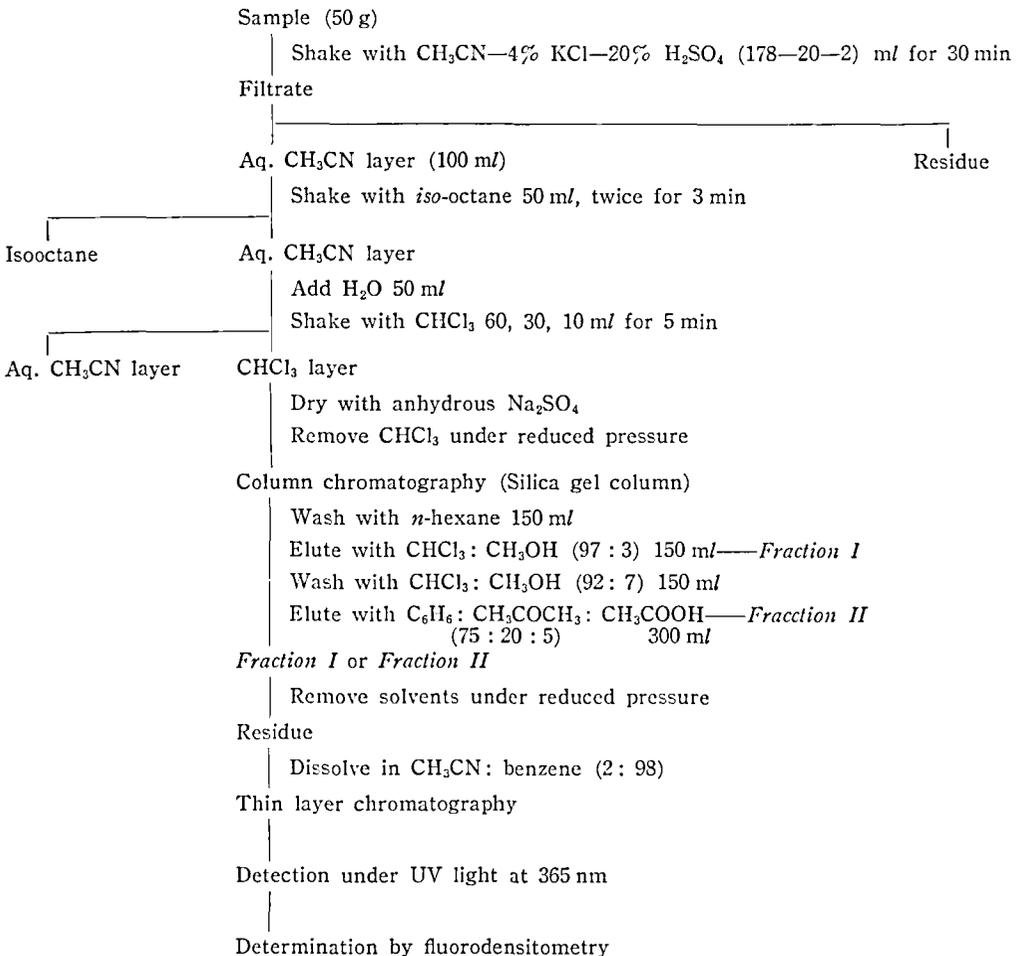
穀類中のマイコトキシンの一斉分析について

武田由比子, 五十畑悦子, 天野立雨, 内山 充直
直井家寿太*, 中尾美津男** : 食衛誌, 17, 192 (1976)

Scheme 1 に示した抽出分離法は、けい光を有する mycotoxin 類 7 種 (Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, sterigmatocystin, ochratoxin A, citrinin) を系統的に同時に分析できる。穀類から硫酸酸性アセトニトリルでト

キシン類を抽出し、クロロホルムに転溶させた後シリカゲルカラムに移し、妨害けい光物質の除去と同時にトキシン類を 2 群に分画し、以後の検出定量を容易かつ確実にする。次に両トキシン群はそれぞれ薄層クロマトグラフィーにより分離検出する。この場合 aflatoxin 類以外のトキシンについては、適宜、増けい光操作を施して定量限界を向上させる。また定量はけい光用自記濃度計でけい光強度を測定して求めた。

この方法により、これらトキシンのすべてによる汚染試料でもトキシン相互の妨害はなく、精白米、玄米では aflatoxin 類 10 ppb 以上, sterigmatocystin, ochratoxin A 40 ppb 以上, citrinin 80 ppb 以上の微量分析が回収率 56~100% の範囲で可能であった。コーン、ピーナツンにおいては aflatoxin 類で 10 ppb 以上で回収率 63~80% 範囲で他の 3 種のトキシンでは 200 ppb で回収率 65~95% の範囲でほぼ満足すべき



Scheme 1. Extraction and determination of mycotoxins in grains

結果が得られている。なお、本研究は厚生省食品衛生課、カビおよびカビ毒の調査研究費によって実施した。

* 東京都衛生研究所

** 食品・薬品安全センター

41 A Case Report on the Detection of Ochratoxin-A from Rice

Mitsuru UCHIYAMA, Etsuko ISOHATA and
Yuiko TAKEDA: 食衛誌, 17, 103 (1976)

The purpose of the present communication is to show the positive contamination of ordinary food with mycotoxin.

Twenty-one samples were collected for the chemical analysis of mycotoxins from the specified area, Fukue Town, Nagasaki Prefecture. This area has attracted the attention for high incidence of hepatoma and the samples were selected giving priority to the potential contamination of mycotoxins. They were dried fish, rice, black soybean, adzuki bean, sliced dried sweet potato, dried bonito,

miso (soybean paste) etc. and all of them were in daily use. The objective mycotoxins and analytical procedures employed in this work were summarized in Table 1.

As a result, 0.05 ppm of ochratoxin-A was detected from one of the specimens of rice which was offered by an average family of Kojima-village of the Town. The rice concerned looks a little reddish indicating possible contamination with some fungi. Any particular relationship of the clinical history of the family to this case was not recognized.

The detected spot of ochratoxin-A on a thin layer plate was further treated with BF_3 and developed by benzene-acetone-acetic acid (12 : 2 : 1) to the second dimension for its confirmation. From the other samples was not found any detectable amount of mycotoxin at all.

Table 1. General Plots of Analytical Method Employed in This Work

	Aflatoxins*	Sterigmatocystin	Ochratoxin-A	Citrinin	Tricothecenes**
Extraction	MeOH—1% NaCl (55 : 45)	MeOH—1% NaCl (55 : 45)	MeOH—3% NaHCO_3 (55 : 45)	CH_3CN —4% KCl—20% H_2SO_4 (178 : 20 : 2)	MeOH—1% NaCl (55 : 45)
Clean-up	Silica gel column	Silica gel column	Silica gel column	Silica gel column	Silica gel + Florisil mix column
Washing	Hexane Ethyl ether	Benzene—acetone (99 : 1)	CHCl_3 —MeOH (95 : 5)	CHCl_3 —MeOH (93 : 7)	CHCl_3
Eluting	MeOH— CHCl_3 (3 : 97)	Benzene—MeOH (9 : 1)	Benzene—acetone—AcOH (70 : 25 : 5)	Benzene—acetone—AcOH (75 : 20 : 5)	CHCl_3 —MeOH (97 : 3)
Detection	TLC	TLC	TLC	TLC	GLC
Carrier	Adsorbosil-I	Kieselgel-G	Kieselgel-G	Kieselgel-G	Gaschrom-Q
Solvent or liquid phase	CHCl_3 —acetone (9 : 1)	Benzene—MeOH—AcOH (90 : 5 : 5)	Benzene—acetone—AcOH (12 : 5 : 1)	CHCl_3 —MeOH— H_2O —90% HCOOH (180 : 20 : 2 : 2)	3.5% SE-30 (TMS derivative)
Determination	Fluorodensitometry	Fluorodensitometry	Fluorodensitometry	Fluorodensitometry	GLC
Amplifying agent	—	20% AlCl_3 —EtOH 30° 10 min	NH_3 vapor	NH_3 vapor—20% AlCl_3 —EtOH	—
Detection limit (ppm)	0.005	0.04	0.04	0.1	1.0
Reference	1)	2)	3)	4)	5)

* Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂. ** Fusarionin-X, Diacetoxy scirpenol, Neosolaniol, T 2 toxin.

- 1) Official Notice distributed by Ministry of Health and Welfare (Apr. 6, 1971); modified AOAC method-I.
- 2) Takeda, Y., Isohata, E., Amano, R., Tsubabe, H., Kurata, H.: J. Food Hyg. Soc. Japan, 15, 363 (1974).
- 3) Takeda, Y., Isohata, E., Amano, R., Tanabe, H., Ichinobe, M., Kumada, H., Udagawa, S., Kurata, H.: Proc. 26th Meeting of Food Hyg. Soc. Japan, p. 41 (1973).
- 4) Takeda, Y., Isohata, E., Amano, R., Uchiyama, M., Naoi, Y., Nakao, M.: Proc. 29th Meeting of Food Hyg. Soc. Japan, p. 19 (1975).
- 5) Tanaka, K., Amano, R., Kawada, K., Tanabe, H.: J. Food Hyg. Soc. Japan, 15, 195 (1974).

42 食品中のフタル酸エステル類の分析

斎藤生, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 17, 170 (1976)

油脂性食品中のフタル酸エステル類 (DBP, DHP, DEHP, BPBG) の簡便な分析法を確立した。

本分析法は, *m*-ヘキサン-アセトニトリル分配, アセトニトリル層への水の添加, 少量 (0.5 ml) の濃硫酸による抽出, およびミニカラムクロマトグラフィーの4操作よりなる。これらの操作によって ECD ガスクロマトグラフィーによる分析を妨害する有機塩素系化合物は完全に除かれ, また油脂の除去率は 99.5% 以上であった。

フタル酸エステル類の回収率は DBP が 90%, DHP 82%, DEHP が 81%, BPBG が 75% であり, 本分析法の有用性を示している。

43 食品衛生上の諸問題と今後の課題

慶田雅洋: 大阪府業雑誌, 26, No. 12, 21 (1975)
同上 27, No. 1, 15 (1976)

内容の概略 1. 食品衛生法の誕生と改訂 ① 食品輸送業者の食品営業者への組入れ ② 安全について疑念のある食品等の規制 ③ 新開発食品の販売等の禁止 ④ 検査制度の充実 ⑤ 表示の改正 ⑥ 食品衛生調査会 ⑦ 洗淨剤

2. 食品添加物について

① 食品添加物の種類 ② 食品添加物の成分規格と使用基準 ③ 製品検査 ④ 食品添加物についての問題点

3. 器具・容器包装について

① 器具・容器包装に関する法令規格 ② 牛乳容器としてのプラスチック ③ 今後の合成樹脂製品の動向 ④ プラスチックの材質の見分け方

4. 指定おもちゃについて

5. 食品衛生行政機構

44 食品の器具, 容器包装の化学的試験について

慶田雅洋: 乳技協資料, 25, No. 6, 2 (1976)

“容器包装”という言葉が食品衛生法において定められたいきさつについては, たしかに容器と包装は厳密に言えば別物であろうが, 限界もむずかしいことと, 衛生上は同一に取扱うべきなので一括して「この法律で容器包装とは, 食品又は添加物を容れ, 又は包んでいる物の食品又は添加物を授受する場合, そのままで引き渡すものをいう」と明記されている。

一方器具については「飲食器, 割ぼう具その他食品又は添加物の採取, 製造, 加工, 調理, 貯蔵, 運搬,

陳列, 授受又は摂取の用に供され, 且つ, 食品又は添加物に直接接する機械, 器具その他の物をいう。但し, 農業及び水産業における食品の採取の用に供される機械, 器具その他の物は, これを含まない」と定められている。すなわち, 鍋, 釜, 箸, スプーン, フォーク, 庖丁, まな板をはじめ, 食品製造用各種機械に到るまで, 法において器具として定められたものの種類は多い。

I. 器具・容器包装に関する法令

a. 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令

b. 器具及び容器包装の原材料の規格基準及び製造基準の概要

c. 食品別の容器包装の規定

II. 食品衛生に関する行政監察結果に基づく勧告

III. 器具及び容器包装等の今後の規制の動向

a. ポリオレフィンおよびポリスチレン

b. 塩化ビニル樹脂

c. ゴム製器具・容器包装

IV. 指定おもちゃについて

45 食品添加物分析の現状と問題点

原田基夫: 最新の分析化学, 第26集 69 (1975)
(化学同人)

食品添加物の分析には, 添加物自身の規格分析と添加した食品中からの分析に分けられ, おもに後者について解説した。先ず食品から添加物を分離する方法, その後の精製法, 最終分析としての各種の測定の方法を挙げ, これらを調査するための関係文献を紹介した。各論では保存料, 酸化防止剤, 発色剤, 着色料などについて, 最近約10年間に報告された分析例を紹介し, 使用基準との関連において分析上の問題点を指摘した。

46 人工甘味料および酸化防止剤の機器分析

加藤三郎: 食品工業, 18, (18) 42 (1965)

主要な甘味料および酸化防止剤の分析について解説した。ズルチン, サイクラミン酸, サッカリンおよび糖アルコールについては主に著者の報告したガスクロマトグラフ (GC) 法を要約して解説したが, グリチルリチンおよびその他の非糖質甘味料については文献から要約して, GC, 薄紙および薄層クロマトグラフ (PC および TLC) 法および高速液体クロマトグラフ (HSLC) 法を紹介した。なおサッカリンおよび分解物の HSLC については著者の Zipax SAX カラムによる実験結果の一部を提示した。

抗酸化剤についても同様に, PC, TLC, GC および

HSLC の文献抜粋のほか、著者の経験による GC 法の問題点についてのべるとともに、phermaphase ODS カラムにおける BHA, BHT, その他の展開分離結果を示した。

47 食品添加物分析の進展 I~II

加藤三郎：ニューフードインダストリー，18，(3)61，(4) 43 (1976)

食品添加物の分析について、現在の問題点を指摘する形式によって一般的解説を試みた。まず、(I)主として成分規格について、その由来と現状を概説し、薬局方あるいは工業規格との関連において食品添加物公定書の特徴をのべ、さらに国内外の規格統一化の問題に言及した。つぎに、(II)その試験法について技術別に最新の改正点を解説するとともに、将来に向けて考慮すべき新技術の応用を論じた。

48 ディスポザブル・アマルガムカプセルの水銀漏洩について

辻 楠雄，堀部 隆*，川口政広*，岡本佳三*，
福島忠男*：福岡歯大誌，3，81 (1976)

アマルガムカプセルの練和時の水銀漏洩は、治療室の水銀汚染を招くおそれがあり、空気中に 0.1 mg/m³ をこえる時には、術者の健康を損うことも考えられる。そこでディスポザブル・アマルガムカプセル 4 種につき、附着水銀量、水銀添加時及び練和時の水銀漏洩量、アマルガムをとり出した後のカプセル内の残留量について原子吸光分析並びに重量法により測定を行った。また、従来のカプセルの練和時の漏洩について比較を行った。

漏洩水銀を定量するために、カプセルをパラフィルムで完全に包み、附着した水銀をパラフィルムごと石英燃焼炉で加熱し、水銀蒸気を金アマルガムにしたのち、再び加熱して、その水銀蒸気を原子吸光法 (253.7 nm) で分析し、検量線法により、漏洩水銀量を求めた。

水銀添加時及び練和時の水銀漏洩は、ディスポザブルカプセルでは、0.1~0.7 µg、通常カプセルでは 0.02~0.1 µg で極めて僅少であるが、使用後のカプセル内残留アマルガムは 6.5~1.3 mg で、使用済みカプセルの処置が問題とならう。

* 福岡歯科大学

49 衣類などの家庭用品中の有機水銀の分析

毛利潤子，小嶋茂雄，中村晃忠，大場琢磨：衛

生化学，21，361 (1975)

衣類などからフェニル水銀を塩酸酸性で四塩化炭素によって抽出し、ついでシステイン・アセテート溶液に転溶させたのち、得られたシステイン・アセテート溶液によって石英管燃焼・金アマルガム法により定量した。抽出条件について検討し、綿の場合は 1 N 塩酸酸性で、毛の場合は 2 N 塩酸酸性で抽出するのがよいことを見出した。市販製品 60 検体について分析した結果、水銀含量はきわめて低く、今回の調査の範囲では、フェニル水銀化合物による衛生加工はほとんどされていないことが認められた。

50 ガスクロマトグラフィーによる塩化ビニル樹脂中の塩化ビニル単量体の分析法の検討

大場琢磨，叶多謙蔵，阿部久人：塩化ビニルモノマーに関する特別研究，昭和51年3月，p.55 (科学技術庁研究調整局)

塩化ビニル樹脂溶解用溶媒，ガスクロマトグラフィーの至適操作条件，内標準物質の検討を行った。

51 塩化ビニルモノマーに関する特別研究

(昭和49年度科学技術庁特別研究促進調整費)
佐藤美恵子，辰濃 隆，谷村顕雄：昭和49年度塩化ビニルモノマーに関する特別研究，p.70 (1976)，科学技術庁研究調整局

塩化ビニルモノマー (VCM) の材質中および食品中の分析法を検討し、ガスクロマトグラフィーを利用して材質中および、食品中の VCM を定量した。また材質と食品に移行する VCM の相関を検討し、材質中 2 ppm 以下ならば、内容食品に対して VCM の移行は認められないと推定した。

52 多核芳香族炭化水素の分析

原田基夫：食品衛生研究，25，951 (1975)

環境中における多核芳香族炭化水素は古くから調査されているが、最近では食品や食品添加物の分野でも密接な関係のあることが議論されるようになった。1975年6月学校給食用リジン中から、3,4-ベンゾピレンが検出され、社会的にも大きな問題を提起した。かような背景から厚生省主催の食品化学特殊技術講習会において標題の実習を行なった。内容は従来からの代表的な分析法 4 例について解説した。そして最も一般的な方法につき、試薬、器具、吸着剤、カラムクロマトグラフィー、ベースライン法を用いる測定法、同定の仕方などの操作の実際における諸注意を記述した。

53 キノホルム亜鉛キレートウサギ体内分布について

浦久保五郎, 城戸靖雅, 永松国助: 昭和50年度厚生省特定疾患スモン調査研究班, 班員研究報告, 68 (1976)

^{14}C -chionoform- ^{65}Zn キレート溶液, ^{14}C -chionoform 溶液および ^{65}Zn - ZnCl_2 溶液をそれぞれウサギに腹腔内投与して, 臓器組織への chionoform および Zn の分布を調べた。

注目すべき所見として, 坐骨神経および脛骨神経の末梢における chionoform 濃度がキレート投与ウサギで末梢に近いほど高いという結果が得られた。chionoform 投与ウサギではこのようなことはみられず, また Zn 濃度はキレート投与群と ZnCl_2 投与群との間に著明な差がみられなかった。それで投与された chionoform は Zn などの金属の作用により神経末梢に濃縮されるという可能性が考えられた。

54 Chionoform (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol)- ^{14}C のイヌにおける代謝

浦久保五郎, 城戸靖雅, 池淵秀治, 永松国助: *Radioisotopes*, 24, 473 (1975)

Chionoform-2(-4)- ^{14}C をイヌに経口投与し, 尿と糞を集めた。投与後5日間で尿と糞の合計で投与量の約70%が排泄されたので, この尿を代謝物の研究に用いた。

尿をベンゼン・ピリジン混合溶媒(9:1)で抽出し, 有機層と水層に分離した。有機層から薄層クロマトグラフィーにより, chionoform, 5-chloro-8-quinolinol (chionoform の脱ヨウ素体) および未知代謝物1種を検出した。前2者は標品を用いて同位体希釈法で同定されたが, 後者は artifact とされた。

尿の水層からは chionoform と脱ヨウ素体のグルクロナイドおよび chionoform のサルフェイトが代謝物として同定された。

55 セレン化合物の衛生化学的研究 (第4報) 血液分画中のセレンの分布について

長谷川 明: 衛生化学, 21, 356 (1975)

ウキギに ^{75}Se -L-セレンシスチン, ^{75}Se -亜セレン酸ナトリウムを皮下注射し, 血液中における ^{75}Se の B. H. L. を求めたところ, 両化合物投与において全血液では約7日を示したが, 血清中の ^{75}Se の B. H. L. は ^{75}Se -L-セレンシスチン投与の場合の6日に対し, ^{75}Se -亜セレン酸投与の場合は半分の3日であった。

ラットに ^{75}Se -亜セレン酸ナトリウムを静注して30

分後の血液 (*in vivo*) およびラット血液に ^{75}Se -亜セレン酸ナトリウムを添加し, 30分 incubate した血液 (*in vitro*) 中における ^{75}Se の分布について比較検討したところ, 血清中における ^{75}Se の結合様式は *in vivo* と *in vitro* の場合では若干異なることが透析実験で認められた。また血球中の ^{75}Se の大部分はヘモグロビンのグロビン分画に存在した。

in vivo におけるグロビン中の ^{75}Se の化学形について, その加水分解物のペーパークロマトグラフィにより追究した。放射性アミノ酸のスポットは4個以上存在し, その内2個はセレノメチオニン, セレノシスチンまたはシステインであることを認めた。

56 有害金属の生体内挙動に関する研究 (第2報)

^{115}mCd の体内分布に及ぼす塩化カドミウム連続投与の影響

大森義仁, 高仲 正, 小野田欽一, 中浦慎介, 浦久保五郎, 長谷川明: 食衛誌, 16, 240 (1975)

塩化カドミウムをラットに連続投与し, 体重, 臓器重量に及ぼす影響と, これに $^{115}\text{mCdCl}_2$ を投与した場合の ^{115}mCd の体内分布の変化を検討した。

1群 27~28匹の雄ラットに塩化カドミウム(1, 5, 10 mg/kg)を1日1回20日経口投与すると, 1 mg/kg では13日以後体重増加がやや抑制される傾向がみられ, 5 mg/kg, 10 mg/kg 群では早い時期から有意な抑制が認められた。また, 10~12日以後飼料, 水の摂取量が減少した。

21日までに1 mg/kg 群で74%, 5 mg/kg 群で29.6%, 10 mg/kg 群で32.1%の死亡が認められた。

塩化カドミウムを投与した各群とも消化管の著しい拡張, し緩, 運動性の低下がみられ, 胃, 小腸, 大腸の各内容物が各群とも有意に多い値を示した。また副腎の重量増加, 精のうの重量減少が認められ, 内分泌に何らかの影響を与えていることが推測された。

21日目に $^{115}\text{mCdCl}_2$ (2 $\mu\text{Ci}/\text{mg CdCl}_2/2 \text{ ml}/\text{kg}$) を経口投与し1時間後の ^{115}mCd 体内分布をみると, 塩化カドミウムを連続投与した群では各群とも肝および骨において対照群に比べて減少する傾向を示し, その他の臓器では逆に増加する傾向がみられた。すなわち, 連続投与により ^{115}mCd の体内分布が変化することが認められた。

また, そのときの消化管内の ^{115}mCd は1 mg/kg, 5 mg/kg 群では対照群に比べて胃内に存在する量が多く, 胃内容物排せつ速度の遅延が考えられた。

57 有害金属の生体内挙動に関する研究 (第3報)
 ^{115m}Cd の母体内分布と胎仔への移行, 分布について

大森義仁, 高仲 正, 小野田欽一, 中浦嶺介,
 浦久保五郎, 長谷川明: 食衛誌, 16, 271 (1975)

カドミウム (^{115m}Cd) の妊娠母体への分布と胎仔への移行, 胎仔内分布について妊娠20日目のラットを用いて検討した。

静脈内投与した ^{115m}Cd の 60 分後における母体内分布は肝に最も多く, 脾, 下垂体, 腎, 副腎では血中濃度の 10 倍以上の分布が認められ, その他脾, 卵巣, 心, 肺, 骨 (大腿骨), 子宮にも血中より高い濃度が認められた。

投与後 60 分において, 投与量の 24.6% が消化管に存在し, 小腸およびその内容物に最も多く存在したことから, 体内に摂取されたカドミウムは小腸に排せつされるものと考えられる。

母体に投与されたカドミウムの胎仔への移行は少ないが, 一部胎仔に移行したカドミウムについてみれば, 胎仔の副腎, 脾, 睪丸に多く分布し, 肝, 骨 (大腿骨) にも胎仔全身中濃度の 5 ~ 6 倍の濃度に分布した。

母体と胎仔ではカドミウムの分布状態がいくらか異なり, 胎仔では母体に比べて脾, 骨, 副腎に多く分布する傾向が認められた。

以上のように, 母体に摂取されたカドミウムは一部胎盤を通して胎仔に移行し, 胎仔内に分布する。

58 有害金属の生体内挙動に関する研究 (第4報)
 亜鉛の体内残留, 排せつについて

浦久保五郎, 長谷川明, 中浦嶺介: 食衛誌, 16,
 330 (1975)

^{65}Zn で標識した塩化亜鉛溶液をラットに経口投与し, 生体および糞尿の連続測定により体内残留および排泄について調べ, 全生体における亜鉛の生物学的半減期 (BHL) を求め, 30.4日という値を得た。

また実験の最終日すなわち投与後 47 日において動物を解剖し, 体内分布を調べた。その結果 47 日後残留している亜鉛は投与量の約 3% であり, その約 90% は主な内臓, 血液以外の残屍中にあることを知った。

59 有害金属の生体内挙動に関する研究 (第5報)
 流久保五郎, 長谷川明, 中浦嶺介: 食衛誌, 16,
 334 (1975)

^{74}As を含むヒ酸ナトリウム溶液をラットに経口投与し, 体内残留および排泄を連日測定して生物学的半

減期を求め, また体内分布について調べた。

Whole body count による体内残留については, 日数の経過に伴いあまり著明な低下はみられず, 生物学的半減期として 83.6日という値が得られ, 排泄が遅いことを示した。

体内分布では, 投与量の約 60% が投与後初期から血液中に存在していることを示し, 血中からの消失は遅いことが認められた。臓器中への分布は血中濃度に比べてはるかにうすく平均的であったが, 肝および残屍には比較的濃く分布がみられた。

60 Cytotoxicity and Carcinogenicity of Pterosin and Pterosides, 1-Indanone Derivatives from Bracken (*Pteridium aquilinum*)

Mamoru SAITO*, Makoto UMEDA*, Makoto ENOMOTO*, Y. HATANAKA*, Shinsaku NATORI, Kunitoshi YOSHIHARA, Masamichi FUKUOKA, and Masanori KUROYANAGI: *Experientia*, 31, 829 (1975)

Cytotoxicity to HeLa cells of thirty kinds of pterosin derivatives, the characteristic indanone derivatives isolated from bracken, was examined. Dried powder of the edible parts, young leaves and rhizomes of bracken, four fractions of the extract, pterosin B and pteroside B were feeded to rats (Wistar, male 8-10 weeks of age) and the carcinogenicity was examined.

* 東京大学医科学研究所

61 Cytotoxicity of New Cytochalasans from *Chaetomium globosum*

Makoto UMEDA*, Kohichiro OHTSUBO*, Makoto SAITO*, Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI, Shun-ichi UDAGAWA, Fumiko SAKABE, and Hiroshi KURATA: *Experientia*, 31, 435 (1975)

The extract of the mycelium and the filtrate of the mold exhibits toxicity to cultured HeLa cells and to mice. The principles, named chaetoglobosins A-F, were isolated and proved to be novel type cytochalasans containing an indole nucleus. The cytotoxicity was precisely examined by cinematography and the formation of polynuclear cells and multipolar cell division were observed, suggesting the same mode of action as the hitherto known cytochalasans containing phenyl ring. LD₅₀

of chaetoglobosin, the major toxin, by a single s.c. injection was estimated as 6.5 and 17.8 mg/kg body weight for 5-week-old male and female mice respectively.

* 東京大学医科学研究所

62 有害性金属の衛生化学的研究 (第4報) カドミウムの生体内への吸収機構について
安藤正典, 佐谷戸安好, 外村正治: 衛生化学, 22, 24 (1976)

カドミウムの経口投与時の腸管からの生体内への吸収機構について検討した。すなわちラットに $^{109}\text{CdCl}_2$ を経口投与し、投与 20 分後あるいは2時間後における小腸、肝臓、腎臓ならびに血液の細胞分画パターンおよび各臓器中上清分画の Cd 結合蛋白について研究をすすめた。その結果、投与 Cd の大部分は小腸粘膜沈澱分画部分に結合し、しかもこの沈澱分画に結合した Cd は 10^{-2}M EDTA によってはじめて遊離されることから、特異的な結合であると考えた。また腸管を経由して血中に移行する Cd の形態は free Cd の型で血中に移行することが認められた。さらに体内に蓄積した Cd のうち、肝臓の Metallothionein は Cd の経口投与2時間経過して生成することが認められ、また腎臓における蓄積形態はその大部分が Metallothionein と結合していることが観察された。

63 PCT の長期投与によるマウス体内における蓄積

関田 寛, 武田明治, 内山 充, 金子豊蔵, 山下敬三, 大竹道子: 衛生化学, 21, 307 (1975)

PCT 20~200 ppm 添加飼料を3カ月間または6カ月間摂取させたマウスの肝、腎、脳、皮膚および脂肪組織の5種の臓器組織中の PCT 蓄積量を分析した。実験動物における PCT の体内蓄積は PCB やいくつかの有機塩素農薬の場合に知られている傾向とは異なり、脂肪組織よりも肝に高濃度に蓄積していることがわかった。

個々のマウスの組織中の PCT 蓄積量の統計学的解析から、脂肪組織中の PCT 蓄積量と今回分析した他の4種の組織中の PCT 蓄積量との間には有意な相関が認められた。

さらに、飼料中の PCT は他の組織と比較して特に肝において顕著に濃縮されること(飼料中の濃度の約4~10倍)、また脳においても投与飼料中の PCT 濃度の約10% にまで達していることが注目される。

64 Mutagenicity of Nitroso Derivatives of N-Methylcarbamate Insecticides in Microbiological Method

by Mitsuru UCHIYAMA, Mitsuharu TAKEDA, Takashi Suzuki, and Kunie YOSHIKAWA
Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 14, 389 (1975)

In the present paper, eight kinds of N-methylcarbamate insecticides were chemically converted to corresponding N-nitroso compounds. The mutagenic activities of these were tested by means of two microbiological assay systems including the "rec-assay" procedure (KADA et al. 1972). All of the N-nitroso-N-methylcarbamates employed here exhibited a fairly strong mutagenicity. The relationship between chemical structure and mutagenic activity was partly clarified.

65 Toxicity of Organic Mercury Compounds. III. Uptake and Retention of Mercury in Several Organs of Mice by Long Term Exposure of Alkoxyethylmercury Compounds
Masanori YONAHARA*, Shunji ISHIKURA*, and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 1718 (1975)

Uptake and accumulation of alkoxyethylmercury compounds in several organs of mice, in comparison with alkylmercury compounds, were studied. Diets containing various organic mercury compounds were continuously fed to mice, and organic mercury in the organs was extracted with dithizone-carbon tetrachloride and determined by gas chromatography.

Histological studies in mice poisoned by methoxyethylmercury chloride showed a prominent damage of the kidney, and proliferation of glial cells and atrophy of nervous cells in the cerebrum.

In all of the compounds administered, the organic mercury was found in the liver and kidney. The ratio of the mercury contents in blood to plasma was higher in ethylmercury chloride than in alkoxyethylmercury compounds.

Ethylmercury chloride was highly incorporated into the brain, while alkoxyethylmercury compounds were at much slower rates. The mercury contents in the brain at onset of the neural

symptoms were much lower in methoxyethylmercury than in ethylmercury. In the brain after administration of alkoxyethylmercury compounds, it appeared to be present as an inorganic mercury for the most part, in contrast with significant amounts of the organic mercury in the case of the alkylmercury. It may be presumed that manifestation of the symptoms after exposure of organic mercury compounds is not merely related to mercury levels and not always in need of organic forms in the brain.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

66 **Toxicity of Organic Mercury Compounds. IV. Metabolism and Excretion of Alkoxyethylmercury Compounds in Mice**

Masanori YONAHARA*, Shunji ISHIKURA* and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 1726 (1975)

Metabolism and excretion of alkoxyethylmercury compounds in mice were studied, and their gastrointestinal absorption was discussed.

The total mercury and the organic mercury in blood, liver, kidney, and excreta at time intervals after a single subcutaneous injection of methoxyethylmercury chloride (MEMC) and *n*-propoxyethylmercury (*n*-PEMC) were determined. Initially, the greater part of mercury in the blood, liver, and kidney was found as organic forms, but thereafter the organic mercury rapidly decreased with decrease of the total mercury. During 120 hr, the ratio of excretion of mercury in urine/feces was 2/1 after injection of MEMC and 1/2 after injection of *n*-PEMC, and more than half of the mercury in urine were in organic forms. Mercury in the feces was not determined as the organic form and was a chemically stable compound. It is most likely that the fecal mercury is mercuric sulfide, since it was formed from inorganic mercury ion in the cecum.

Inorganic mercury was found in the gastric contents initially after oral administration of MEMC. The release of inorganic mercury in the stomach indicates a reason for the poorer gastrointestinal absorption of alkoxyethylmercury

compounds.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

67 **Inhibitory Effect of Parathion on the Photosynthetic Electron Transport System in Isolated Spinach Chloroplasts**

Takashi SUZUKI and Mitsuru UCHIYAMA: *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 14, 552 (1975)

Pesticide chemicals usually have some broad specificity; thus they are commonly categorized as herbicides, insecticides, or fungicides, indicating the group of pests against which some selectivity of action has been demonstrated. It should not be assumed, however, that insecticides are necessarily harmless to plants. A number of organophosphorus insecticides have been shown to have a phytotoxic effect.

Our previous studies demonstrated that parathion (O,O-diethyl-O-p-nitrophenyl phosphorothioate) could be photoreduced dependently of ferredoxin by spinach chloroplasts (SUZUKI and UCHIYAMA, submitted-a) and independently of ferredoxin by heated chloroplasts with an artificial electron donor system (SUZUKI and UCHIYAMA, submitted-b). In the latter report, the possibility that parathion inhibits photosynthetic electron transfer was suggested.

In the present paper, attempts were made to confirm the above-mentioned possibility and to clarify the site and intensity of parathion inhibition. Consequently, it was found that parathion blocks the electron transfer from photosystem II (PS II) to photosystem I (PS I) and thereby inhibits Hill reaction in spinach chloroplasts.

68 **Effect of Zymosan on Hepatic Drug Metabolism in Mice**

Hiroshi HOJO*, Yasuo SUZUKI*, Yoko KONISHI*, and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 24, 10 (1976)

Effect of zymosan, a typical reticuloendothelial stimulator, on hepatic drug-metabolizing enzymes was examined in mice.

1) When given *in vivo*, it depressed all the

activities of aminopyrine N-demethylase, *p*-nitroanisole O-demethylase, and aniline hydroxylase. It was shown that the effect of zymosan on drug metabolism was exerted solely on microsomes and there was a marked decrease of cytochrome P-450 content in microsomes of zymosan-treated animals.

2) Aminopyrine N-demethylase activity was found to become minimum 24 hours after the administration of zymosan. On the other hand, phagocytic activity was enhanced at the same time when the maximum depression of the metabolism of aminopyrine was observed.

*Pharmaceutical Institute, Tohoku University

69 **Effect of Zymosan on Hepatic Drug Metabolism in Mice. II. Identification of Active Component of Yeast Cell Walls**

Hiroshi HOJO*, Yasuo, SUZUKI*, and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 352 (1976)

Three glucan and a mannan preparations from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were examined for their effects on aminopyrine N-demethylase activity and cytochrome P-450 content of liver, and phagocytic activity in mice. Dextran and pustulan were also examined.

Among the polysaccharides tested, insoluble glucan mostly decreased cytochrome P-450 content and aminopyrine N-demethylase activity, and stimulated phagocytic activity. Alkaline soluble glucan, mannan, and pustulan decreased a little of cytochrome P-450 at high dose, whereas water-soluble glucan residue produced by acetolysis affected neither cytochrome P-450 content nor phagocytosis.

*Pharmaceutical Institute, Tokoku University

70 **Studies on *in vivo* Formation of Nitroso Compounds (V) Formation of Dimethylnitrosamine from Nitrate and Dimethylamine by Bacteria in Human Saliva**

Hajimu ISHIWATA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **16**, 234 (1975)

The formation of dimethylnitrosamine from nitrate and dimethylamine in the presence of human saliva was studied. The accumulation of dimethylnitrosamine in the culture solution which contained dimethylamine hydrochloride, sodium nitrate and brain heart infusion was increased by the addition of glucose, although the nitrite was significantly decreased.

On the other hand, when the solutions which contained the same components as the above two culture solutions were kept in human mouth, no dimethylnitrosamine was detected in spite of the increase of nitrite concentration.

* Tokyo Biochemical Research Institute

71 **Studies on *In Vivo* Formation of Nitroso Compounds (VI) *In Vitro* and *In Vivo* Formation of Dimethylnitrosamine by Bacteria Isolated from Human Saliva**

Hajimu ISHIWATA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **17**, 59 (1976)

Six in 7 strains reduced nitrate to nitrite. Significant amount of DMNA was detected after 24 hr incubation (37°C) of bacteria in the medium containing sodium nitrate, dimethylamine hydrochloride (DMA·HCl), glucose and brain heart infusion. The highest concentration of DMNA was observed in the culture solution of *Staphylococcus aureus*, isolate A-1 and *S. epidermidis*, isolate E-2, being 13.8 ppm and 13.7 ppm, respectively. In the case of short term incubation (37°C, 2 hr) using *S. epidermidis*, isolate E-2, pH lowered to 5.7 (initial pH was 6.5) and the concentration of nitrite increased to 310 ppm. When glucose was omitted from the incubation mixture, pH did not change, but the concentration of nitrite increased. The concentration of DMNA showed 16.7 ppm after 2 hr incubation with glucose and 0.3 ppm without glucose.

In the animal experiments, DMNA was detected at the level of 0.2~1.9 µg/animal in the stomach contents of 5 in 8 guinea-pigs when cell suspension of *S. epidermidis*, isolate E-2, sodium nitrate, DMA·HCl and glucose were orally

administered.

* Tokyo Biochemical Research Institute

72 紅麴色素の衛生化学的研究 (第2報) 紅麴色素の分画と Monascin の定量法の検討

石綿 肇, 谷村顕雄: 食衛誌, 17, 153 (1976)

紅麴色素の分画と定量法について検討を加えた。まずシリカゲルカラムにより色素混合液の分画を試みた。エーテル溶液中で紫色色素はシリカゲルカラムに吸着された。エーテル溶出液にアンモニアを加え橙色色素を紫色色素とし、再びカラム処理を行ない溶出液中に黄色色素を得た。紫色色素はメタノールにより溶出した。黄色色素の一成分である monascin は硫酸とともに加熱することにより励起波長 453 nm, けい光波長 507 nm を示し、波長, けい光強度共に安定した結果が得られた。本法を紅麴色素が添加されている市販の酒に応用した。

73 Photoreduction of Parathion by Spinach Chloroplasts. II. Ferredoxin-Independent Photoreduction of Parathion by Heated Chloroplasts with an Artificial Electron Donor System

Takashi SUZUKI* and Mitsuru UCHIYAMA :
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 23, 2290 (1975)

Parathion (O, O-diethyl-O-*p*-nitrophenyl phosphorothioate) was reduced to hydroxylaminoparathion and aminoparathion by heated spinach chloroplasts with an artificial electron donor system in the light. Spinach ferredoxin was not required for this reaction, the rate of which increased as the heating time of chloroplasts became longer, at least up to 3 min at 50°. In these respects, the present photoreduction of parathion is very different from the ferredoxin-dependent one by unheated chloroplasts. It is presumed that parathion directly accepts electrons from the primary electron acceptor of photosystem I in heated chloroplasts.

*Pharmaceutical Institute, Tohoku University

74 N'-Nitrosornicotine in Japanese Tobacco Products

Ved Prakash BHARADWAJ*, 高山昭三*, 山田

隆, 谷村顕雄: GANN, 66, 585 (1975)

日本で製造されている紙巻タバコ 6 種類, キセルタバコ 1 種類, パイプタバコ 3 種類から Hoffmann らの方法でニトロソノルニコチンを分析し, その内の 2 種類から 1.1 ppm, 1.8 ppm のニトロソノルニコチンを検出した。

* 癌研究所

75 ポリアクリル酸ナトリウムの腸管内酵素に及ぼす影響

高村二三知, 新村寿夫, 時枝利江, 山羽 力:
食衛誌, 17, 144 (1976)

ポリアクリル酸ナトリウム (PA) のカルボキシンペプチダーゼ (CA), アルカリホスファターゼ (AP) およびトリプシン (TP) 活性に及ぼす影響を *in vitro* で研究した。PA と供試酵素とを 37° で予温した後, 基質を加えて反応させた場合, 酵素活性は 20~50% 阻害された。その阻害度は PA 濃度, 予温, および時間によって影響された。阻害された AP 活性は Mg²⁺ あるいは Zn²⁺ の添加で, ほとんど完全に回復したが, 阻害された CA 活性に対する Co²⁺ あるいは Zn²⁺ の回復効果ならびに阻害された TP 活性に対する Mg²⁺ の回復効果は共に部分的であった。

76 Biochemical Studies on Phthalic Esters I. Elimination, Distribution and Metabolism of Di-(2-ethylhexyl)phthalate in Rats

Akira TANAKA, Toru ADACHI, Terue TAKAHASHI and Tsutomu YAMAHA: Toxicology, 4, 253 (1975)

Elimination, distribution and metabolism of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) were studied in the rat by the tracer technique.

About 80% of the dose was excreted in the urine and faeces in 5 to 7 days following intravenous or oral administration. Excretion in the urine was generally slightly greater than that in the faeces. After intravenous administration of [¹⁴C]DEHP the radioactivity was preferentially localized in the liver for a short period. Delayed excretion of DEHP was observed in particular in adipose tissue.

After oral dosing no significant retention was found in organs and tissues.

Radioactivity measurements showed that affinity

was lowest for testicles and brain regardless of whether [^{14}C]DEHP was administered orally or intravenously.

Orally ingested DEHP was excreted unchanged in the faeces and four major metabolites were detected in the urine.

- 77 腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究(第3報)嫌気条件下におけるサイクラミン酸ナトリウム資化様菌の最適培地の検討
松井道子, 林 長男, 谷村顕雄, 倉田 浩: 食衛誌, 17, 48 (1976)

CHS-Na 投与動物の糞便ならびに盲腸内容物から CHS-Na 資化様菌を分離する目的で *in vitro* に適する培地ならびに培養条件につき検討を行った結果, pH 8.0, CHS-Na 0.25% 添加液体 BC 培地の 37°C, 14日間, 嫌気性振とう培養が最良であった。従来用いられている偏性嫌気性菌群検出用培地は, 血液, 臓器の抽出液, 卵黄などの種々の有機物の添加されたものが多く用いられているために, 培地作製の煩雑さや, CHA 抽出時の妨害となることがあるが, 本培地は, これらの欠点を補う良好な培地と考える。

- 78 腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究(第4報)サイクラミン酸ナトリウム投与サルにおける糞便内マイクロフローラの推移ならびに *in vitro* におけるマイクロフローラの消長
松井道子, 林 長男, 小沼博隆, 谷村顕雄, 倉田 浩: 食衛誌, 17, 54 (1976)

CHA 尿中排泄サル糞便から CHS-Na 資化様菌を分離する目的で, CHS, Na 未投与ならびに投与サル糞便内マイクロフローラを調べ比較した結果, 両者間に特に指摘しうる相違点は認められなかった。他方, *in vitro* において, CHA 尿中排泄サル糞便を接種した初代の培養液では, CHA の経日的増加が認められたが, 2代目以後の培養では, CHA は産生しなかった。なお初代培養液中のマイクロフローラは, Bacteroidaceae, Clostridia, Streptococci, Lactobacilli らであり, 他の菌群は消失した。

- 79 Distribution of [^3H]-3-Hydroxykynurenine in Mice

Mitsuo WATANABE and Yukari SUGIMORI: *Cancer Res*, 36, 309 (1976)

The distribution of 3-hydroxykynurenine, a tryptophan metabolite that is suspected of being

carcinogenic, was studied in mice. After s.c. administration of [^3H]-3-hydroxykynurenine into male BALB/c \times DBA/2 F₁ mice, the distribution of ^3H was investigated by whole-body autoradiography and radioactivity measurement. At 30 and 60 min after injection, ^3H was distributed mainly in the kidneys, pancreas, liver, lung, and salivary glands. After 6 and 24 hr, ^3H was retained only in the kidneys.

After 30 min, about 70% of the radioactive compounds in the pancreas was unmetabolized 3-hydroxykynurenine, whereas most of the radioactivity in the kidneys, liver, lung, and submaxillary glands was derived from the other compounds. The data suggest that 3-hydroxykynurenine has an affinity for the pancreas.

- 80 Quantitative Evaluation of Virilizing Activity of Steroids by Measuring Morphological Changes in Uro-genital Region of Rats

Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO, Satoru TANAKA, Tsukasa KUWAMURA and Yoshihito ŌMORI: *Endocrinol. Japon*, 22, 439 (1975)

A new technique to measure the uro-genital parameters such as the lengths of urovaginal septum, corpora cavernosa and anogenital distance on the sagittal sections of the pelvic region of female fetus of rat under microscope equipped with a micrometer was developed. In the examination of 180 normal female fetuses on the 21st day of gestation, relationships were observed between the fetal body weight and the length of urovaginal septum as well as anogenital distance, but not on the length of corpora cavernosa.

Following maternal subcutaneous administration of various doses of 17 α -methyltestosterone between the 17th and 20th day of gestation, dose-dependent abridgment in urovaginal septum length and extensions in corpora cavernosa length and anogenital distance were observed in female fetus on the 21st day's examination. When these three parameters were calculated on the relative value to the fetal body weight, however, linear relationships against log-dose were observed in all

parameters. Among these three parameters the abridgment in urovaginal septum was shown to be the most sensitive.

A quantitative assay of virilizing activity of steroids in female fetuses was examined on rats treated subcutaneously with 17 α -methyltestosterone and norethandrolone. Linear regressions against the log-doses of both steroids were demonstrated in urovaginal septum length, and parallelism was noted between both regression lines. The relative potency of norethandrolone to 17 α -methyltestosterone calculated on urovaginal septum length was 0.354 with fiducial limits of 0.293 ~ 0.446, and it was suggested that the virilizing activities of steroids can be evaluated quantitatively.

81 **Generation of mutagenic compound(s) by a reaction between sorbic acid and nitrite.**

Hikoya HAYATSU*, Kyu Charn CHUNG*, Tsuneo KADA** and Tomiko NAKAJIMA: *Mutation Res.*, 30, 417 (1975)

Formation of mutagenic compound(s) by a reaction between sorbic acid and nitrite was studied. It was recognized that some of the products from the reaction show mutagenic activity for Streptomycin-dependent *E. coli* Sd-B(TC).

* University of Tokyo

** National Institute of Genetics

82 **The Response of Activated Sludge to a Polychlorinated Biphenyl (KC-500)**

M. KANEKO*, K. MORIMOTO, and S. NAMBU*: *Water Research*, 10, 157 (1976)

A kind of polychlorinated biphenyl, Kanechlor 500, was selected as a representative industrial toxicant, and its effects on biochemical characteristics of the activated sludge and its behavior in the biological treatment process were observed at concentrations of 0, 1, 5 and 10 μg^{-1} .

The presence of PCB in synthetic sewage resulted in changes in the microflora and aldolase activity of the activated sludge even at low concentration of PCB such as to be 1 μg^{-1} , and it was also demonstrated that dosing PCB caused remarkable increase of the oxygen uptake activity.

Furthermore, PCB was not found to undergo degradation to any appreciable extent during the aeration process nor as the result of anaerobic digestion, although low concentrations did not exert an influence on COD and BOD removal efficiency in the process. In synthetic sewage PCB was shown to undergo mobilization from the aqueous phase to the activated sludge as evidenced by a concentration factor on the order of 10^3 — 10^4 .

* Institute of Public Health

83 **The Role of Single Tyrosine and Histidine Residues in Bovine Neurophysin I**

Hideo FUKUDA, Takao HAYAKAWA, Jiro KAWAMURA and Yoshio AIZAWA*: *Chem. Pharm. Bull.*, 23, 2184 (1975)

The influence of photooxidation of bovine neurophysin I in the presence of rose bengal on its amino acid composition and binding ability for oxytocin and arginine-vasopressin were studied.

Single histidine residue was photooxidized very rapidly without any decrease in the hormones-binding ability. On the other hand, single tyrosine residue was found to be photooxidized almost completely after 240 min of irradiation accompanying a decrease in the hormones-binding ability. No significant changes in other amino acid residues were found even after 240 min of irradiation.

Therefore, it is evident that the tyrosine residue has some role in the hormone binding process of bovine neurophysin I.

* 東京薬科大学

Mutagenic or DNA-Modifying Activities of N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

Minako NAGAO*, Takie YAHAGI*, Masahiro NAKADATE, Takashi KAWACHI* and Takashi SUGIMURA*: *Japan J. Genetics*, 50, 403 (1975)

The DNA-modifying and mutagenic activities of N-alkyl homologues of MNNG were investigated by repair tests and mutation tests. All the derivatives tested (i.e., N-methyl-, N-ethyl-, N-n-propyl-, N-n-butyl-, N-iso-butyl-, N-pentyl- and N-

hexyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidines) showed DNA-modifying and mutagenic activities. In repair test, the ethyl derivative showed the greatest activity on X strain. Results in repair test indicated that MNNG might produce X-ray type damage of DNA while homologue with an ethyl substituted or longer chain length might produced UV-type damage in addition to X-ray type damage of DNA.

* National Cancer Center Research Institute

85 **Relationship between multiple primary tumors and dose of carcinogens, 3-methoxy-4-aminoazobenzene and 1-butyl-1-nitrosourea, in the rat**

Shigeyoshi ODASHIMA and Yoshiyuki HASHIMOTO*: "Multiple Primary Malignant Tumors" Ed. by L. Severi, p. 911 (1975). Division of Cancer Research, Perugia University, Italy.

The carcinogenic effect of continuous oral administration of 0.09, 0.04, and 0.025% 3-methoxy-4-aminoazobenzene (3-MeO-AB) in the diet, and 0.04, 0.02, and 0.01% 1-butyl-1-nitrosourea (BNU) in the drinking water were studied using Donryu rats.

Liver tumours developed in the majority of rats given 3-MeO-AB. In addition, extrahepatic tumours developed more frequently in the rats given 0.09% 3-MeO-AB than in those given 0.04% or 0.025% 3-MeO-AB. Among 26 animals receiving 0.09% 3-MeO-AB, tumours of the spleen and ear duct developed in 3 animals and tumours of the skin and small intestine in 2. With the lower concentrations, only 2 animals out of 46 developed tumours of the spleen. Thus, the higher concentration of 3-MeO-AB in the diet resulted in a higher incidence of multiple primary tumours.

The animals in all the three groups that received BNU in the drinking water developed leukaemia, stem-cell or erythroblastic type, but a higher percentage, 100 and 76%, in the groups given the 0.04 and 0.02% solutions. In the group that received 0.01% BNU solution, more extrahematopoietic tumours, such as papillomas and squamous cell carcinomas of the forestomach and oesophagus, adenocarcinomas of the mammary

glands, and polyps of the small intestine were found simultaneously with or without leukaemia. The higher concentrations of BNU in the drinking water resulted in a higher frequency of leukaemia early and the lower dose more extrahematopoietic tumours later in the experimental period.

* Tokyo Biochemical Research Institute, Tokyo.

86 **Leukemias Induced by 1-Alkyl-1-nitrosoureas in Donryu Rats**

Shigeyoshi ODASHIMA, Toshiaki OGIU, Akihiko MAEKAWA, and Masahiro NAKADATE: *GANN Monograph on Cancer Research*, 17, 405 (1975).

Leukemogenic activity of 1-ethyl-, 1-propyl-, and 1-butyl-1-nitrosoureas (ENU, PNU, and BNU) was studied in the female Donryu rat that received the chemical continuously in the drinking water. The incidence of leukemia was highest in ENU, lowest in PNU, and in-between in BNU. The average period until the leukemic rats were killed for autopsy was shortest in ENU, longest in PNU, and in-between in BNU. The major type of leukemias induced by ENU was erythro-leukemia, that induced by BNU was myeloblastic leukemia, and that induced by PNU was myelocytic leukemia. There was thus a close relation of leukemogenic activity of chemicals, incidence of leukemia, average period until leukemic rats were killed for autopsy, and the types of leukemias induced.

87 **Spontaneous Tumors in ACI/N Rats**

Akihiko MAEKAWA and Shigeyoshi ODASHIMA: *J. Natl. Cancer Inst.* 55, 1437 (1975)

One hundred ninety-five spontaneous tumors, developing in 55 male and 209 female ACI/N rats in 169 weeks, were studied. The incidence was 56% (31/55) in males and 52% (108/209) in females; their average survival time was 113 and 108 weeks, respectively. These neoplasms were found in all organ systems except those of the sensory and locomotor systems. In the males,

Interstitial cell tumors of the testis (45.5%, 25/55) were most frequent, followed by those in the adrenal (16.4%, 9/55) and pituitary glands (5.5%, 3/55), skin (5.5%, 3/55), and urinary bladder (3.6%, 2/55). In female rats, tumors of the pituitary gland (21.1%, 44/209), uterus (12.9%, 27/209), mammary gland (11.1%, 23/209), adrenal gland (5.7%, 12/209), urinary bladder (4.8%, 10/209), thymus and lymph nodes (4.3%, 9/209), subcutaneous tissues (1.4%, 3/209), heart (1.4%, 3/209), vagina (1.0%, 2/209), and salivary gland (1.0%, 2/209), were detected. In addition, tumors of the glandular stomach, small intestine, spleen, trachea, lacrymal gland, ovary, brain, kidney, thyroid, and bone marrow were detected in 1 female each, and those of the small intestine, spleen, lung, and peritoneum in 1 male rat each. Only 6 adenocarcinomas of the uterus, 3 lymphatic leukemias, 1 cortical carcinoma, and 1 mesothelioma of 195 tumors observed in the present studies metastasized to remote organs.

88 Carcinogenic Effect of 1-Butyl-1-nitrosourea on Female Sprague-Dawley Rats

Shigeyoshi ODASHIMA, Yoshiyuki HASHIMOTO*, Toshiaki OGIU and Akihiko MAEKAWA : *Gann*, 66, 615 (1975).

Carcinogenic effect of a single oral administration of 300 or 200 mg/kg body weight of 1-butyl-1-nitrosourea (BNU) and continuous oral administration of 400 ppm solution of BNU in the drinking water for 5, 10, 15, and 20 weeks to female SD rats was studied. In addition, the number of spleen cells capable of forming plaques (PFC) against primary immunization with sheep red blood cells was investigated in various stages of the animal experiments.

With a single oral administration of BNU, tumors developed in 31/50 (62%) rats between the 25th and 75th week. They were most frequently seen in the mammary gland (40%), followed by the stomach (10%), kidneys (8%), and ovary (8%). Leukemia was found in 8%. No dose-effect relationship was observed in these 2 experimental groups.

On the other hand, tumors developed in 67/77

(88%) of the rats that received BNU in their drinking water. The incidence of tumors was highest in leukemia (61%), followed by mammary tumors (26%), intestinal tumors (12%), and ear duct tumors (8%). There was a dose-effect relationship among the 4 groups in the latent period and target organs for tumor development.

Although the PFC count of the rats receiving BNU for 5 weeks recovered gradually to about 50% of the control level at the end of the 25th experimental week, it remained less than 10% of the control level for the whole experimental period in those receiving BNU longer than 10 weeks. Therefore, it was apparent that the tumors developed, proliferated, and finally killed the host rats in highly immunosuppressive state.

* Tokyo Biochemical Research Institute, Tokyo.

89 Induction of Tumors in Female Donryu Rats by a Single Administration of 1-Propyl-1-nitrosourea

Toshiaki OGIU, Masahiro NAKADATE and Shigeyoshi ODASHIMA : *Gann*, 67, 121 (1976).

Three groups of female Donryu rats were given a single gastric intubation of 800, 400, or 200 mg/kg body weight of 1-propyl-1-nitrosourea and one group of female Donryu rats was given a single subcutaneous injection of 1-propyl-1-nitrosourea. The incidence of tumors was highest for mammary tumors and leukemia, and next for tumors of the ovary, thyroid, and adrenal glands, and in the digestive tract in rats given the chemical by oral administration. There were also scattered tumors in various other organs. Mammary and subcutaneous tumors were found in some rats given a subcutaneous injection of 1-propyl-1-nitrosourea.

90 Increased Susceptibility to Carcinoma of the Liver in Rats with One Kidney Ingesting N-4-(4'-Fluorobiphenyl)acetamide

Melvin D. REUBER : *Gann*, 67, 307 (1976)

The role of the kidneys in hepatic carcinogenesis was studied in inbred Buffalo strain male rats ingesting 0.04% N-4-(4'-fluorobiphenyl)acetamide in the diet. Experimental groups were made

up of male rats with both kidneys intact and male rats with the left kidney removed. The incidence of carcinomas of the liver and the number of rats with large carcinomas, multiple carcinomas, poorly differentiated and undifferentiated carcinomas, and metastases were greater in rats with a uninephrectomy. Apparently the animals with one kidney removed were unable to secrete the metabolites of N-4-(4'-fluorobiphenyl)acetamide as readily as the rats with both kidneys.

91 環境発癌(1) 化学発癌物質

小田嶋成和：第19回日本医学会総会誌，p. 435 (1975) 京都。

本文は第19回日本医学会総会におけるシンポジウム“発癌をめぐる”で発表されたものの大要である。

1971年迄に、全世界で凡そ4,850種類の化合物について発癌動物実験が行なわれ、それらの中で、陰性例が43%、陽性及び疑陽性例が57%であった。特に、1960年代を境として、N-ニトロソ化合物と、生活環境に存在するその他の各種化学物質が、発癌研究の対象とされるようになった。この中、N-ニトロソ化合物を例として、化学物質による発癌について述べた。

92 実験白血病における前白血病

前川昭彦：第19回日本医学会総会誌，p. 998 (1975)，京都

ENU および BNU による白血病発症までの末梢血液像の変化を観察した。ENU および BNU は最終的には病型の異なる白血病を発症させるが、白血病発症に先行する所見としては、①赤血球および白血球数の減少、②相対的なリンパ球減少と好中球増加が認められるのみで、特異的な血液学的所見は認めることが出来なかった。

93 癌原性物質

小田嶋成和：耳鼻咽喉科，47，657 (1975)

癌原性物質について、その概念、発癌へのプロセス、経胎盤発癌効果について述べ、これら癌原性物質の中から、N-ニトロソ化合物について、特に尿素型ニトロソ化合物を例として構造-標的臓器相関を示し、最後に、生活環境中に含まれるN-ニトロソ化合物前駆体について考察した。

94 癌原性物質の標的臓器

小田嶋成和：化学工業，1976年4月号，365 (1976)

化学物質を便宜上、1. 芳香族炭化水素 2. 芳香族アミンおよび関連ニトロ化合物、3. 芳香族アゾ化合物およびその複素環式類縁体、4. 複素環式化合物、5. 脂肪族化合物 (N-ニトロソ化合物を除く)、6. N-ニトロソ化合物、7. 無機物、8. その他、の8種類に分け、その各々について標的臓器との相関性を論述した。

95 哺乳動物発癌実験の方法と評価——日米癌協力研究事業による会議——

小田嶋成和：蛋白質・核酸・酵素，21，76 (1976)。

1975年11月、日米癌研究協力事業の一環として「哺乳動物を用いる発癌性テストの方法と評価」と題する会議が行なわれた。米国側は米国国立癌研究所 Dr. Saffiotti 他6名で、“Guidelines for Carcinogen Bioassay in Small Rodents” (NCI, 1975) の執筆に携わった学者が大部分であり、日本側は現在この分野研究の第一線で活躍中の20名が出席した。

最初に会議開催の背景について述べ、次に会議での討議内容の①テスト物質の選び方、②実験動物の種類、③動物管理および基本食、④検体投与方法、あるいは、⑤動物実験成績の評価について記し、最後に、今後の日米協力のあり方について述べた。

96 Lipopolysaccharide による発熱反応に対する Eserine 及び Quabain の効果

小川義之，加納晴三郎：日薬理誌，72 (6) (1976)，印刷中

細菌性発熱物質 (lipopolysaccharide, LPS) による発熱反応において Eserine 前処置および Quabain の同時投与の影響を家兎を用いて実験し次の如き結果が得られた。

(1) Ouabain (0.06 mg/kg) と LPS (0.02 μ g/kg 或いは 1 μ g/kg) を同時に静注すると著明に LPS による発熱が抑制された。しかし、同じ投与量の Quabain は LPS (10^{-4} μ g/kg 或いは 10^{-3} μ g/kg) の大槽内投与による発熱は抑制しえなかった。

(2) Quabain (0.06 mg/kg) と LPS (25 μ g/kg) を同時に静注して2時間後に採取した脳脊髄液 (Cerebrospinal fluid, CSF) の発熱活性は対照実験の LPS 単独投与により得た CSF よりも弱かった。

(3) Eserine 前処置 (0.5 mg/kg, S.C., 1時間) して LPS (1 μ g/kg) を静注すると LPS による発熱が増強される傾向がみられた。また、そのとき採取した CSF は対照実験の LPS 単独投与 (1 μ g/kg, i.v.)

では認められなかった発熱活性が認められた。

(4) Eserine 前処置 (0.5 mg/kg, s.c., 1時間) して LPS (1 µg/kg) と Ach (10 µg/kg) を同時に静注し2時間後に採取した CSF は強い発熱活性を示した。

以上の結果より Quabain による Na, K-ATPase 活性の抑制は、それぞれ血液-脳関門 (Blood-Brain Barrier, B.B.B.) の透過性の抑制と昂進を惹起せしめるものと推定された。

また、LPS による発熱反応における B.B.B. の重要性が示唆された。

97 **Studies on Medicinal Plants and Crude Drugs in Thailand (October-November 1974), Taxonomical Study on Medicinal Plants in Thailand (Part 2)**

Motoyoshi SATAKE, Thanomwang AMATHAYAKUL*, Daroon PECHARAPLY*, and Reunsakdi PANVISAVA*: *Reports on Thai Medicinal plants Research Project, 1974*, B 49, Department of Medical Sciences, Bangkok, Thailand (1976)

A thousand of specimens of medicinal plants and allied plants were collected by the field surveys at three regions in Thailand. The results on the taxonomical studies on the specimens are tabulated and shown in figures.

* Department of Medical Sciences, Bangkok, Thailand

98 **熱帯薬用植物の導入馴化について**

宮崎幸男: *熱帯農業*, 19, 21 (1975)

熱帯植物の導入馴化に関するシンポジウムで薬用植物を対象とし、当场でこれまで実際に行なってきた熱帯薬用植物の導入、育成の経緯をのべ、多くの育成植物についての日々の観察や調査の結果、またいままでは行なってきた各種の栽培研究の結果をもとにして、熱帯薬用植物の導入馴化に関する問題点をとり上げ、主として栽培の立場から検討を加えた。

99 **ヒマ種子中に含まれる Ricin の生理活性に関する研究 (第3報) Ricin の末梢血管透過性亢進作用について**

古謝紀和, 持田研秀, 吉田 稔: *衛生化学*, 21, 337 (1975)

強い致死活性を有する ricin は、発熱作用とともに家兔の皮膚に出血をひき起し、きわめて強い炎症反応

を示した。この出血作用は血管透過性亢進作用にもとずき、色素の併用により一層明瞭になった。ricin の透過性亢進作用は数時間の潜伏期ののち発現し長時間活性を持続する遅延型の反応を示した。さらに炎症プロテアーゼの可能性について検討したが、カゼイン分解酵素活性および合成基質に対するエステラーゼ活性は認められなかった。この結果 ricin は強い炎症反応を示すが炎症プロテアーゼ作用はないものと考えられる。

100 **漢方湯液中における黄連と大黃および甘草の反応に関する研究**

持田研秀, 野口 衛: *昭和50年厚生科学研究報告書*。

1. 傷寒論, 金匱要略に記載される黄連配合剤12種を自家調製し、苦味を調べたところ、大黃, 甘草を配合したものはすべて、ベルベリン型アルカロイド(I)の苦味が消失し、それ以外の生薬は苦味消失に影響を与えなかった。

2. 大黃中の(I)と反応する物質は、水溶性で、皮革末に吸着される一種のタンニン様物質で、反応物は、人工胃液、人工腸液に難溶であった。

3. 甘草中の(I)と反応する物質は、グリチルリチンおよび一種のイソフラボン誘導体で、その反応物は、人工胃液に可溶であった。

101 **市販サラミソーセージの菌類とペニシリン酸生産性の検討**

高鳥浩介*, 高橋恵子*, 鈴木敏正**, 宇田川俊一, 倉田 浩: *食衛誌*, 16, 307 (1975)

市販カビ醱酵型、自然醱酵型サラミソーセージ試料について菌類分布を調査し、主要菌としてカビ醱酵型より *P. cyclopium*, *P. viridicatum* など *Penicillium* を、自然醱酵型より *Cephalosporium* sp., *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *Aspergillus versicolor*, *P. cyclopium* などを分離した。カビ醱酵型の *Penicillium* は主として加工上のスターターと考えられるが、分離株の penicillic acid 産生能は認められず、カビ醱酵型ソーセージなどは食品衛生上一応支障ないものと考えられる。

* 食品・薬品安全センター

** 埼玉県衛生研究所

102 **日本国内土壌中における aflatoxin 生産菌の分布について**

高鳥浩介*, 高橋恵子*, 宇田川俊一, 倉田 浩:

マイコトキシン, 1, 20 (1975)

わが国における肝癌多発地域特殊性の指標として畑地土壤中の aflatoxin (AF) 生産菌の分布について検索を行った。北海道, 群馬, 神奈川, 山梨, 長野, 福岡, 長崎, 宮崎, 鹿児島, 沖縄の 10 地域から集めた畑地表面土 297 試料を供試, 分離培養を行って *Aspergillus flavus* 菌群に属する出現菌を集め純粋分離後, Rec assay 法により突然変異誘起活性を指標として AF 生産性を検索した。結果的に, 関東以北では全く *A. flavus* 群がみられず, 九州, 沖縄地方でのみ各々 18, 24%, 平均 14.5% の試料に *A. flavus* が発見され, 温暖な亜熱帯地域に生息することが認められた。

A. flavus 群検出の 44 試料から *A. flavus* 群 68 株を分離し AF 生産性を検定した結果, 15 株が明らかな活性を示した。陽性株の出現率は平均 22%, 地域的には長崎県五島列島福江島が最高で 13 株, 鹿児島, 沖縄県からも陽性株を得た。これらの結果は AF 生産菌の分布が亜熱帯から温帯四南部に及び, 肝癌多発地域の特殊性を示す指標として注目されることを示唆している。

* 食品・薬品安全センター

103 *Aspergillus candidus* の toxin A (terphenyllin), B (xanthoascen) の産生について

高橋千加子*, 岡田節子, 義平邦利, 名取信策, 宇田川俊一, 坂部フミ, 倉田 浩: マイコトキシン, No. 2, 26 (1976)

Toxin A, B がこの菌が広く代謝するものであるかどうかを, マレーシアの米から分離した 91 株の *A. candidus* について検討し, A を全株から, B を 6/10 (米培養のみ) から検出した。

* 春日部市立病院

104 ムギ類由来糸状菌のマイコトキシン産生性

一戸正勝, 高鳥浩介*, 田中しず子, 熊田広子, 鈴木敏正**, 倉田 浩: 食衛誌, 16, 381 (1975)

国内流通中のコムギ 64 点, オオムギ 61 点の穀粒の糸状菌分布と分離菌株のマイコトキシン産生能について検索した。

Aspergillus, *Penicillium*, *Alternaria* の三属菌がコムギ, オオムギ穀粒に共通して優先し, 70~80% の試料から検出され, ついで *cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* などが高頻度にみられたが *Fusarium* は少なかった。*Aspergillus* 類に高度に汚染された試料は, コムギの 18.8%, オオムギの 39.3% に達したが, *A. flavus*

はコムギ (44%), オオムギ (31%) に陽性で, それぞれ 8%, 10% の試料が高度汚染されていた。*A. versicolor* はコムギ (16%), オオムギ (38%) の陽性率であり, オオムギの 7% を高度汚染していた。*A. ochraceus* はコムギの 16%, オオムギの 25% に陽性であったが高度汚染試料は少なかった。コムギ, オオムギともに 14~15% の試料に *A. clavatus* が検出された。

代表的な分離 *Aspergillus* 類菌株について, 固体培養あるいは液体培養後, 有機溶媒で抽出したのち, 薄層クロマトグラフィーまたはガスクロマトグラフィーによりマイコトキシン産生能を検索した。

A. flavus 58 株中 9 株 (15.5%) に Aflatoxin 類, *A. versicolor* 48 株中 32 株 (66.7%) に sterigmato-cystin, *A. ochraceus* 22 株中 5 株 (23.6%) に Ochratoxin A, 17 株 (77.3%) に penicillic acid の産生をみると, また *A. clavatus* 13 株中 10 株 (77%) が patulin 産生株であった。

* 食品薬品安全センター-泰野研究所

** 埼玉県衛生研究所

105 籾類の性状と保存について—I 籾類の性状とソルビン酸類による基礎的保存試験

露木英男*, 伊藤真吾*, 鈴木 昭, 河西 勉:
日大農獣医学部学術研究報告, 33, 379 (1976)

籾類の保存に寄与するため, その理化学的性状を調べ, さらにソルビン酸およびソルビン酸カリウムによる籾類の基礎的保存試験をおこなった。

1) 生籾は練籾にくらべて自由水が多く, 水分活性が高かった。したがって, 生籾は練籾より腐敗しやすい。

2) 籾液 (生籾に対し 3 倍量の純水を添加した溶液) に対するソルビン酸カリウムの添加量を増加すれば, 生籾の保存時間を引き延ばすことができるが, 30° で 1 日以上保存することが困難である。

3) 籾液に一定量のソルビン酸カリウムを添加した場合, その pH が低いほど, 生籾の保存性が向上する。

4) 練籾 (含糖率: 約 39%) を 30° で保蔵する場合, ソルビン酸またはソルビン酸カリウムの添加 (ソルビン酸として 1/1000 添加) は有効であった。この場合ソルビン酸はソルビン酸カリウムより有効である。

5) 練籾に対しソルビン酸カリウムを, ソルビン酸として 1/1000 の濃度で加え, 30° で保存した場合,

練餡の pH が低いほど、保存性が增大する。また練餡の糖濃度が高いほど、その保存性が增大する。

* 日大農獣医学部食品工学

106 餡類と性状と保存について—II 餡類の保存に対するソルビン酸類の有効性

露木英男*, 伊藤真吾*, 鈴木 昭, 河西 勉:
日大農獣医学部学術研究報告, 33, 389 (1976)

餡類の保存に対するソルビン酸類(ソルビン酸およびソルビン酸カリウム)の有効性を検討した。

1) 生餡に対するソルビン酸類の保存効果は、生餡の含水率, pH, 保存温度によって異なり、これらの数値を下げれば、保存効果は向上する。生餡を 0° または 10° で保存する場合、1/1000 量のソルビン酸類の使用は有効である。しかし、生餡を 20° 以上の温度で保存する場合ソルビン酸類の効果はあまり期待できない。

2) 練餡に対するソルビン酸類の保存効果は、練餡の含糖率, 含水率, pH, 保存温度によって異なり、含糖率は高いほど、含水率, pH, 保存温度は低いほど、保存効果は上がる。練餡(含糖率: 約39%)の 10° 保存の場合、ソルビン酸類を使用する必要はないが、20° 以上の保存の場合、ソルビン酸類の使用が有効である。しかし含糖率 60% 前後の練餡では 30° の保存でもソルビン酸類を使用する必要がない。

3) 餡類の微生物の発育阻止は、ソルビン酸類の添加よりも、加熱工程や糖添加の影響の方が強いようである。

* 日大農獣医学部食品工学科

107 魚肉ソーセージのソルビン酸による保存効果の再検討

和田 俊*, 野中順三九*, 小泉千秋*, 小沼博隆, 鈴木 昭: 食衛誌, 17, 95 (1976)

魚肉ソーセージの保存性に対するソルビン酸の効果調べる目的で常温流通を目標とした製品を 30° に、また低温流通が規定されている製品を 10° および 15° に貯蔵し、pH 値, VBN, TMA-T, ソルビン酸残存量, セリー強度, 細菌数などの測定および官能検査によって品質を検討し、次のような結果を得た。

1) 常温流通を目標とした供試品の 30° における保存性はソルビン酸無添加の対照が 1 週間以内であったのに対し、0.1% ソルビン酸および 0.2% ソルビン酸添加試料はそれぞれ 2 週間および 3 週間程度であった。

2) 低温流通が規定されている供試品の 10° および 15° における保存性は、いずれもソルビン酸添加の有無に関係なく、7 週間以上であった。したがって、ソルビン酸が有効に作用する pH に魚肉ソーセージの pH 値を調整すればソルビン酸の法定許可量以内の使用で、魚肉ソーセージを 2 カ月程度保存することは可能であると推定した。

* 東京水産大学

108 Benzamide 誘導体の抗菌力に関する研究

富沢尊儀*, 栗栖弘光: 薬理と治療, 23, 247 (1976)

2-*n*-hexyloxybenzamide を主として数種の alcoxybenzamide 誘導体の細菌, 酵母および酵母様真菌, 子囊菌ならびに皮膚糸状菌に対する抗菌力について試験したところ、2-*n*-hexyloxybenzamide は、細菌, 酵母, 酵母様真菌および子囊菌に対して抗菌作用は認められないかまたはごくわずかであったが、皮膚糸状菌に対しては、強い抗菌作用が認められた。5 種類の各 alcoxybenzamide の皮膚糸状菌に対する抗菌作用は、hexyl, butyl, octyl の順で弱くなり、他の 2 種のアルキル基をもったものでは抗菌作用は認められなかった。

* 関東労災病院皮膚科

109 Materials for the fungus flora of Japan (19) Shun-ichi UDAGAWA and Kouhei FURUYA*: *Trans. mycol. Soc. Japan*, 16, 215 (1975)

The following four species of ascomycetous fungi and a hyphomycete are described as new Japanese records: *Apiosordaria verruculosa*, *Coniochaetidium savoryi*, *Cordana ellipsoidea*, and *Thielavia fimeti*. All are defined as terrestrial habitants.

* 三共株式会社醸酵研究所

110 Notes on some Japanese Ascomycetes XIV Shun-ichi UDAGAWA and Yoshikazu HORIE*: *Trans. mycol. Soc. Japan*, 16, 337 (1975)

Soil species of ascomycetous microfungi occurring on soil collected from various areas of Japan are reported. Two new species, *Chaetomium piluliferoides* and *Neocosmospora striata*, are described. Also, there are reported three species for the

first time for Japan, viz. *Eleutherascus peruvianus*, *Triangularia backusii*, *Podospora carbonaria*, and *Zopfiella longicaudata*.

* 千葉大学生物活性研究所

111 カキの微生物叢について

小沼博隆, 鈴木 昭, 河西 勉, 高山澄江, 水島久美子, 高久 久*, 山田 満*: 食衛誌, 16, 422 (1975)

カキによる原因不明食中毒は、疫学的調査などの結果から明らかに微生物感染によるものと推測されている。それにもかかわらず病因不明に終わっていた一因として、著者らは、原因追求の際、既知の食中毒菌検索に重点が置かれすぎたためではなかったかと考えた。そこで、検査に際して、選択培地のほか、非選択培地

の使用と、さらにこれら事件が下痢を主徴とする点に着目し、特に腸管内微生物を幅広く検索する方法を導入し、事件と関係の深かった広島産、比較的關係の無かった東北産カキの微生物叢を検討し、次のような結果を得た。

広島産では、*Lactobacillus* subgenus *streptobacterium* が最優勢菌で、次いで、*Aeromonas hydrophila* subspecies *hydrophila* biotype 1 であった。これに対し、東北産では、*Vibrio* spp. が最優勢菌であり、両者には、大きな違いが認められた。

特に、起病性を有するといくつか報告されている *A. hydrophila* subspecies *hydrophila* biotype 1 が広島産に優勢菌として検出されたことは、注目に値する。

* 東京都市場衛生検査所

1. 神谷庄造：1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine および関連化合物の Pyridine Analog の合成について
有機合成化学特別総合研究発表講演会 (1975. 6. 3)
2. 神谷庄造, 柳町きみえ：3-ピリジルメチルニトロソ尿素誘導体の合成と反応について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
3. 神谷庄造, 丹野雅幸：4-(3-cyano-1-triazeno) pyridine 1-oxide 誘導体の合成と反応について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
4. 宮原 誠, 中館正弘, 安齊美知子, 鈴木郁生：N-ニトロソ尿素類の合成と反応性について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
5. 山本 都, 山田 隆, 谷村顕雄：グリコシアミンと亜硝酸塩との反応生成物について
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
6. 山田 隆, 山本 都, 谷村顕雄：グリコシアミンと亜硝酸塩からのカルボキシメチルニトロソウレアの生成速度について
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
7. 佐々木喜男*, 中村恵三：Ni(AA)₂-Lewis 塩基系の付加体形成について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
* 大阪大学
8. 関田節子, 義平邦利, 名取信策, 桑野晴光*, J.V. SILVERTON**, 秋山敏行***, C. KABUTO** : *Chaetomium globosum* の代謝する細胞毒性物質 chaetoglobosins の構造. III.
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
* 三共中研,
** NIH, Bethesda, U.S.A.
*** 東大薬
9. 高橋千加子*, 関田節子, 義平邦利, 名取信策 : *Aspergillus candidus* の毒性代謝産物の構造. II.
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
* 春日部市立病院
10. 叶多謙蔵, 阿部久人：磁場掃引速度と質量スペクトルの分解能について
第23回日本質量分析学会 (1975. 6. 12)
11. 叶多謙蔵, 阿部久人, 織部澄男：ミニコンによる質量分析計の操作法に関する研究 (第2報) 高分解能および低分解能法での検出感度の比較
第24回日本分析化学会 (1975. 10. 1)
12. 叶多謙蔵, 阿部久人：ミニコンによる質量分析計の操作法に関する研究 (第3報) ピーク積分法による検出感度の向上
昭和51年度日本農芸化学会 (1976. 4. 1)
13. 亀谷勝昭, 戸村加代子：²²⁸Ra の分析法について
第12回理工学における同位元素研究発表会 (1975. 6. 18)
14. 亀谷勝昭, 浦久保五郎：食品中の ²²⁶Ra および ²¹⁰Pb 含量について
第17回放射能調査研究成果発表会 (1975. 12. 18)
15. 緒方宏泰, 柴崎利雄, 井上哲男：クロラムフェニコール錠の Bioavailability と溶出試験法
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
16. 斉藤恵美子, 柴崎利雄, 井上哲男, 石橋無味雄：高速液体クロマトグラフィーによる混合製剤中のバルビタール類の定量
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
17. 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良：ピロールによるコルチコイドの比色定量 (II) 17-ヒドロキシコルチコイドの定量
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
18. 太田美矢子, 早川堯夫, 中路幸男, 川村次良：高速液体クロマトグラフィーによるステロイドホルモンの分析—日立 3011 を用いたコルチコイドの分離について
日本分析化学会第24年会 (1975. 10. 2)
19. 太田美矢子, 早川堯夫, 中路幸男, 川村次良：高速液体クロマトグラフィーによる軟膏製剤中のコルチコイドの分離定量

- 日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
20. 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: ピロールによる
コルチコイドの比色定量 (I) 17-デスオキシコルチ
コイドの定量
日本分析化学会第24年会 (1975. 10. 1)
21. 神藏美枝子, 菅 浩子: 着色料の有機微量成分に
関する研究 (第2報) キサンテン系色素について
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
22. 武田明治, 内山 充, 福原克治*, 青木葉一**:
農作物中の有機リン農薬の分析法
環境科学総合研究会第1回発表会 (1975. 6. 7)
- * 食品, 薬品安全センター
** 医療食協会
23. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 油脂性食品中の
フタル酸エステル類の分析
環境科学総合研究会第1回発表会 (1975. 6. 7)
24. 内山 充, 五十畑悦子: マイコトキシン (かび
毒) の高速液体クロマトグラフィー
第12回全国衛生化学技術者協議会総会 (1975. 9. 11)
25. 内山貞夫, 近藤龍雄, 内山 充: 増けい光剤の均
一噴霧による TLC fluorodensitometry の微量化
とその食品分析への応用
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
26. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: フタル酸エステ
ル類の分析と食品環境汚染
第2回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジ
ウム (1975. 10. 27)
27. 三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充: 生体の抗酸化能
に関する研究
第19回日本薬学会関東支部大会 (1975. 11. 15)
28. 五十畑悦子, 内山 充: 高速液体クロマトグラフ
ィーによるマイコトキシンの分析について
第19回液クロ研究会 (1976. 2. 6)
29. 吉田武美*, 早川なおみ*, 内山 充: ピペロニル
プトキサイドの薬物代謝酵素活性に及ぼす二相性効
果の機構について
日本農薬学会第1回大会 (51年3月)
- * 東北大学薬学部
30. 斎藤行生, 中西多恵, 武田明治, 内山 充: 食品
及び人脂中の石油系炭化水素について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
31. 内山貞夫, 近藤龍雄, 内山 充: DNS-Amine 類
の TLC-fluorodensitometry における増けい光につ
いて
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
32. 五十畑悦子, 武田由比子, 内山 充: マイコトキ
シンの化学分析に関する研究 (第7報) 高速液体ク
ロマトグラフィーによるパツリン, ペニシリン酸,
オクラトキシン A, チトリニン等の分析
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
33. 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: 植物性食品中の
カドミウムの化学型について
日本薬学会東北支部例会 (1976. 5. 17)
34. 内山 充, 鈴木 隆, 武田明治, 末永良治, 荒田
栄次: 食品中の重金属の化学形態—米および大豆中
のカドミウムの化学性—
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 20)
35. 斎藤行生, 関田 寛, 中西多恵, 内山 充: 食品
中の石油系炭化水素の分析法に関する研究
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 21)
36. 五十畑悦子, 武田由比子, 内山 充: マイコトキ
シンの化学分析に関する研究 (第8報) 高速液体ク
ロマトグラフィーによるアフラトキシン類ステリゲ
マトシステンおよびその関連化合物の検討
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 21)
37. 慶田雅洋, 西川マチ子: ごま油・調合ごま油中の
セサモール, セサモリンおよびセサミンの定量とご
ま油の鑑別への応用の可能性
第12回全国衛生化学技術協議会総会 (1975. 9. 11)
38. 伊藤蒼志男, 外海泰秀, 豊田正武, 金田吉男, 慶
田雅洋: 輸入かんきつ中の保存料の系統的分析法の
確立

- 第12回全国衛生化学技術協議会総会 (1975. 9. 11) 日本化学会第33秋季年会 (1975. 10. 17)
- * ポーラ研究所
39. 豊田正武, 伊藤晋志男, 金田吉男, 慶田雅洋, 松本康江*: ぶどう酒中のソルビン酸の数種定量法の比較検討
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 2)
- * 神戸女子薬科大学
40. 慶田雅洋, 鈴木英世, 中村恵三: ベルガモット油およびその含有化粧品中のフロクマリンの分離・定量
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
41. 豊田正武, 金森孝子, 伊藤晋志男, 慶田雅洋: 野菜, 果実に残留するペノミルとチオファネート代謝物および 2-アミノブタンの定量法
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
42. 外海泰秀, 慶田雅洋, 館 正知*, 小瀬洋喜**, 佐藤孝彦*: 食用タール色素の微生物分解生成物について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
- * 岐阜大学医学部
** 岐阜薬科大学
43. 慶田雅洋, 中村恵三, 鈴木英世, 金田吉男: イオン電極法による食品中のホウ素の定量
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
44. 伊藤晋志男, 豊田正武, 金森孝子, 慶田雅洋: ソルビン酸, 安息香酸, デヒドロ酢酸, サリチル酸およびパラオキシ安息香酸エステル類の各種食品からの抽出と分別定量法について
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 20)
45. 慶田雅洋, 金田吉男, 松本陽子, 山路 昭*: 合成膨脹剤の発生ガス測定法の改良
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 20)
- * 大阪大学附属病院薬剤部
46. 岡谷吉雄*, 三砂久美子*, 谷川考博*, 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 化粧品および化粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析 (第5報) 一防腐・殺菌剤の分析法一
日本化学会第33秋季年会 (1975. 10. 17)
- * ポーラ研究所
47. 岡谷吉雄*, 三砂久美子*, 谷川考博*, 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 化粧品および化粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析 (第6報) 一ビタミン類の分析法の検討一
日本化学会第33秋季年会 (1975. 10. 17)
- * ポーラ研究所
48. 大西重樹*, 西島 靖*, 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品用色素の分析 (第1報) 一水溶性色素の分析条件一
日本化学会第33秋季年会 (1975. 10. 17)
- * 鐘紡化粧品研究所
49. 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治, 大西重樹*, 西島 靖*: 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品用色素の分析 (第2報) 一キサンテン系色素等の分離一
日本化学会第33秋季年会 (1975. 10. 17)
- * 鐘紡化粧品研究所
50. 大西重樹*, 西島 靖*, 木嶋敬二, 狩野静雄, 外村正治: 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品用色素の分析 (第3報) 一カチオン交換樹脂を用いるキサンテン系色素の溶出挙動について一
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
- * 鐘紡化粧品研究所
51. 辻 楠雄, 水町彰吾, 大場琢磨: 人工腎臓用 PVC 製回路から灌流時に溶出するフタル酸エステルについて
第13回日本人工臓器学会 (1975. 9. 28)
52. 辻 楠雄, 菊地 寛, 堀部 隆*, 相良 学*: ポテンショスタットによるアマルガムの耐食性の検討
第32回日本歯科材料器械学会 (1976. 5. 21)
- * 福岡歯科大学
53. 毛利潤子, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭, 大場琢磨: 衣類等の家庭用品中の有機水銀および総水銀の分析

- 第12回全国衛生化学技術協議会総会 (1975. 9. 11)
54. 毛利潤子, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 大場琢磨: 繊維製品の化学処理剤の衛生化学的研究—衣類中のディルドリンの含有量, 溶出量ならびに発散量について—
第2回環境汚染物質とそのトキシコロジー・シンポジウム (1975. 12. 5)
55. 大場琢磨: 繊維処理剤の安全対策
繊維学会 (1975. 10. 27)
56. 山手 昇, 松村年郎: ザルツマン試薬を用いる窒素酸化物自動計測器の NO₂ 測定における O₃ の影響について
第16回大気汚染研究全国協議会大会 (1975. 11. 6)
57. 山手 昇, 松村年郎: 大気中のアクロレインの吸光度法による測定について
第16回大気汚染研究全国協議会大会 (1975. 11. 7)
58. 山手 昇他10名: 密閉構造建築物における空気質(マイナスイオン)についての調査研究
第2回建築物環境衛生管理全国大会 (1975. 1. 31)
59. 安藤正典, 中室克彦, 松井啓子, 佐谷戸安好, 外村正治: 皇居外苑濼水質の衛生化学的研究 (第5報) 濼水質の栄養収支について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
60. 松井啓子, 中室克彦, 佐谷戸安好, 外村正治: 水道水の衛生化学的研究; フェノール類の 4-アミノアンチピリンによる定量について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
61. 菊池彰子, 安藤正典, 佐谷戸安好, 外村正治: 塩化ビニルモノマーの衛生化学的研究
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
62. 中室克彦, 佐谷戸安好, 外村正治, 小瀬洋喜*: セレン関連化合物に関する研究
第2回環境汚染物質とそのトキシコロジー (1975. 10. 27)
- * 岐阜薬科大学
63. 叶多謙蔵, 阿部久人, 織部澄男: ガスクロマトグラフィーによる塩化ビニル単量体の分析 (第2報) ヘッド・スペース分析法の研究
日本化学会第34春季年会 (1976. 4. 4)
64. 叶多謙蔵: ガスクロマトグラフィーによる塩化ビニル樹脂中の塩化ビニル単量体の分析法の検討
第12回全国衛生化学技術者協議会総会 (1975. 9. 11)
65. 佐藤美恵子, 辰濃 隆: 塩化ビニル樹脂製容器からの塩化ビニルモノマーの移行について
全国衛生化学技術協議会 (1975. 9. 11)
66. 佐藤美恵子, 辰濃 隆, 谷村頭雄: 塩化ビニル樹脂製食品包装材中の使用可塑剤について
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 14)
67. 中垣正幸*, 岡田敏史: フェノチアジン系向精神薬に関する研究—水溶液中の導電率
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
- * 京都大学薬学部
68. 早川堯夫, 川村次色, 木村俊夫, 福田秀男: 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase—各種ステロイドとの相互作用
第48回日本生化学会大会 (1975. 10. 16)
69. 早川堯夫, 三谷和子, 川村次良: 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase—各種ステロイドとの相互作用 (第2報)
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
70. 福田秀男, 早川堯夫, 川村次良, 相沢義雄*: ウシ Neurophysin I および II のホルモン結合部位について
第48回日本生化学会大会 (1975. 10. 16)
- * 東京薬科大学
71. 池淵秀治, 亀谷勝昭, 浦久保五郎: 生体内における鉛の結合タンパク質について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
72. 南原精一, 山羽 力: 細菌酵素によるニトロフラン誘導体の還元について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)

73. 時枝利江, 新村寿夫, 高村二三知, 山羽 力: シクロヘキシルアミノオキシダーゼの精製と性状
日本農芸化学会, 関東支部大会 (1975. 11. 4)
74. 田中 彰, 松本明世, 山羽 力: フタル酸エステル類に関する生化学的研究 (第4報) DBP のラットによる代謝について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
75. 藤井敬二*, 渡辺光夫: 新生仔マウスを使用した発癌実験 (V) トリプトファン代謝産物の癌原性について
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
* 筑波大学医学専門学群基礎医学系
76. 渡辺光夫, 吉田美枝子, 高橋徹三*: 3-ヒドロキシアントラニル酸およびヒドロキシヌレニンの尿中排泄とトリプトファン摂取量との関係
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
* 筑波大学体育専門学群体育科学系
77. 嶺岸謙一郎, 大沢陸生, 山羽 力: 合成洗剤に関する研究 (第1報) α -オレフィンスルホン酸の経皮吸収
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
78. 三木 誠*, 大石幸彦*, 上田正山*, 木戸 晃*, 町田豊平*, 田中 彰, 倉田邦夫**, 池田勲夫**: われわれが開発した renal scanning agent, ^{99m}Tc -malic acid
第15回日本核医学会総会 (1975. 10. 27)
* 東京慈恵会医科大学, 泌尿器科
** ダイナボット RI 研究所
79. Ved P. BHARADWAJ*, Takashi YAMADA, Akio TANIMURA and Shozo TAKAYAMA*: N'-Nitrosonornicotine (NNN) in Japanese Tobacco Products
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
* 癌研究所
80. 石綿 肇, 伊藤弘子, 谷村顕雄, 石館守三*: ニトロソ化合物の生体内生成に関する研究 (第5報) ヒト混合唾液より分離した細菌によるジメチルニトロソアミンの生成
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
* 東京生化学研究所
81. 石綿 肇, 伊藤弘子, 谷村顕雄: ニトロソ化合物の生体内生成に関する研究 (第6報) 食品の組合わせによるジメチルニトロソアミンの生成
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 20)
82. 酒井綾子, 谷村顕雄: N-メチルカーバメート系殺虫剤と亜硝酸との反応について
日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 20)
83. 高橋 惇, 大森義仁, 榎本 眞*: 2-アセチルアミノフルオレンの N-水酸化体の *in vivo* および *in vitro* におけるラット肝リゾゾーム酵素に及ぼす影響
第52回日本薬理学会関東部会 (1975. 6. 7)
* 聖マリアンナ医科大学
84. 高橋 惇, 大森義仁, 袖本幸男*, 榎本 眞*, 佐藤 圭**: アミノアゾ色素の N-水酸化 活性の種差 II
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
* 聖マリアンナ医科大学
** 弘前大学
85. 大森義仁: 催奇形性物質の評価における問題点
第15回日本先天異常学会総会シンポジウム (1975. 11. 8)
86. 高仲 正, 小野田欽一, 中浦慎介, 篠内桃子, 大森義仁: Sodium dodecyltrioxyethylene sulfate の経皮吸収について
日本薬理学会第53回関東部会 (1975. 11. 22)
87. 高橋 惇, 大森義仁, 馬淵基樹*, 袖本幸男*, 榎本 眞*: ラット, モルモットの発癌種差と肝リゾゾーム酵素の変動
第2回毒作用研究会 (1976. 2. 10)
* 聖マリアンナ医科大学
88. 藤森観之助, 長尾重之, 大森義仁, 金子豊蔵, 堀内茂友: メチル水銀長期投与のラット中枢に及ぼす影響
第49回日本薬理学会総会 (1976. 3. 30)

89. 小野田欽一, 篠内桃子, 中浦慎介, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide-3-¹⁴C のラットにおける体内分布と胎仔移行について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
90. 小野田欽一, 篠内桃子, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁, 長谷川 明, 浦久保五郎: マンガン(⁵⁴Mn)のラットにおける胎仔移行と分布について
第31回日本食品衛生学会学術講演会 (1976. 5. 21)
91. 田中 悟, 小野田欽一, 川島邦夫, 中浦慎介, 長尾重之, 桑村 司, 大森義仁: Butylated hydroxy-toluene (BHT) のラット胎仔移行と次世代に及ぼす影響について
第31回日本食品衛生学会学術講演会 (1976. 5. 21)
92. 吉川邦衛, 山本 都, 山田 隆, 内野晴美*, 宮沢文雄*: カルボキシメチルニトロソウレアのDNA損傷と突然変異性
日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)
* 実践女子大学
93. 中嶋富士, 岩原繁雄*: Streptomycin-dependence method に関する研究
日本環境変異原研究会 (JMS) 第4回研究発表会 (1975. 9. 27)
* 食品薬品安全センター
94. 早津彦哉*, 鄧 圭燦*, 田中邦幸*, 賀田恒夫**, 中嶋富士: ソルビン酸と亜硝酸との反応性および生成物の生物活性について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 7)
* 東京大学薬学部
** 国立遺伝研
95. 永松国助, 城戸靖雅, 浦久保五郎: 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (DOM) の代謝
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)
96. 中室克彦, 吉川邦衛, 外村正治, 佐谷戸安好: 金属化合物の染色体異常に関する研究
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 4)
97. 長谷川明, 鈴木康雄, 浦久保五郎, 祐田泰延*, 山本丈夫*: メチル基転移反応に与えるセレンの影響—セレン中毒と貧血の関係について
第2回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1975. 10. 27)
* 静岡薬科大学
98. 浦久保五郎, 長谷川明, 澤村良二*, 井口法男*, 浅井三千子*: ¹⁴C-イソシアヌル酸の吸収と排泄, 分解
日本薬学会96年会 (1976. 4. 7)
* 日本大学薬学科
99. 石館 基, 畑中みどり: N-ニトロソ化合物による染色体異常
第39回日本組織培養学会 (1975. 6. 20)
100. 小田嶋成和: 白血病化学療法の実験モデル
第22回日本化学療法学会東日本支部総会・シンポジウム「癌化学療法の新しい研究法」(1975. 9. 22)
101. 石館 基, 畑中みどり, 金子厚子, 沢田 稔: 培養細胞による染色体異常誘発試験
第4回日本環境変異原研究会 (1975. 9. 27)
102. 前川昭彦, 小田嶋成和, 中館正弘: 亜硝酸ナトリウム及びブチル尿素同時投与によるラット経胎盤発癌効果
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 2)
103. 橋本嘉幸*, 岡田正志*, 小田嶋成和: ブチルブタノールニトロソアミン (BBN) 関連化合物の発癌性—特に膀胱腫瘍発生に関して (第3報)
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 2)
* 東京生化学研究所
104. 荻生俊昭, 安齊美知子, 石館 基, 小田嶋成和: 可移植性ラット赤芽球性白血病の研究 (I) EDEN 2系の樹立と生物学的特性
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 2)
105. 石館 基, 荻生俊昭, 小田嶋成和: 可移植性ラット赤芽球性白血病の研究 (II) 培養株 EDEN/TCの細胞学的特性について
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 2)

106. 石舘 基, 吉川邦衛, 中館正弘, 神谷庄造: 癌原性物質の *in vitro* スクリーニングに関する研究 (II) アシル型 N-ニトロソ化合物の染色体異常原性及び変異原性について
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
107. 前川昭彦, 小田嶋成和, 神谷庄造: N-プロピルニトロソウレタンによる ACI/N ラット上部消化管腫瘍について
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
108. 荻生俊昭, 中館正弘, 小田嶋成和: 1-Ethyl-1-nitrosourea によるドンリュウラット白血病の発生
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
109. 荻生俊昭, 中館正弘, 前川昭彦, 小田嶋成和: 1-Methyl-1-nitrosourea によるドンリュウラット末梢神経系腫瘍の発生
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
110. 藤井敬二*, 小田嶋成和, 岡田正志**: 新生仔マウスを使用した発癌実験 (VI) N-Dibutylnitrosamine, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, N-butyl-N-(3-carboxybutyl) nitrosamine の癌原性
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
- * 筑波大・医・病理
** 東京生化学研
111. 藤井敬二*, 倉田 浩, 小田嶋成和: 新生仔マウスを使用した発癌実験 (VII) Sterigmatocystin の癌原性について
日本癌学会第34回総会 (1975. 10. 3)
- * 筑波大・医・病理
112. 小田嶋成和: N-ニトロソ化合物による発ガン研究の進歩
第80回日本獣医学会・特別講演 (1975. 11. 6)
113. 安斉美知子, 荻生俊昭, 中館正弘, 小田嶋成和: 赤芽球性白血病細胞 EDEN における *in vivo* の薬剤感受性
日本薬学会96年会 (1976. 4. 7)
114. 小川義之, 加納晴三郎: Proteolipid と細菌性発熱物質の相互作用について (第2報)
日本薬理学会第49回総会 (1976. 3. 30)
115. 江馬 真, 川崎浩之進: 妊娠ラットに対する細菌性発熱物質の影響について
日本獣医学会第80回総会 (1975. 11. 7)
116. 伊丹孝文, 吉田 稔, 加納晴三郎: 発熱時における薬物の吸収, 代謝に関する研究 (VI) 妊娠時におけるアセチルサリチル酸の吸収代謝におよぼす細菌性発熱物質の影響について
日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)
117. 児玉幸夫, 堀内茂友, 吉本浜子, 会田喜崇, 三原康夫, 池田良雄: 皮膚適用による二, 三薬物の毒性に関する研究 (第1報)
第53回日本薬理学会関東部会 (1975. 11. 22)
118. 川崎 靖, 戸部満寿夫, 小林和雄, 鈴木幸子, 関田清司, 松本清司, 向後恭子, 安原加寿雄, 小川幸男, 萩埜恵子, 池田良雄: サルにおけるメチル水銀の長期慢性毒性に関する研究 (第4報)
第53回日本薬理学会関東部会 (1975. 11. 22)
119. 小林和雄, 戸部満寿夫, 鈴木幸子, 川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 安原加寿雄, 小川幸男, 萩埜恵子, 池田良雄: サルにおける塩化メチル水銀の長期慢性毒性に関する研究 (第5報)
第49回日本薬理学会総会 (1976. 3. 30)
120. 関田清司, 鈴木幸子, 川崎 靖, 松本清司, 小林和雄: 制限食のラットに及ぼす影響 (I) 寿命および血清酵素について
昭和50年度東京獣医畜産学会 (1975. 11. 23)
121. 松本清司, 鈴木幸子, 川崎 靖, 関田清司, 小林和雄: 制限食のラットに及ぼす影響 (II) 病理所見について
昭和50年度東京獣医畜産学会 (1975. 11. 23)
122. 宮崎幸男: 熱帯, 亜熱帯薬用植物の栽培について
日本植物園協会第11回総会 (1976. 5. 27)
123. 久保道徳*, 泉圭英子*, 野口 衛: 瀉心湯類の研究 (第1報) 大黃と黄連の湯液中の反応

日本生薬学会千葉大会 (1975. 10. 10)

* 近畿大・東医研

124. 有地 滋*, 久保道徳*, 森川千鶴子*, 林 輝明*, 野口 衛: 瀉心湯類の研究 (第2報)

日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)

* 近畿大・東医研

125. 野口 衛, 持田研秀: 遠心向流 クロマトグラフィー (CCC) による生薬成分の分析

日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)

126. 野口 衛: 漢方製剤の品質評価をめぐる諸問題 第9回和漢薬シンポジウム (1975. 8. 30)

127. 大野忠郎, 木下孝三, 小峰常行: ケシ (*Papaver somniferum* L.) の生産力におよぼす気象要因の影響について (I) 一貫種の実産力と気象要因との相関

日本生薬学会千葉大会 (1975. 10. 10)

128. 掘越 司, 本間尚治郎, 三浦忠一, 森三佐雄*, 木下良裕*, 山岸 喬*, 金島弘恭*: 北海道産キハダ (黄柏) の品質評価について

日本生薬学会千葉大会 (1975. 10. 11)

* 北海道立衛生研究所生薬製薬科

129. 太田由喜代*, 米田該典*, 本間尚治郎, 掘越 司: 北海道における芍薬栽培 (第3報) 実生苗の育成 (その2)

日本生薬学会千葉大会 (1975. 10. 10)

* 大阪大学薬学部

130. 黒柳正典, 福岡正道, 義平邦利, 名取信策: ワラビの研究. Ⅳ.

日本薬学会第96年会 (1976. 4. 5)

131. 福岡正道, 黒柳正典, 義平邦利, 名取信策: ワラビの研究. IX. 癌原性物質の検索 (その1)

日本薬学会第96年会 (1976. 4. 6)

132. 高橋千加子, 関田節子, 義平邦利, 名取信策, 宇田川俊一, 坂部フミ, 倉田 浩: *Aspergillus candidus* の toxin A (terphenyllin), B (xanthoascidin) の産生について

第2回マイコトキシン研究会 (1975. 9. 27)

133. 村越重雄*, 阿久津四郎*, 一戸正勝, 熊田広子, 倉田 浩: アスペルギルス・フラブス菌株のカイコに対する病原性と経口毒性およびアフラトキシン生産性との関係

第2回マイコトキシン研究会 (1975. 9. 27)

* 神奈川県畜産センター

134. 芹沢宅実*, 土谷幸生*, 諸岡信一*, 一戸正勝, 倉田 浩, J. Tuite**: 自然罹病穀物中の毒性物質に関する研究 V. 1972年アメリカ産トウモロコシより Trichothecene ならびに Trichothecene 生産カビの検索

日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 2)

* 香川大農

** Purdue Univ. U.S.A

135. 一戸正勝, 熊田広子, 宇田川俊一, 倉田 浩: 輸入農作物の糸状菌分布とマイコトキシン汚染の可能性について

日本菌学会第19回大会 (1975. 10. 30)

136. 和宇度朝昭*, 一言 広*, 諸角 聖*, 直井家寿太*, 坂井千三*, 善養寺浩*, 一戸正勝, 倉田 浩: 食品の糸状菌汚染に関する研究一挽肉より検出した *Fusarium* 属の毒素産生性

日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 21)

* 東京都立衛研

137. 宇田川俊一: ニューギニア・東南アジアの食品とマイコトキシン生産菌の分布

第2回マイコトキシン研究会 (1975. 9. 27)

138. 宇田川俊一, 古谷航平*: ハチスタケの再発見について

第19回日本菌学会大会 (1975. 10. 29)

* 三共発酵研

139. 古谷航平*, 宇田川俊一: 日本産糞生核菌類の研究 (IV)

第19回日本菌学会大会 (1975. 10. 29)

* 三共発酵研

140. 小沼博隆, 鈴木 昭, 河西 勉, 高山澄江, 水

島久美子, 山田 満*, 高久 久*: かき食中毒予防
に関する衛生細菌学的研究 (第1報) かきの微生物
叢について

日本食品衛生学会第30回学術講演会 (1975. 10. 3)

* 東京都市場衛生検査所

141. 小沼博隆, 鈴木 昭, 河西 勉, 高山澄江, 水
島久美子, 山田 満*, 高久 久*: かき食中毒予防
に関する衛生細菌学的研究 (第2報) かきの微生物
叢について

日本食品衛生学会第31回学術講演会 (1976. 5. 21)

* 東京都市場衛生検査所

衛 試 例 会

Seminars

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2火曜日，本所講堂において開催されているが，昭和50年4月から昭和51年3月までの演題は下記のとおりである。

第164回 (昭和50年4月15日)

1. 二波長クロマトスキャナによる感冒剤の分離定量
薬品部 °立沢政義
石井豊三
井上哲男
2. ウシ neurophysin II の Rose Bengal による光酸化
生物化学部 °福田秀男
早川堯夫
川村次良
3. モルホリンの代謝に関する研究 (第1報) モルホリン脂肪酸塩および塩酸塩のラットによる吸収，排泄について
医化学部 °時枝利江
田中 彰
南原精一
山羽 力
4. 新生仔マウスを使用した発癌実験 Sterigmato-cystin の癌原性について
薬品病理部 °藤井敬二
小田鶴成和
衛生微生物部 倉田 浩
5. 水溶性アゾ色素の毒性発現機序
薬理部 高橋 惇
6. スルピリン水溶液の安定性について
薬品部 °吉岡澄江
緒方宏泰
柴崎利雄
井上哲男
7. キノホルムに関する研究
放射線化学部 浦久保 五郎

第165回 (昭和50年5月20日)

1. 各種動物の Proteolipid と細菌性発熱物質の相互作用について
大阪支所薬理微生物部 小川 義之
2. ワラビの研究：細胞毒性と発がん実験 (中間報)

告)

生薬部 名取信策
義平邦利
°福岡正道
黒柳正典

3. ワラビの研究 (VII)

生薬部 °黒柳正典
福岡正道
義平邦利
名取信策

4. γ 線照射によるトリメチルアミンオキサイドの分解：生成する揮発性アミンの簡易分析法について

食品部 °内山真夫
近藤龍雄
内山 充

5. 比色法による感冒剤中のアセトアミノフェンの定量

薬品部 °立沢政義
李 樹 共
石井豊三
井上哲男

6. Furylfuramide (AF-2) の毒性に関する研究 (第1報)：急性および慢性毒性に関する研究

毒性部 °降矢 強
内田雄幸
川俣一也
堀内茂友
鈴木一喜
畔上二郎

第166回 (昭和50年6月17日)

1. かんきつ中のジフェニール，*o*-フェニルフェノールおよびチアベンダゾールの系統的測定法
大阪支所食品部 慶田 雅洋
°伊藤 啓志男
外海 泰秀
2. わが国の食品由来糸状菌のマイコトキシン産生性の検索
衛生微生物部 °倉田 浩
宇田川 俊一
坂部 フミ
一戸 正勝
3. *Aspergillus candidus* の毒性代謝産物 (I)
生薬部 高橋 千加子

- 義平邦利
°名取信策
4. Chaetomium globosum の代謝する細胞毒性物質, chaetoglobosins の構造 (II)

°関田節子
義平邦利
名取信策

5. 市販 PVC 製食品包装材中の使用可塑剤について
食品添加物部 °佐藤美恵子

辰濃隆

6. Furfurylamide (AF-2) の毒性に関する研究 (第2報) 発癌性に関する研究

毒性部 °内田雄幸
降矢強
川俣一也
堀内茂友
鈴木一喜
畔上二郎

7. Furfurylamide (AF-2) の毒性に関する研究 (第3報) 哺乳動物細胞の染色体におよぼす影響

毒性部 °門馬純子
川俣一也
堀内茂友
渋谷徹
関剛幸
薬品病理部 石館基

第167回 (昭和50年7月8日)

1. 1,1'-Ethylenebis (1-nitrosoourea) に関する生化学的研究 (第1報) 温和な条件下での分解について

医化学部 °森本和滋
山羽力
合成化学部 中館正弘
鈴木郁生

2. キャプタン, ダイホルタンおよびモレストンの光分解について

大阪支所食品部 慶田雅洋
°金田吉男
山路昭

3. 各種薬物による脳内アミン分布量変動の蛍光組織学的測定

薬理部 藤森観之助

4. カドミウム (^{110}Cd) の胎仔内分布について

放射線化学部 長谷川明
薬理部 小野田欽一

5. 有機水銀化合物の毒性に関する研究 (第6報)

毒性部 °小林和雄
鈴木幸子
川崎靖
関田清司
松本清司

6. 磁場掃引速度とミニコンによる高分解能スペクトルの分解能について

療品部 阿部久人

7. オウレンカルの胚状体分化

生薬部 佐竹元吉

第168回 (昭和50年9月9日)

1. 食用赤色 105 号の生体内運命について

薬理部 高仲正

2. 定量的薄層クロマトグラフィの生薬分析への応用 (II) 薄層電気泳動—デンシトメトリーによるベルペリン型アルカロイドの定量について

大阪支所薬品部 野口衛

3. 高速液体クロマトグラフィーによるステロイドの分析—日立ゲル 3011 を用いたコルチコイドの分離について

生物化学部 太田美矢子

4. ピロールによるコルチコイドの比色定量 (第1報) 17-デオキシコルチコイドの定量

生物化学部 °徳永裕司
木村俊夫
川村次良

5. 洗濯用洗剤に添加される蛋白分解酵素の検出法

療品部 °中村晃忠
小嶋茂雄
毛利潤子
医化学部 足立透

6. アデニン, パルピツール酸誘導体による銅混合錯体

合成化学研究部 宮原誠

第169回 (昭和50年10月14日)

1. シクロヘキシルアミノオキシダーゼの性状 (II)

医化学部 °時枝利江
新村寿夫
高村二三知
山羽力

2. 発熱時における薬物の吸収, 代謝に関する研究 (III) 発熱時における複合剤の薬効と吸収, 代謝について

- 大阪支所薬理微生物部 伊丹孝夫
3. 防疫用殺虫剤のガスクロマトグラフィーによる分析法の検討

薬品部 鯉淵昌信

4. Sun oil 中の Sunscreens の分離定量

環境衛生化学部 °木嶋敬二
狩野静男
外村正治

5. ホルムアルデヒドの毒性に関する研究(第1報)

療品部 °内藤克司
田中しず子

第170回(昭和50年11月11日)

1. 繊維製品の化学処理剤の衛生化学的研究 衣類中のディルドリンの含有量, 溶出量ならびに発散量について

療品部 °小嶋茂雄
毛利潤子
鹿庭正昭
中村晃忠

2. 人工腎臓用 PVC 製血液回路から環流時に溶出するフタル酸エステル

療品部 °辻楠雄
水町彰吾
大場琢磨

3. 化粧品中コルチコステロイドの分析法の基礎的検討

環境衛生化学部 °木嶋敬二
狩野静男
外村正治

4. 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase : 各種ステロイドとの相互作用

生物化学部 早川堯夫

5. 2-(2-ピリジン)-1-(3-クロロフェニル)-2-フェニル-1-メチルエタノールのサルおよびラットにおける代謝

医化学部 嶺岸謙一郎

第171回(昭和50年12月9日)

1. INH の人における bioavailability と *in vitro* 溶出速度との相関性

薬品部 °緒方宏泰
鈴木澄男

2. X線ヨード造影剤とくにヨードミド結晶の性質について

大阪支所薬品部 °中原裕
柴田正
伊阪博
持田研秀

3. 化粧品用色素とくにキサンチン系色素の分離

環境衛生化学部 °木嶋敬二
狩野静雄
外村正治

第172回(昭和51年1月13日)

1. PVC 容器からの VCM の移行について

食品添加物部 °佐藤美恵子
辰濃隆
谷村頭雄

2. 新しい Migrated Hopane 系 Sapogenol Spergulin A の構造

大阪支所食品部 鈴木英世

3. 高速液体クロマトグラフィーによるマイコトキシンの分析法

食品部 °五十畑悦子
武田由比子
内山充

第173回(昭和51年2月10日)

1. ヒト唾液より分離した細菌によるジメチルニトロソアミンの生成

食品添加物部 °石綿肇
伊藤弘子
谷村頭雄

2. グルコンアミンと亜硝酸塩の反応について

食品添加物部 °山田隆
山本都
谷村頭雄

3. Sodium dodecyltrioxyethylene sulfate の経皮吸収について

薬理部 篠内桃子

4. 皮膚適用による二, 三薬物の毒性に関する研究

毒性部 °児玉幸夫
堀内茂友
吉本浜子
会田喜崇
三原康夫
池田良雄

5. 有害性金属の衛生化学的研究(第5報)カドミウム連続経口投与時のカルシウム代謝について

環境衛生化学部 °安藤正典

佐安戸 安 好
外 村 正 治

生 物 化 学 部 太 田 美 矢 子

5. フタル酸エステル類に関する生化学的研究 (第3報) DEHP のラットによる吸収, 排泄と体内分布について

第 174 回 (昭和51年3月9日)

1. カーバメイト系農薬と亜硝酸塩との反応について

食 品 添 加 物 部 °酒 井 綾 子
谷 村 顕 雄

医 化 学 部 °田 中 彰

足 立 透

高 橋 昭 江

山 羽 力

2. ヘッド・スペース分析法による塩化ビニル単量体の分析

療 品 部 叶 多 謙 蔵

6. 有機水銀化合物の毒性に関する研究 (第7報)

毒 性 部 °川 崎 靖

小 林 和 雄

鈴 木 幸 子

関 田 清 司

松 本 清 司

3. ビロールによるコルチコイドの定量 (II) 17-ヒドロキシコルチコイドの比色定量

生 物 化 学 部 徳 永 裕 司

4. 高速液体クロマトグラフィによる軟膏剤中のコルチコイドの分離定量

支 所 例 会

6 月例会 (昭和50年6月23日)

1. 妊娠ラットに対する細菌性発熱物質 (LPS) の影響について

薬理微生物部 江馬 真

2. 薄層クロマトグラフィーデンストメトリーの生薬分析への応用. I. 南天エキス製剤の試験法について

薬品部 野口 衛
持田 研秀

3. ヒマ種子毒タンパク質 ricin の出血作用について

薬品部 古謝 紀和
持田 研秀

薬理微生物部 吉田 稔

4. 新しい Migrated Hopane 系 Sapogenol : Spergulgagenin A の構造

食品部 鈴木 英世

5. 人乳のカゼインに関する研究

食品部 豊田 正武

6. 未変性ホネータンパクを指標とする牛乳および粉乳の加熱度の測定法

食品部 慶田 雅洋
西川 マチ子

9 月例会 (昭和50年10月1日)

1. 輸入かんきつ中の保存料の系統的分析法における各種残留農薬の影響および簡易法との比較

食品部 慶田 雅洋
金田 吉男
伊藤 啓志男
豊田 正武
金森 孝子

2. ぶどう酒中のソルビン酸の数種定量法の比較検討

食品部 慶田 雅洋
金田 吉男
伊藤 啓志男
豊田 正武

神戸女子薬科大学 松本 康江

3. 医薬品の溶出試験方法に関する研究—pH 変化を伴う連続流出法による溶出試験法

薬品部 植岡 澄子
岡 恒
持田 研秀

4. X線造影剤とくにヨードミド結晶の性質について

薬品部 中原 裕

柴田 正

伊阪 博

持田 研秀

5. Proteolipid と細菌性発熱物質の相互作用 (II)

薬理微生物部 小川 義之

6. 発熱時における薬物の吸収・代謝に関する研究 (IV) 妊娠時におけるアセチルサリチル酸の吸収代謝におよぼす細菌性発熱物質の影響について

薬理微生物部 伊丹 孝文

7. ラット胎盤 Mg^{2+} -ATPase に対する細菌性発熱物質 (LPS) の影響について

薬理微生物部 吉田 稔

3 月例会 (昭和51年3月26日)

1. リポ多糖 (LPS) の諸活性に及ぼす Limulus lysate ゲル化反応の影響について

薬理微生物部 川崎 浩之進

2. 発育に伴う家兎のリポ多糖 (LPS) に対する反応性の変化について

薬理微生物部 西尾 晃

3. ラット胎盤 Mg^{2+} -ATPase に対する細菌性発熱物質の影響について

薬理微生物部 吉田 稔

4. 薬物の吸収・代謝に関する研究 (IV) 妊娠時におけるアセチルサリチル酸の吸収・代謝におよぼす細菌性発熱物質の影響について

薬理微生物部 伊丹 孝文

5. Proteolipid と細菌性発熱物質の相互作用について (第2報)

薬理微生物部 小川 義之

6. 家兎における発熱性よりみたく内毒素および外毒素の特性とその協力作用について

薬理微生物部 加納 晴三郎

7. 遠心向流クロマトグラフィーによる生薬成分の分析

薬品部 野口 衛

8. フェノチアジン系向神経薬に関する研究, 水溶液中における導電率

薬品部 岡田 敏史

9. ベルガモット油およびその含有化粧品中のフロクマリン類の分離, 定量

食品部 慶田 雅洋

鈴木 英世

中村 恵三

10. イオン電極法による食品中のホウ素の定量

食 品 部 慶 田 雅 洋
中 村 恵 三
鈴 木 英 世
金 田 吉 男

代謝物および 2-アミノブタンの定量

食 品 部 慶 田 雅 洋
伊 藤 誉 志 男
豊 田 正 武
金 森 孝 子

11. 野菜, 果実に残留するベノミルとチオファネート

 所内講演会

- | | |
|--|--|
| <p>1. ニトロサミンの生成
昭和50年4月16日
食品添加物部 石綿 肇</p> | <p>6. ラット肝の過形成と癌
昭和50年10月22日
薬品病理部 M. Reuber</p> |
| <p>2. フタル酸の催奇形性
昭和50年5月21日
薬理部 桑村 司</p> | <p>7. 実験発癌におけるホルモンの影響について
昭和50年12月17日
がんセンター 伊藤 正弘</p> |
| <p>3. N-ニトロソウレア製癌剤の生体高分子との結合性
昭和50年6月18日
医化学部 森本和滋</p> | <p>8. 癌細胞の細胞膜
昭和51年1月21日
Harvard Medical School Roger W. Jeanloz</p> |
| <p>4. 北大西洋の赤潮毒について
昭和50年7月16日
Rhode Island 大学 清水 譲</p> | <p>9. 細菌の修復能欠損と突然変異 (I)
昭和51年2月15日
がんセンター 田ノ岡 宏</p> |
| <p>5. BBN, DBN 関連ニトロサミンの尿中代謝産物と発癌性
昭和50年9月11日
東京生化学研究所 岡田 正志</p> | <p>大阪支所
アフィニティークロマトグラフィーについて
昭和50年10月20日
生化学工業(株) 中西 雄二</p> |

国家検定、国家検査などの試験状況報告

Survey of the Results of National Tests

昭和50年度における検定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、例年同様にブドウ糖注射液がもっとも多く、全体の72%を占め、ついでエタンプトール錠、エタンプトール、リンゲル液、フェリブレン注射液（塩酸プロビトカイン3%を含む）、インシュリン亜鉛水性懸濁注射液の順となり以上の6品目で全体の92%に達している。総件数では昨年度の件数より52件（2%）の減少となっている。

つぎに国家検査については、今年度は行なわれなかった。輸入食品検査は27%、特別審査試験は22%と前年度に比べてそれぞれ増加しているが、製品検査は24%、輸出検査は23%、特別行政試験は14%、一斉取締試験は9%と前年度に比べてそれぞれ減少している。一般依頼試験は今年度は2件で前年度より4件減少している。

なお、総計件数は5,798件（下表のとおり）であって前年度に比較して0.2%の増加を示している。

区 分	試 験 件 数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	908	1,154	2,062
製 品 検 査	241	427	668
輸 出 検 査	27	—	27
特 別 審 査 試 験	172	—	172
輸 入 食 品 検 査	1,315	518	1,833
特 別 行 政 試 験	433	88	521
一 般 依 頼 試 験	2	0	2
一 斉 取 締 試 験	504	9	513
計	3,602	2,196	5,798

昭和50年度国家検定月別

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	
プロチオナミド	東京 大阪	1	0	1	—	—	—	2	0	2	1	0	1	—	—	—	1	0	1	
プロチオナミド錠	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	2	0	2	—	—	—	—	—	—	—	3	0	3
エタンプトール	東京 大阪	9	0	9	3	0	3	15	0	15	4	0	4	9	0	9	8	0	8	
エタンプトール錠	東京 大阪	7	0	7	13	0	13	18	0	18	21	0	21	11	0	11	12	0	12	
避妊用ポリオキシン エチレンニルフェ ニルエーテルゼ リー	東京 大阪	4	0	4	—	—	—	1	0	1	—	—	—	4	0	4	—	—	—	
避妊用ポリオキシン エチレンニルフェ ニルエーテル錠	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
避妊用メンフェゴ ール錠	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	6	0	6	3	0	3	3	0	3	—	—	—	
インシュリン注射 液	東京 大阪	2	0	2	3	0	3	1	0	1	3	0	3	1	0	1	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	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
イソフェンインシュ リン水性懸濁注 射液	東京 大阪	1	0	1	2	0	2	2	0	2	1	0	1	1	0	1	1	0	1	
インシュリン亜鉛 水性懸濁注射液	東京 大阪	3	0	3	2	0	2	2	0	2	3	0	3	1	0	1	4	0	4	
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	
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	—	—	—	—	—	—	
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	1	0	1	—	—	—	1	0	1	
オキシトシン注射 液	東京 大阪	1	0	1	3	0	3	2	0	2	5	0	5	2	0	2	3	0	3	
脳下垂体後葉注射 液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
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	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
バソプレシン注射 液	東京 大阪	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
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	

判定別件数実績表 (No. 1)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	0	3
2	0	2	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	0	5
3	0	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	4	2	0	2	16	0	16
16	0	16	11	0	11	12	0	12	—	—	—	19	0	19	7	0	7	113	0	113
20	0	20	24	0	24	22	0	22	17	0	17	15	0	15	22	0	22	202	0	202
4	0	4	2	0	2	1	0	1	3	0	3	2	0	2	3	0	3	24	0	24
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	0	1	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
4	0	4	—	—	—	4	0	4	4	0	4	—	—	—	—	—	—	24	0	24
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	2	0	2	3	0	3	—	—	—	—	—	—	2	0	2	19	0	19
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	2	0	2	2	0	2	1	0	1	—	—	—	2	0	2	15	0	15
3	0	3	2	0	2	1	0	1	3	0	3	2	0	2	4	0	4	30	0	30
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	3	0	3
1	0	1	2	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	0	7
1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	5	0	5
1	0	1	2	0	2	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	23	0	23
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2

昭和50年度国家検定月別

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													
フェリプレシン注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	1 0	0 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
ブドウ糖注射液	東京 大阪	33 62	0 0	33 62	44 90	0 0	44 90	35 82	2 0	37 82	37 94	1 0	38 94	28 81	1 0	29 81	28 106	1 0	29 106
リンゲル液	東京 大阪	2 1	0 0	2 1	— 2	— 0	— 2	2 —	0 —	2 —	1 1	0 0	1 1	1 1	0 0	1 1	2 2	1 0	3 2
フェリプレシン注射液 (塩酸プロピトカイン3%を含む)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	0 —	1 —	— —	— —	— —	2 —	0 —	2 —
計	東京 大阪	63 66	0 0	63 66	71 92	0 0	71 92	90 84	2 0	92 84	81 96	1 0	82 96	62 82	1 0	63 82	65 112	2 0	67 112
合 計		129	0	129	163	0	163	174	2	176	177	1	178	144	1	145	177	2	179

昭和50年度製品検査月別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合格	不合格	計															
東 京	11	0	11	0	0	0	28	0	28	14	0	14	21	0	21	26	0	26
大 阪	32	0	32	24	0	24	14	0	14	31	3	34	64	3	67	36	0	36
合 計	43	0	43	24	0	24	42	0	42	45	3	48	85	3	88	62	0	62

昭和50年度輸出検査月別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合格	不合格	計															
東 京	3	0	3	0	0	0	2	0	2	1	0	1	1	0	1	6	0	6

昭和50年度特別審査試験月別

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
東 京	28	0	28	3	0	3	7	0	7	8	0	8	9	0	9	20	0	20

判定別件数実績表 (No. 2)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1
36	0	36	24	1	25	28	0	28	26	0	26	20	0	20	30	1	31	369	7	376
138	0	138	128	0	128	99	0	99	72	0	72	73	0	73	91	0	91	1,116	0	1,116
1	0	1	1	0	1	2	0	2	—	—	—	1	0	1	1	0	1	14	1	15
2	0	2	5	0	5	1	0	1	—	—	—	1	0	1	3	0	3	19	0	19
5	0	5	6	0	6	8	0	8	6	0	6	5	0	5	—	—	—	33	0	33
95	0	95	82	1	83	87	0	87	61	0	61	68	0	68	75	1	76	900	8	908
143	0	143	133	0	133	100	0	100	72	0	72	78	0	78	96	0	96	1,154	0	1,154
238	0	238	215	1	216	187	0	187	133	0	133	146	1	146	171	1	172	2,054	8	2,062

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
4	0	4	4	0	4	45	0	45	45	0	45	5	0	5	38	0	38	241	0	241
22	0	22	61	0	61	62	0	62	34	0	34	13	0	13	28	0	28	421	6	427
26	0	26	65	0	65	107	0	107	79	0	79	18	0	18	66	0	66	662	6	668

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
1	0	1	2	1	3	3	1	4	0	0	0	3	0	3	3	0	3	25	2	27

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
31	0	31	2	0	2	0	0	0	22	0	22	25	0	25	17	0	17	172	0	172

昭和50年度輸入食品検査別

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	15	6	—	30	13	—	43	11	—	12	3	—	26	—	—	30	—	2
	大阪	1	—	—	[39] 1	23	—	[65] —	3	—	10	—	—	17	—	—	1	—	—
水産物	東京	4	1	—	25	—	2	37	—	—	117	—	—	52	35	1	19	—	—
	大阪	—	—	—	—	6	16	—	—	—	3	4	—	—	—	—	—	1	—
畜産物	東京	93	1	—	26	—	—	45	5	—	71	3	—	60	5	—	58	—	—
	大阪	[3] —	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	15	2	—
かんびん詰類	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
添加物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒精飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	27	1	—	—	—	—
清涼飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
その他の飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—
器具・容器包装おもちゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	3	—	—	23	—	—	—	—	—	2	—	—	1	—	—	—	—	—
上記いずれにも属さないもの	東京	—	—	—	10	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
計	東京	112	8	—	91	13	2	125	16	—	205	6	—	138	40	1	107	—	2
	大阪	[3] 4	1	—	[39] 24	29	16	[65] —	3	—	15	4	—	49	1	—	18	4	—

昭和50年度輸入食品検査

区分	4月			5月			6月			7月			8月			9月		
	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計
東京	112	8	120	91	(2) 13	106	125	16	141	205	6	211	138	(1) 40	179	107	(2) 0	109
	[3] 4	1	8	[39] 24	(16) 29	108	[65] 0	3	68	15	4	19	49	1	50	18	4	22
計	[3] 116	9	128	[39] 115	(18) 42	214	[65] 125	19	209	220	10	230	187	(1) 41	229	125	(2) 4	131

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 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
8	—	—	6	—	—	13	1	—	2	4	—	10	2	—	[2] 24	6	2	[2] 219	46	4
27	—	—	28	—	—	55	1	—	6	—	—	2	2	—	10	2	—	[104] 158	31	—
3	—	—	10	1	1	23	—	1	31	—	4	—	—	—	5	—	—	326	37	9
—	4	—	—	4	—	6	4	—	—	—	—	—	—	—	[2] —	—	—	[2] 9	23	16
32	4	—	78	4	2	65	13	—	10	5	—	24	24	—	18	—	—	580	64	2
—	1	—	—	—	—	13	—	—	—	—	—	[1] 7	—	—	2	—	—	[4] 41	3	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	8	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[1] —	1	—	1	1	—	[1] 1	2	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
—	—	—	6	—	—	12	—	—	10	—	—	3	—	—	—	—	—	58	1	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	2	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	—	—	—	—	—	38	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15	—	—
[10] 1	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[10] 1	9	—
49	4	—	94	5	3	101	14	1	46	9	4	36	26	—	[2] 47	6	2	1,151	147	15
[10] 28	12	—	34	4	—	87	5	—	17	—	—	[2] 22	3	—	[2] 14	3	—	[121] 312	69	16

[] 印内数字は無判定

月別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計	可	不可	計
49	4	53	94	(3) 5	102	101	(1) 14	116	46	(4) 9	59	36	26	62	[2] 47	(2) 6	57	[2] 1,151	(15) 147	1,315
[10] 28	12	50	34	(3) 4	38	87	(1) 5	92	17	(4) 0	17	[2] 22	3	27	[2] 14	(2) 3	19	[121] 312	(16) 69	518
[10] 77	16	103	128	(3) 9	140	188	(1) 19	208	63	(4) 9	76	[2] 58	29	89	[4] 61	(2) 9	76	[123] 1,463	(31) 216	1,833

() 内の数字は要注意 [] 内の数字は無判定

昭和50年度特別行政試験月別件数実績表

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	19	33	0	(113) 119	9	140	43	8	41	9	0	12	433
大 阪	0	0	0	(64) 69	19	0	0	0	0	0	0	0	88

() 内 は残留農薬試験

昭和50年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	計
東 京	465	39	504
大 阪	7	2	9

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	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	アスコルビン酸	1g入 1本	3,500 ^円	アスコルビン酸散, 同注射液, 注射用コルチコトロピン, 持続性コルチコトロ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	3,400	安息香酸エストラジオールの純度試験, 同注射液, 同水性懸濁注射液の確認試験および定量法
3	インシュリン	20mg入 1本	4,100	インシュリン注射液, インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の定量法, 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	3,100	エストラジオールの純度試験
5	塩酸チアミン	200mg入 1本	3,600	塩酸チアミン, 同散, 同注射液, 乾燥酵母, 硝酸チアミン, 同錠の定量法
6	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	3,900	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
7	含糖ペプシン	20g入 1本	3,800	含糖ペプシンのたん白消化力試験
8	ジゴキシン	20mg入 1本	3,100	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 1本	9,900	血清性性腺刺激ホルモン, 注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
10	酢酸コルチゾン	100mg入 1本	3,200	酢酸コルチゾン, 同水性懸濁注射液の確認試験
11	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	1,600	酢酸ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験
12	酢酸プレドニゾン	100mg入 1本	2,700	酢酸プレドニゾンの確認試験
13	シアノコバラミン	20mg入 5本	3,400	シアノコバラミン, 同注射液の定量法, 酢酸ヒドロキシコバラミンの純度試験および定量法
14	ジギタリス	1g入 3本	4,600	ジギタリス, 同末の定量法
15	ジゴキシン	50mg入 1本	4,200	ジゴキシンの確認試験および定量法, 同錠の純度試験および定量法
16	ジゴキシン	50mg入 1本	5,100	ジゴキシンの確認試験および定量法, 同錠, 同注射液の定量法
17	酒石酸水素エピネフリン	20mg入 1本	2,400	エピネフリン, ノルエピネフリンの純度試験
18	酒石酸水素ノルエピネフリン	20mg入 1本	2,500	エピネフリン, ノルエピネフリンの純度試験, ノルエピネフリン注射液の定量法
19	G-ストロファンチン	100mg入 1本	5,300	G-ストロファンチンの定量法, 同注射液の確認試験および定量法

日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
20	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	9,300	胎盤性性腺刺激ホルモン、注射用胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法
21	チロジン	500mg入 1本	2,200	バンクレアチンのたん白消化力試験
22	デスラノシド	100mg入 1本	5,800	デスラノシドの純度試験および定量法、同注射液の確認試験および定量法
23	トロピン	500単位入 2本	5,900	トロピンの定量法
24	ニコチン酸	500mg入 1本	2,900	ニコチン酸注射液の定量法
25	ニコチン酸アミド	500mg入 1本	2,900	ニコチン酸アミド注射液の定量法
26	脳下垂体後葉	10mg入 2本	2,000	オキシトシン注射液、バソプレシン注射液の純度試験および定量法
27	薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	1,800	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
28	薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	1,800	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
29	パラアミノペンゾイルグルタミン酸	500mg入 1本	4,900	葉酸の純度試験
30	ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	2,900	ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験
31	プレドニゾン	100mg入 1本	3,500	プレドニゾン、同錠の確認試験
32	プロゲステロン	10mg入 1本	3,300	プロゲステロンの確認試験
33	ヘパリンナトリウム	1,200単位入 1本	4,800	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
34	マレイン酸エルゴメトリン	20mg入 1本	3,400	マレイン酸エルゴメトリン、同錠、同注射液、マレイン酸メチルエルゴメトリン、同錠の定量法
35	葉酸	500mg入 1本	3,500	葉酸、同錠、同注射液の定量法
36	ラナトシドC	100mg入 1本	6,200	ラナトシドCの純度試験および定量法
37	リボフラビン	200mg入 1本	3,800	リボフラビン、同散、リン酸リボフラビン、同注射液の定量法
38	硫酸プロタミン	100mg入 1本	4,400	イソフェニンシユリン水性懸濁注射液の純度試験
39	リン酸ヒスタミン	20mg入 1本	1,500	注射用コルチコトロピン、持続性コルチコトロピン注射液の純度試験
40	レセルピン	50mg入 1本	4,600	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	包装単位	価格	使用目的
1	エストロン	20mg入 1本	2,400	エストロン製品の確認試験および定量法
2	塩酸チアミン液	1mg入 10本	1,400	チアミン製品の定量法
3	酢酸デスオキシコルトン	20mg入 1本	1,900	酢酸デスオキシコルトン製品の確認試験および定量法
4	ジエチルスチルベストロール	20mg入 1本	900	ジエチルスチルベストロール製品の確認試験および定量法
5	バレイショデンプン	100g入 1本	4,900	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
6	ヒアルロニダーゼ	500mg入 1本	3,800	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
7	ビタミンA油(ビタミンA検定用)	1g(10,000単位)入 10本	4,600	ビタミンA製品の定量法
8	プロピオン酸テストステロン	20mg入 1本	2,300	プロピオン酸テストステロン製品の定量法
9	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, フェニリン}	各1g入 6本	7,700	融点測定用温度計, 同装置の補正
10	リゾチーム	500mg入 1本	4,800	リゾチーム製品の定量法
11	ルチン	500mg入 1本	2,800	ルチン製品定量法
12	アシッドバイオレット6B	1g入 1本	1,320	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアシッドバイオレット6Bの確認試験
13	アシッドレッド	1g入 1本	950	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
14	アゾルビンエキストラ	1g入 1本	830	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
15	アマランス	1g入 1本	670	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
16	インジゴ	1g入 1本	910	外用医薬品, 化粧品および製剤中のインジゴの確認試験
17	インジゴカルミン	1g入 1本	570	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
18	エオシン	1g入 1本	670	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエオシンの確認試験
19	エリスロシン	1g入 1本	690	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
20	オイルエロー AB	1g入 1本	580	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
21	オイルエロー OB	1g入 1本	610	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
22	オイルオレンジ SS	1g入 1本	560	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
23	オイルレッド XO	1g入 1本	580	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
24	オレンジ I	1g入 1本	670	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
25	オレンジ II	1g入 1本	1,050	外用医薬品, 化粧品および製剤中のオレンジIIの確認試験

国立衛生試験所標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
26	ギネアグリーン B	1g入 1本	1,190	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
27	サンセットエロー FCF	1g入 1本	620	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
28	タートラジン	1g入 1本	700	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
29	テトラクロルテトラブromフルオレセイン	1g入 1本	890	外用医薬品、化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブromフルオレセインの確認試験
30	テトラブromフルオレセイン	1g入 1本	800	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
31	トルイジンレッド	1g入 1本	760	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
32	ナフトールエロー S	1g入 1本	570	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
33	ニューコクシン	1g入 1本	720	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
34	パーマメントオレンジ	1g入 1本	740	外用医薬品、化粧品および製剤中のパーマメントオレンジの確認試験
35	ハンサエロー	1g入 1本	740	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
36	ファストグリーン FCF	1g入 1本	2,090	食品、医薬品、化粧品および製剤中のファストグリーンFCFの確認試験
37	ファストレッド S	1g入 1本	1,230	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のファストレッドSの確認試験
38	ブリリアントブルー FCF	1g入 1本	1,250	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
39	フルオレセイン	1g入 1本	760	外用医薬品、化粧品および製剤中のフルオレセインの確認試験
40	フロキシシン	1g入 1本	720	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
41	ボンソー R	1g入 1本	650	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のボンソーRの確認試験
42	ボンソー SX	1g入 1本	670	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
43	ボンソー 3R	1g入 1本	690	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
44	リソールビン BCA	1g入 1本	690	外用医薬品、化粧品および製剤中のリソールビンBCAの確認試験
45	レーキレッド C	1g入 1本	690	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
46	レーキレッド CBA	1g入 1本	750	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
47	レーキレッド DBA	1g入 1本	750	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
48	ローズベンガル	1g入 1本	690	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50年度国立衛生試験所標準品出納状況

(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	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アスコルビン酸	7	268	195	0	80	
安息香酸エストラジオール	0	0	0	0	0	
インシュリン	6	100	40	5	61	
エストラジオール	0	50	5	0	45	
エストロン	1	0	0	0	1	
塩酸チアミン	116	500	497	2	117	
塩酸チアミン液	0	0	0	0	0	
塩酸ピリドキシン	88	100	98	0	90	
含糖ペプシン	13	25	19	0	19	
ギトキシン	2	48	2	2	46	
血清性性腺刺激ホルモン	18	90	17	0	91	
酢酸コルチゾン	1	50	0	0	51	
酢酸デスオキシコルトン	0	0	0	0	0	
酢酸ヒドロコルチゾン	25	0	7	3	15	
酢酸ブレドニゾロン	32	0	0	0	32	
シアノコバラミン	82	0	75	1	6	
ジエチルスチルベストール	16	0	1	0	15	
ジギタリス	43	0	0	0	43	
ジギトキシン	1	50	0	0	51	
ジゴキシン	1	98	2	0	97	
酒石酸水素エピネフリン	0	0	0	0	0	
酒石酸水素ノルエピネフリン	19	0	4	2	13	
G-ストロファンチン	47	0	0	0	47	
胎盤性性腺刺激ホルモン	19	110	44	1	84	
チロジン	10	135	25	0	120	
デスラノシド	35	0	4	0	31	
トロンビン	26	0	12	0	14	
ニコチン酸	62	0	16	7	39	
ニコチン酸アミド	197	0	69	7	121	
脳下垂体後葉	86	0	41	3	42	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	90	0	10	0	80	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	95	0	1	0	94	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	48	0	8	0	40	
バレイシヨデンブン	28	0	20	0	8	
ヒアルロニダーゼ	3	0	0	2	1	
ビタミンA油	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	9	0	9	0	0	
ブレドニゾロン	18	0	8	0	10	
プロゲステロン	0	0	0	0	0	
プロピオン酸テストステロン	57	0	11	0	46	
ヘパリンナトリウム	83	0	62	0	21	
マレイン酸エルゴメトリン	74	0	63	1	10	
融点測定用	0	0	0	0	0	

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	年 度 末 在庫数量	備 考
葉 酸	26個	0個	21個	1個	4個	
ラナトシドC	21	48	16	15	38	
リゾチーム	45	120	80	9	76	
リボフラビン	2	432	316	2	116	
硫酸プロタミン	30	0	5	0	25	
リン酸ヒスタミン	17	32	16	2	31	
ルチン	1	0	0	0	1	
レセルピン	76	0	68	0	8	
計	1,676	2,256	1,887	65	1,980	

(色素等試験用標準品)

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	年度末 在庫数量	備考
アシッドバイオレット6B	177個	0個	10個	0個	167個	
アシッドレッド	126	0	23	5	98	
アゾルビンエキストラ	181	0	4	0	177	
アマランス	19	0	16	3	0	
インジゴ	183	0	4	0	179	
インジゴカルミン	155	0	25	4	126	
エオシン	208	0	15	0	193	
エリスロシン	172	0	27	5	140	
オイルエローAB	319	0	8	0	311	
オイルエローOB	327	0	7	0	320	
オイルオレンジSS	333	0	14	0	319	
オイルレッドXO	312	0	8	0	304	
オレンジI	375	0	7	0	368	
オレンジII	208	0	4	0	204	
ギネアグリーンB	170	0	4	0	166	
サンセットエローFCF	92	0	25	5	62	
タートラジン	93	0	24	2	67	
テトラクロルテトラブROMフルオレセイン	208	0	6	0	202	
テトラブROMフルオレセイン	177	0	5	0	172	
トルイジンレッド	127	0	6	0	121	
ナフトールエローS	297	0	10	0	287	
ニューコクシン	47	0	22	5	20	
パーマネントオレンジ	96	0	7	0	89	
ハンサエロー	123	0	7	0	116	
ファストグリーンFCF	216	0	19	2	195	
ファストレッドS	241	0	4	0	237	
ブリリアントブルーFCF	143	0	28	4	111	
フルオレセイン	241	0	4	0	237	
フロキシン	6	0	4	0	2	
ボンソーR	312	0	5	5	302	
ボンソーSX	258	0	8	0	250	
ボンソー3R	276	0	6	4	266	
リソールルビンBCA	431	0	8	0	423	
レーキレッドC	440	0	8	0	432	
レーキレッドCBA	179	0	8	0	171	
レーキレッドDBA	197	0	4	0	193	
ローズベンガル	151	0	24	5	122	
計	7,616	0	418	49	7,149	

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：
 - 衛生試験所所定の原稿用紙を用いる。
 - 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き、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿の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。たとえば塩酸と書き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。たとえばイソニコチン酸 (INA) と書き、(以下 INA と略す) としない。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), λ_{\max} (吸収極大), λ_{\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 Papaver somniferum L.
 スモールキャピタル————例: 著者名など Masato ASAHINA

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獻のつぎに添える.

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 ①, ②, ③ 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) 神藏美枝子, 谷村顕雄: 衛生試験, **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，説明とともに図の下に，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 誌上発表の記載要領：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：(1972. 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。

国立衛生試験所百年史 注（その2）

京都司薬場の建物について

最近宗田一氏が古医学月報（1976年2月号）に「京都舎密局と京都司薬場」という論文を発表され、その中で国立衛生試験所百年史 24p の京都司薬場の建物に関する記載について触れておられるので、同氏の許可を得てその個所を次に引用させていただきます。

「京都司薬場が設立されたのは明治8年2月で、東京について2番目、大阪より若干早かった。

しかし、百年史が記すように、“7年12月司薬場庁舎を建設”し、8年2月15日に“新築落成した庁舎”で開場式が挙行されたのでなければ、『衛生試験所沿革史』（昭12）にあるように、8年2月に京都府立舎密局が政府に移管されたものでもなかった。

というのは、文部省医務局長・長与専齊から京都司薬場設置の交渉が京都舎密局主管明石博高にあったのは7年12月23日付書簡であり、それには明らかに司薬場を新築する意志がなく、舎密局を借用したいと述べられてあり、また外人教師のゲールツの住宅（教師館）も適宜見計ってほしいとあって、予算的にも新築は当初から考慮されていなかった。明石は京都府の榎村参事に長与の意向を伝え協議の結果、京都舎密局の事務所を政府（文部省所管）へ無償貸与することになったからである。」

三崎嘯輔と辻岡精輔

辻岡精輔は第4代東京司薬場長であるが、国立衛生試験所百年史 39p の辻岡精輔の略歴中に「明治2年（1869）7月より大阪府舎密局において教頭ハラタマのもとで助教として理化学の教育に従事した。この頃は三崎嘯輔という名であったが、のち辻岡精輔と改めた。」とある。ところが最近大阪大学藤野恒三郎氏から、これは誤りで三崎嘯輔と辻岡精輔は別の人物であるという指摘を受けた。

藤野氏によれば、三崎家は戦国時代越前領主朝倉家の侍医に始まる福井県医学史上最古の家系で、三崎嘯輔はその分家の人であったという。藤野氏に教えていただき、くすり資料館の協力を得て福井県医学史 413p をみると三崎嘯輔の略歴が次のように記されている。

「三崎玉雲家三代宗益の三男宗玄を祖とする三崎分家の人。一に嘯といい、宗玄または尚之と称した。文久三年（1863）江戸に出でて、大鳥圭介の塾に入り蘭学を修めた。慶応元年（1865）長崎に行き、蘭医ハラタマについて修業し、明治二年（1869）大阪の舎密局助教となり、同四年江戸にいたり、文部大助教を経て東校予科教師となって、化学を教授した。この年五月福井に帰省し、その十五日英才をいただきながら、急病にて死亡した。年二十七。同市の安養寺に葬る。

嘯輔は、日本人として、化学を教えた最初の人である。著訳書に、『薬品雑物試験表』・『化学器機図説』・『舎密局開講の説』・『試験階梯』・『定性試験升屋』などがある。」

藤野氏によると大阪大学芝哲夫教授（舎密局研究者）が、先年三崎嘯輔の墓を探し当てたということである。

一方国立衛生試験所が保管している辻岡精輔の履歴書によれば、辻岡精輔もやはり福井県出身で、明治2年7月大阪舎密局二等助手を申し付けられている。明治6年7月には医務局御雇となっているが、同年8月三崎家を相続して三崎精輔と改め、明治11年5月には復籍して再び辻岡精輔と

改めている。しかし辻岡精輔は嘉永6年(1853)の生れであるから、大阪舎密局に勤めた明治2年(1869)には17才くらいで、三崎嘯輔は明治4年(または5年)27才で死亡したということであるから、約8年くらい辻岡精輔の方が若かったわけである。

いろいろ類似点が多かったので、百年史では混同してしまったと推定するのが正しいと考えます。ここに謹んでお詫び申し上げ、訂正させていただきます。従って百年史39pの辻岡精輔の略歴中「教頭ハラタマのもとで助教として」の助教を二等助手と訂正し、「この頃は三崎嘯輔という名であったが、のち辻岡精輔と改めた。」を削除します。また後半の「なお著作には……などがある」とありますが、これらは三崎嘯輔の著作ですから削除します。また百年史本史6p上2行助教・三崎嘯輔(のちの辻岡精輔、東京司薬場長)の()内を削除します。

日本細菌学研究所の原点

大阪大学名誉教授

神戸学院大学薬学部教授

藤野恒三郎

(編者注:日本における細菌学の歴史を調査されている藤野恒三郎先生が、細菌学研究所の初めについて貴重な稿を寄せられました。藤野先生に深く感謝するとともに、衛生試験所に関係が深い事なので、ここに謹んで百年史注として掲載させていただきます。なお、この寄稿に当って大阪支所長朝比奈晴世氏が仲介の労をとられましたので、同氏に感謝します。)

明治18年(1885)2月、内務省衛生局東京試験所内の約10坪(約33m²)の2室が細菌室に当てられて、緒方正規(後の東京帝大教授。1853~1919)がこれを主宰した。主な研究者は緒方のほかに4名。当時最高の研究施設を誇っていたようである。最初の研究発表は、明治18年4月14日。

脚気病菌発見 緒方正規

当時の伝染病統計からみるとわが国は悪疫瘴癘の地である。

L. Pasteur (1822~1895) と R. Koch (1843~1910) に始まる新興科学=細菌学の偉力を認め、その将来に大きな期待をもつ洞察力の持主が、わが国にもいたようである。殊に、この頃、Koch による結核菌の発見(1882=明治15年)とコレラ菌の発見(1884=明治17年)の情報は衝撃波の如く全世界に力強くひびいた。勿論わが国へも……。

病原不明のまま、諸外国の衛生行政を導入して、各種伝染病対策を法制化しつつあったが、時の内務省衛生局長は長与専斎(1838~1902)である。

緒方正規はミュンヘン大学衛生学教授 Max Joseph von Pettenkofer (1818~1901) のもとで衛生学を修めた。また、Koch について細菌学を学ぶ予定であったらしいが、コレラ病因探究のためエジプトとインドへ Koch は出張中であつたために、緒方は Koch の高弟 Friedrich August Johannes Löffler (1852~1915)(ジフテリア菌の発見者)について細菌学の手技を修得して、明治17年12月に帰国した。

明治18年1月、緒方は東京大学准奏任御用掛(医学部勤務・今の助教授相当か・その後御用掛となる)に任ぜられ、続いて同年2月に、内務省御用掛兼務となつて、衛生局東京試験所内の細菌室を主宰した。緒方が書いた文章を柴山五郎作が引用紹介している(1911)。

……試験所に於ては医学士北里柴三郎氏我を補佐せられ、陸軍省より賀古鶴所氏、海軍省より

桑原莊介氏、岡山医学校より医学士菅之芳氏就学せられたり……。

これからみると、緒方をふくめて5名の研究者で、輝かしい日本細菌学研究は出発したといえる。この細菌室がどのような機械器具をもっていったか？、医学史上の興味ある課題であるが、幸いにも史料記録がのこっている。

宮島幹之助編集・北里柴三郎伝（1932）によると、油浸レンズ付きツァイス顕微鏡3台・コッホ氏消毒釜・孵卵器・色素類・平板培養用器具など、細菌学研究に必要な機械器具がほぼ整備されていた、とされる。

しかも、ドイツでこれらが調達されたいきさつまでが附記されている。即ち、ドイツへ出張してきていた柴田承桂が、緒方正規の指示を受けながら、これらの細菌学用機械器具を購入したのであった。

柴田承桂は、東京司菜場（衛生試験所の前身）の第二代場長心得であるほか、多くの記述を国立衛生試験所百年史に見ることができる。柴田には多くの著書訳書があるが、筆者が感銘をうけて、日本細菌学史上の重要資料とみるものは柴田承桂訳述・顕微鏡用法（240頁、156図、明治15年（1882）出版・ドイツ本・ヘルマン・ハーゲン・Anwendung der Mikroskop の訳本）である。

単に顕微鏡用法を解説しているだけではなく、細胞・真菌・細菌・結晶などの豊富な附図で説明している。日本の医人は、この本によってはじめてミクロの世界の実際を理解したのではなからうか。この本を作るほどの高級知識人が細菌学研究機械器具を選択購入する、しかも、ドイツでの最高の研究室の実際を熟知している緒方の指示を得て、万全を期しているのをみて、筆者は、運命の奇妙さと必然・当然とも言える人間関係の妙を感じる。長与衛生局長が、柴田承桂と緒方正規の両方を指導していたのである。新卒生北里柴三郎が緒方のもとに赴き、細菌学への方向を決めたのは長与であった。また、北里をドイツ留学させ、その留学延期などに長与は苦慮し、やがて帰国した北里のために大日本私立衛生会の伝染病研究所を創立し、続いてこれを国立伝染病研究所へと発展させた、日本細菌学黎明期の主な登場人物を決めた、この大きなドラマの作者は長与専齋であったと、筆者はみているのだが……。

東京医事新誌（1885）によると、東京大学総理加藤弘之と衛生局長長与専齋の両氏から招待状を受けた面々無慮千人が、緒方正規の「脚気病菌発見」の講演をきくために、明治18年4月14日東京大学理学部講義室に集ったという。講演に先きだって、講演内容は官報（明治18年4月7日と8日）に公表されている。

脚気病毒発見（内務省報告） 本年1月以来衛生局東京試験所に於て東京大学御用掛兼内務省御用掛緒方正規脚気病毒の調査に従事したりしに該試験に付き頗る信拠すべき成績を得て左に報告したり。

脚気病菌発見の儀開申

脚気の病因を探究せんがため本年1月初旬より衛生局東京試験所に於て、其の検査に着手せり。爾來病屍の内臓器官を檢視し、又大学医学部脚気病室に在る脚気病者の血液を採りて試験したる末、一種のバチルレン（小楯子状の分殖菌）を発見し、更に適當の培植法接種法を施して其の脚気病因たるを信認すべきの結果を得たり。蓋し脚気患者数名に就きて血液を取り検査したるに同一のバチルレンを発見し、其の血液より培養ゲラチン等の培養料に之を移植したるに能く純粹に培植するを得、精密に其の性状及び發育の景況を檢視して従前発見せられざる一種の菌たるを認定せり。

而して又斯の如く純粹に培養せるバチルレンを鼠兎猿等の動物に接種したるに、其の動物に発起する症候及び死後之を解剖して発見せる内部諸器官の変化は、概ね脚気病者に於て見る所

に同じ、之加此等動物の器官及血液には復同一のバチルレンを繁殖するを認め、之を取りて純粹培植法を行ふに、其の成績脚気病者の血液より得たるものと異らず。是れ、余の該バチルレンを以て脚気の原因なりと認定する所以なり。

このように研究材料と研究方法と結論をかかげたあとに、病理解剖所見を詳述してから、脚気病菌とみとめたバチルレンの性状をあきらかにしている。その要点を引用紹介すれば、次のようである。

該菌の最も能く發育するは培養ゼラチンにして、次には寒天又其の次には番薯及び甘藷なり。顯微鏡を以て右の培植物を檢視すれば、其のバチルレンなることを発見し、其の状脾臓疽のバチルレン（註・炭疽菌のこと）に類すれども之よりは細小なり。其の長短は太だ不同にして、人体赤血球直径の半より二倍に至るの差あり。其の發育の初期に当りては極めて長く、間々蜿蜒形及び長線状を為す。或は又之に雜うるに各箇分離せるバチルレンを以てせり。概して脾臓疽バチルレン及び水腫バチルレンに比すれば甚だ細く、其の長形なるものの支節は不明なれども、間々又極めて明瞭なるものありて、其の状全く脾臓疽バチルレン等と異なるを見る。後に至れば此のバチルレン漸く厚大と為り、且其の長さを減じて卵円形に變じ、或は各箇分離し或は尚糸線状を為す。

注目すべきは、これに続く芽胞形成に関する記述である。

中央照輝法に由りて之を檢視すれば其の中央に於て、大に光線を屈曲し且染色せられざる小体あるを見る。終には従前のバチルレン全く認視すべからざるに至りて、小体は液中に浮遊し、傍ら又各級の發育に於けるバチルレンあり、而して茲に視る所の光沢ある小体は決してアニリン色素に由りて染色せられず、實にバチルレンの芽胞（スポーレン）に外ならず……と。

このあと鼠・兎・猿に分離したバチルレンを注射して、その病状と病理解剖所見を詳述し、接種したバチルレンの再確認を報告している。

最後の要約の全文を紹介しよう。

脚気病屍の器官中にはアニリン色素に由りて著しく染色するを得べく、且其の長径には稍差等ある小槓子状の小体存す。脚気病者の血液中にはバチルレンを含有し、培養ゼラチン寒天培養基等に之を培植し、更に之を鼠兎猿等に接種すれば脚気病者の症候に類する発症を見る。

故に脚気病の原因は必ず此のバチルレンなりと信んず。而して此の菌の如何なる景況に由りて人体中に來るや、又如何なる方法を以て其の侵襲を防止すべきやは、尚ほ進みて研究せんと欲する所なり。

東京大学御用掛兼内務省御用掛

緒方正規

明治18年4月6日

内務卿伯爵 山縣有朋殿

緒方講演の直後会場に於て、直ちに賛成と反対の意見開陳が行なわれた、その様子を東京医事新誌は伝えている。ここにそれを紹介する余裕はない。ただ、緒方論文を精読して、研究室空气中に常在する *Bacillus subtilis* = 枯草菌とその類似菌のことが、全く考慮されていないことに気づくのは筆者だけでないと思われる。

Koch's Postulates の理念の上に、脚気病原探査が緒方によって進められていることは理解でき、またこの論文から当時の実験方法の実際もまた理解できる。

このほかに、緒方正規は結核菌の研究・狂犬病ウイルスの研究を行なっている。また、北里柴三郎は、

ある華族が飼っているアヒルがつぎつぎに死んでいった事件に際して、ニワトリ・コレラ菌 (*Pasteurella multocida*) が原因菌であることを証明した。

明治18年9月、長崎でコレラ流行が起ったとき、出張した北里柴三郎は患者排泄物中に Koch の報告している Kommabazillen (=今日のコレラ菌) を培養して証明した。

緒方正規は、明治29年(1896)台湾に渡って、ペスト斃鼠についているノミの体内にペスト菌が繁殖していることを証明した。これは、ペスト流行に際してノミが必ず存在する媒介者である最初の証明であって、世界記録的業績と評価されている。北里柴三郎は、明治18年11月8日ドイツ留学のために旅立った。それから以後の、この二人の先覚者の業績を回顧しながら、発祥地における事始めだけを紹介してペンをおく。

昭和51年10月

国立衛生試験所百年史 編集委員会

昭和 51 年度 図書 委員

朝比奈 正 人(委員長)

中 館 正 弘	橋 場 茂 子	德 永 裕 司
長谷川 明	福 岡 正 道	叶 多 謙 蔵
松 井 啓 子	齐 藤 行 生	山 田 隆
一 戸 正 勝	高 橋 惇	鈴 木 幸 子
新 村 寿 夫	荻 生 俊 昭	畠 山 好 雄
野 口 衛		

衛 生 試 験 所 報 告 第 94 号

昭和 51 年 11 月 25 日 印 刷
昭和 51 年 11 月 30 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 サンコー印刷株式会社
東京都文京区後楽2-10-12