

衛生試験所報告

第 97 号

昭和 54 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

No.97 1979

国立衛生試験所

衛生試験報

Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試報 97 号 正誤表

ページ	位 置, 行	誤	正
I	目次上, 20	及ぶ	及び
49	下, 10	slightly	slight
56	" 15	(LAP) <i>r</i> -glutamyl	(LAP), <i>r</i> -glutamyl
67	上, 16	aggregatin	aggregation
95	Table 下, 7	15**	15*
98	Fig. 1. 上, 2	add	added
99	Fig. 5.	0.01	0.05
122	左下, 12	cotto	cotton
123	右下, 7	cutgut	catgut
124	右上, 3	united	United
140	左下, 15	それぞれ	それぞれ
"	右下, 9	上げる	下げる
141	" 9	それぞれ	それぞれ
144	Table 下, 13	mu/ml	mu/ml
"	左下, 2	ななかつた	なかつた
148	Table 上, 7	mg/dl	mg/dl
152	" 11	mEq/l	mEq/l
170	" 18	natural grana cheese	natural Grana cheese
177	左下, 12	収穫期	収穫期
178	" 21	収穫年次	収穫年次
"	右下, 18	いたします	表わします
182	左上, 7	見出さした	見出された
203	右上, 21	大阪港 (鈴木功記の	大阪港 (鈴木功記) の
"	右下, 7	57件	56件
204	左下, 11	ジコホール	ジコホール.
205	右下, 6	尼寺敬子	尼寺啓子
206	左上, 9	到した	達した
207	右上, 14	道協豊浦地区	道南豊浦地区
208	右下, 16	葉緑	葉緑
"	" 13	罹病株	罹病株
209	左上, 13	期長	期間
"	右下, 11	収量,	収量.
"	" 2	実生苗	実生苗
211	右上, 7	収穫時	収穫時
212	右下, 18	酵栽培法	栽培法
239	" 15	Preduced media	Prerduced media
255	" 6	wara	were
261	右上, 3	子のう殻	子のう殻
262	右下, 5	offusa	effusa
269	左下, 16	検討した	考察した
"	右下, 19	$\lambda-(I)^{1/2}$	$\lambda-(I)^{1/2}$
270	左上, 10	glycyrrhizine	glycyrrhizin
"	左下, 3	nomely	namely
"	" 1	codein	codeine
271	左上, 15	炭酸飽充ガス (煙道) ガス	炭酸飽充ガス (煙道ガス)
"	左下, 20	多核芳香族炭化水素	多核芳香族炭化水素
"	" 9	Hideo SUZUKI	Hideyo SUZUKI
"	右下, 6	phas	phase
273	左上, 4	Loir	Loi
"	左下, 9	Takahiko SAITO*2	Takahiko SATO*2
274	右上, 12	ihinteraction	interaction
"	" 19	Organophosphorous	Organophosphorus
275	" 5	aborption	abortion
276	左上, 7	being	beings
277	" 2	小宮卓二	山宮卓二
279	右下, 6	白井智之*, 白井智之*	白井智之*
280	左上, 13	ノ-エチル- (ENU)	I-エチル- (ENU)
"	右下, 21	道電率	導電率
281	左上, 3	海外泰秀	外海泰秀
"	" 9	butyl hydroquinone	butylhydroquinone

衛生試験所報告

第 97 号

昭和 54 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

No. 97 1979

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説

- 食品汚染物の実態に関する調査研究：食品汚染物モニタリングプログラム—全国データの収集、保存、処理、解析および利用について—……………内山 充…… 1

報 文

- 薄層デンストメトリーによるアヘントコン散中のエメチンの定量……………高橋一徳・大野昌子……21
- フェノバルビタールの免疫学的確認法
……………木村俊夫・徳永裕司・太田美矢子・横田椅江・福田秀男・佐藤 浩・川村次良……25
- 市販ブロメライン製剤の製剤学的検討—力価試験、崩壊試験、重量偏差試験および電気泳動法による純度試験……………谷村 剛・福田秀男・横田椅江・川村次良……29
- 皇居内苑澁水の水質について……………佐谷戸安好・松井啓子・中室克彦・安藤正典……35
- 輸入脱脂粉乳の微生物叢について
……………小沼博隆・Ninbodee Tanyalak・高山澄江・羽柴真澄・河西勉・鈴木 昭……44
- 薬物性腎障害の生化学的検索に関する研究（Ⅰ）puromycin aminonucleoside および mercuric chloride 投与による尿中酵素活性の変化…大野泰雄・川西 徹・高橋 惇・大森義仁……49
- 薬物性腎障害の生化学的検索に関する研究（Ⅱ）Indomethacin および Phenylbutazone 投与による尿中酵素活性の変化……………大野泰雄・川西 徹・高橋 惇・大森義仁……56
- 4種の局所麻酔薬（塩酸塩）の水溶液中における会合体形成……………岡田敏史・持田研秀……67

ノ ー ト

- 塩酸クロロプロマジン及び塩酸プロメタジンの光分解……………橋場茂子・立沢政義・江島 昭……73
- アヘントコン散中のエメチンの確認試験……………高橋一徳・大野昌子……79
- 向精神剤の鑑定法（第2報）……………島峯望彦・高橋一徳・大野昌子……82
- 塩酸チアミンの非水滴定について……………太田美矢子・木村俊夫・川村次良……88
- α 線測定のための微量ウランの電着について……………亀谷勝昭・河上一美……91
- プラスチックに関する衛生化学的研究（第2報）ABS樹脂とAS樹脂中の残存アクリロニトリルとその水への溶出について……………辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄……93
- プラスチックに関する衛生化学的研究（第3報）ポリオレフィンからのBHTの溶出について……………井上たき子・辰濃 隆・谷村顕雄……97
- しょう油中のエタノール含量の測定法について……………吉年美千代・伊藤蒼志男・慶田雅洋…… 102

資 料

- 合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍効果（Ⅲ）
……………宮原美知子・神谷庄造・中館正弘・末吉祥子・丹野雅幸・宮原 誠・前川昭彦・小田嶋成和…… 107
- 国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“脳下垂体後葉標準品（第9回，Control 771）”
について……………福田秀男・谷本 剛・木村俊夫・川村次良…… 110
- 国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“デスラノシド標準品”について
……………徳永裕司・木村俊夫・川村次良…… 113
- 国立衛生試験所標準品第8回“リゾチーム標準品”について
……………谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・川村次良…… 115
- 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
……………徳永裕司・木村俊夫・川村次良…… 117

Present Status of Biomedical Application of Fibers in Japan.....	T. ŌBA...	119
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(1978年 1月~12月).....	樋口英二・松村年郎・谷村顕雄...	124
食品中の残留農薬分析に関する研究(第29報)脂肪含有食品中のヘキサクロルベンゼン (HCB)の残留分析法.....	関田 寛・武田明治・内山 充...	129
鶏肉中の残留フラゾリドンの分析.....	神蔵美枝子・江口浩子...	135
エステル交換油脂中の脂肪酸メチルエステルの分析.....	酒井綾子・谷村顕雄...	139
実験動物の血清生化学値Ⅰ. マウスおよびラットの血清成分の安定性	中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実...	141
実験動物の血清生化学値Ⅱ. ラットの全血の放置による血清生化学値の変動	中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実...	147
実験動物の血清生化学値Ⅲ. ラットの絶食時間の違いによる血清生化学値の変動	中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実・鈴木康雄・金子豊蔵・池田康和...	150
医薬品の溶出試験法に関する研究(第3報)ジギトキシンの酸加水分解	辻 澄子・伊阪 博・持田研秀...	156
乾燥えび中の合成並びに天然着色料の検出例について.....	伊藤管志男・外海泰秀・慶田雅洋...	159
市販食酢および食酢関連製品のジアセチルならびにエタノール含量について	慶田雅洋・外海泰秀・渡辺孝子・上田素子・長谷明子...	162
Results of the Chemical Inspections of Imported Foods, Utensils, Container-packages and Toys in Osaka Branch from April in 1977 till March in 1978	Y. ITO, Y. TONOGAI, M. TOYODA, S. OGAWA, M. YODOSHI and M. IWAIDA...	166
Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods, Utensils, Container- packages and Toys in Osaka Branch from April in 1978 till March in 1979	Y. ITO, Y. TONOGAI, M. TOYODA, S. OGAWA, M. YODOSHI and M. IWAIDA...	169
Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) from April in 1978 till March in 1979 (on the Product Examination of Coal-Tar Dyes XVIII).....	K. NAKAMURA, H. SUZUKI, M. YODOSHI and M. IWAIDA...	173
北海道におけるシャクヤク栽培(第3報)実生苗, 株分苗の大きさと生育, 収量および品質 について.....	堀越 司・本間尚治郎・石崎昌吾・西沢 信・山岸 喬...	175
業務報告.....		179
特別研究報告.....		214
誌上発表.....		248
学会発表.....		277
衛試験例.....		283
昭和53年度に行った主な研究課題.....		288
国家検定, 国家検査などの試験状況報告.....		289
国立衛生試験所標準品.....		297

CONTENTS

Review

- M. UCHİYAMA : Current Status of Food Contamination Monitoring Programme in Japan—Collection, storage, processing, appraisal and dissemination of the data represent the country as a whole..... 1

Originals

- K. TAKAHASHI and M. ŌNO : Denstometric Determination of Emetine in Opium Ipecac Powder on the Thin-layer Plate.....21
- T. KIMURA, H. TOKUNAGA, M. OHTA, I. YOKOTA, H. FUKUDA, H. SATO and J. KAWAMURA : Immunological Characterization of Phenobarbital 25
- T. TANIMOTO, H. FUKUDA, I. YOKOTA and J. KAWAMURA : Pharmaceutical Studies on Commercially Available Bromelain Preparations—The Assay of Potency, Disintegration Test, Weight Variation Test and Purity tested by Electrophoresis.....29
- Y. SAYATO, S. MATSUI, K. NAKAMURO and M. ANDO : Character of Water Quality of the Inner Moats around the Imperial Palace.....35
- H. KONUMA, T. NINBODEE, S. TAKAYAMA, M. HASHIBA, T. KAWANISHI and A. SUZUKI : Microbial flora in skim milk powder imported from Australia, New-Zealand and Canada.....44
- Y. OHNO, T. KAWANISHI, A. TAKAHASHI and Y. OMORI : Biochemical studies of chemically induced renal damage (I) Changes of urinary enzyme activities induced by puromycin aminonucleoside and mercuric chloride 49
- Y. OHNO, T. KAWANISHI, A. TAKAHASHI and Y. OMORI : Biochemical studies of chemically induced renal damage (II) Changes of urinary enzyme activities induced by Indomethacin and Phenylbutazone.....56
- S. OKADA and K. MOCHIDA : Aggregation of Four Local Anaesthetics, Salts of Hydrochloride, in Aqueous Solution.....67

Notes

- S. HASHIBA, M. TATSUZAWA and A. EJIMA : Photodegradation of Chlorpromazine Hydrochloride and Promethazine Hydrochloride 73
- K. TAKAHASHI and M. ŌNO : Identification of Emetine in Opium Ipecac Powder.....79
- M. SHIMAMINE, K. TAKAHASHI and M. ŌNO : Identification of Psychotropic Drugs. II 82
- M. OHTA, T. KIMURA and J. KAWAMURA : Nonaqueous Titration of Thiamine Hydrochloride 88
- K. KAMETANI and H. KAWAKAMI : Electrodeposition of U for Alpha Spectrometric Determination 91
- T. TATSUNO, T. INOUE and A. TANIMURA : Hygienic Chemical Studies on Plastics (II). Residual Acrylonitrile in ABS resin or AS resin and It's Migration into Water.....93
- T. INOUE, T. TATSUNO and A. TANIMURA : Hygienic Chemical Studies on Plastics Migration Test of BHT from Polyolefine.....97
- M. YODOSHI, Y. ITO and M. IWAIDA : A Comparison of the Determination Methods

of Ethanol in Soy Sauce	102

Technical Data

M. MIYAHARA, S. KAMIYA, M. NAKADATE, S. SUEYOSHI, M. TANNO, M. MIYAHARA, A. MAEKAWA and S. ODASHIMA : Antitumor Effect of Compounds Synthesized in the Division of Synthetic Chemistry. (III)	107
H. FUKUDA, T. TANIMOTO, T. KIMURA and J. KAWAMURA : On the Japanese Pharmacopoeia Standard "Posterior Pituitary Standard (9th, Control 771)".....	110
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA : The National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Deslanoside Reference Standard"	113
T. TANIMOTO, H. FUKUDA, T. KIMURA and J. KAWAMURA : On the National Institute of Hygienic Sciences Standard 8th "Lysozyme Standard"	115
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and J. KAWAMURA : The National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Lanatoside C Reference Standard".....	117
T. OBA : Present Status of Biomedical Application of Fibers in Japan	119
E. HIGUCHI, T. MATSUMURA and A. TANIMURA : Summary of Air Pollutants Levels at the Three Locations of the National Autoexhaust Monitoring Station in Tokyo from January to December 1978.....	124
H. SEKITA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA : Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XXIX) Analytical Method for Hexachlorobenzene (HCB) in Fat-containing Foods	129
M. KAMIKURA and H. EGUCHI : Analysis of Furazolidone Residue in Chicken Tissue.....	135
A. SAKAI and A. TANIMURA : Analysis of the Methyl Esters of Fatty Acids in Interesterified Fats.....	139
Y. NAKAJI, S. SUZUKI and M. SAITO : Biochemical values in serum of laboratory animals I. Stability of serum components of mouse and rat.....	141
Y. NAKAJI, S. SUZUKI and M. SAITO : Biochemical values in serum of laboratory animals II. Variation in the biochemical values of rat serum on standing of the whole blood	147
Y. NAKAJI, S. SUZUKI, M. SAITO, Y. SUZUKI, T. KANEKO and Y. IKEDA : Biochemical values in serum of laboratory animals III. Variation values in the biochemical values of serum from rats of different fasting time	150
S. TSUJI, H. ISAKA and K. MOCHIDA : Studies on the Dissolution Test of Drugs. III Acid Hydrolysis of Digitoxin	156
Y. ITO, Y. TONOGAI and M. IWAIDA : A Case Report on the Detection of Artificial and Natural Colors from Dried Shrimp.....	159
M. IWAIDA, Y. TONOGAI, T. WATANABE, M. UEDA and A. HASE : On the Diacetyl and Ethanol Contents of Commercial Vinegars and Composite Products Containing Vinegar	162
Y. ITO, Y. TONOGAI, M. TOYODA, S. OGAWA, M. YODOSHI and M. IWAIDA : Results of the Chemical Inspections of Imported Foods, Utensils, Container-packages and Toys in Osaka Branch from April in 1977 till March in 1978.....	166
Y. ITO, Y. TONOGAI, M. TOYODA, S. OGAWA, M. YODOSHI and M. IWAIDA : Results	

of the Chemical Inspections of the Imported Food, Utensils, Container-packages and Toys in Osaka Branch from April in 1978 till March in 1979.....	169
K. NAKAMURA, H. SUZUKI, M. YODOSHI and M. IWAIDA : Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) from April in 1978 till March in 1979 (on the Product Examination of Coal-Tar Dyes XVIII).....	173
T. HORIKOSHI, N. HOMMA, S. ISIZAKI M. NISHIZAWA and T. YAMAGISHI : Studies on the cultivation of <i>Paeonia albiflora</i> Pall. var. <i>trichocarpa</i> Bunge in Hokkaido (III) On the quolity for Size of Growth and Yield of Seedling or Suchering of <i>Paeonia albiflora</i> pall. var. <i>trichocarpa</i> Bunge	175
Annual Reports of Divisions	179
Report of Collaborative Study	214
Summaries of Papers Published in Other Journals	248
Titles of Speeches at Scientific Meetings	277
Semminars	283
Survey of the Results of National Tests	289
Refere Standards Prepared by National Institute of Higienic Sciences.....	297

食品汚染物の実態に関する調査研究：食品汚染物モニタリングプログラム
—全国データの収集、保存、処理、解析および利用について—

内 山 充

Current Status of Food Contamination Monitoring Programme in Japan—
Collection, storage, processing, appraisal and dissemination of the
data represent the country as a whole

Mitsuru UCHIYAMA

わが国は 50% 以上の食品を輸入に仰いでいると同時に、食品汚染が原因となった不幸な健康障害事例の経験者でもあり、それに対する食品衛生試験研究および行政対策にも貴重な経験と実績を有している。

食品衛生の研究と行政が、今後は急激な勢いで国際化と情報化の一途をたどるであろうと予想される現在、上のようなわが国の経験は、必ずや将来の国内外の研究と行政の上に有効に生かされるであろうが、そのためにもここに述べる食品汚染物モニタリング計画の持つ意義は大きい。

全国の同じ目的の研究者の一致した協力によって作られた成果がいかに力強く、価値あるものであるかを、今さらながら感じると共に、関係各方面の御協力に心から謝意を表したい。さらに、ここに発足した本計画が今後永く維持され発展し、数多くの有益な情報と企画を産んでくれることを念じるものである。

昭和 52 年 5 月下旬、環境衛生局長から、FAO/WHO 合同食品および飼料汚染物モニタリング計画の専門家会議（ジュネーブ）に出席するようにとの要請をうけた時に、これから述べるプログラムの幕が開かれたことになるが、それから 2 年足らずの間にわが国の食品汚染物の分析データの取扱い方とそれらの価値に極めて大きな変化が生じた。

今その経過をふりかえって、内容と動向を紹介しようとするに当たって何か運命的なものを感じている。

というのは、著者が国立衛生試験所に転任して来た昭和 49 年に、初めて迎えた外人訪問者が後に出て来る Jelinek 氏であったが、その時は数年後に自分がその計画に直接関与するなどとは露知らず日本の実情を説明したものであった。さらにその後、職掌柄各方面から食品汚染物の実態値や推移を聞かれるたびに、自分の手で全国データの整理をしてみようと思いたち、幾度か主要な地方衛生研究所から分析結果表のコピーを送ってもらって手をつけ始めたが、いつもその複雑さと膨大さに音を上げて放棄してしまっていたのだった。ところが思いがけぬきっかけから、最も理想的な

形で食品汚染物分析結果のデータベース化が実現しつつあるからである。

I. プログラムの背景

1. 汚染物の実態に対する関心

水俣病やカネミ油症のような特定の汚染源から特定の時期に汚染物が放出されたという場合とは異なり、汚染物がいくつもの経路を経て環境中に入り、随時食品を汚染するという事実が起りつつあることをわれわれが知ったのはそれ程新しいことではない。

わが国では、昭和 42 ないし 44 年ごろがその時期に当たる。Jensen により特に野生の動物が環境からの PCB で汚染されている事実が明らかにされさらに高知衛研の上田氏により特定の汚染源なしに β -HCH (BHC) が牛乳中にかんりの高濃度に検出されるということが報告された時期だからである。したがって農薬の残留に関する実態調査（これは昭和 39 年から始まっていた）と並んで、一般食品の汚染調査が必要であることが認識され、各都道府県においても衛生研究所を中心に色々な汚染物を対象にして実態調査が活発

に行われるようになった。

国際的にも食品中の汚染物のバックグラウンドレベルをモニタリングするという事は、上記 Jensen の報告以降に広く行われるようになったのであって、1970年頃以降に各国足並みを揃えて汚染物に取組んだ時期といつてよい。

わが国におけるこれら食品汚染物の分析に關する機関の設備と研究者の分析技術は、昭和 45 年 (1970) 頃を境にして著しく向上したように見える。それまでは、特定の専門家を有する少数の衛生研究所でしか行われていなかった微量汚染物の分析が、この頃から広く応用されて普及し、全国がほぼ同一の水準で比較しうるデータを出しううようになった。

農薬や PCB などの有機汚染物と同様、ひ素、鉛、水銀、カドミウムなどの有害性重金属に關する実態調査も現在ではほぼ全国で信頼しうる数値が得られるようになっている。魚介類の水銀分析などは PCB よりもかなり古い歴史をもっておりデータも多い。しかし重金属に共通していえることだが、いまだに分析技術の上で改良されるべき点を残していることも事実であり常に新しい問題を提供している。

2. 国際機関の動きとわが国に対する評価

1972年ストックホルムで開かれた国連の人間環境会議における決議をうけ、さらに国連環境計画 (UNEP) の地球環境調査システム (GEMS) の一環を成すものとして、FAO/WHO 合同の食品および飼料汚染物モニタリング計画が 1974 (昭和 49) 年から始められた。

先ず 1974—1976 年の 3 ヶ年を Phase I と称し、主として世界各国の食品汚染物分析の実情調査にあて、その結果から国際的に食品汚染物の実態とその推移を知りさらに予測や人間の健康との關係を評価するための計画を進められるかどうかを判断することとなった。

1974 年夏には上記実情調査のため WHO の委託をうけた Dr. Jelinek (米国, FDA) がわが国を訪れ、厚生省、農林水産省、環境庁および各試験研究機関などから当時の食品汚染物に關するわが国の体制や結果などを聴取して報告書にまとめ、1974 年 10 月の Phase I の専門家会議に提出している。

その内容は、当時のわが国が食品汚染物に關して国際的にどのような評価をうけていたかを知るには非常に良い資料となるが、要約すると、

- ① 分析方法の主なもの国立衛生試験所などでまとめられ、国の委員会の承認を得た後厚生省から告示その他の方法で公定法として示され、必要に応じて研修会などが開かれている。国内でのクロスチェ

ックの習慣はないが分析結果は均質 (comparable) である。

- ② 分析に關する技術水準は極めて高く、分析件数も充分に多い。

- ③ 実態調査は主として地方衛生研究所において行われているが、その結果は、各地方で個々に評価されており、そのうちの一部は全国的に厚生省や国立衛生試験所で評価される。

- ④ 数多くある調査結果の数値は、未だにコンピュータ処理を全くされていない。(厚生省はコンピュータ施設を持っていないと書いてあるがこれは誤認である)。

- ⑤ 日常調理食品からの汚染物摂取量調査 (total diet study) が体系的に行われていない。といったものであった。

このような状態は、英、米、加などに次ぐ充足度を示しており、わが国も計画の主要メンバーとして次の Phase II から参加を要請されるところとなった。

さて Phase II は 1977—1979 年の 3 ヶ年計画で開始された。そして 1977 年 6 月に先進 13 ケ国と発展途上 4 ケ国の代表によって会議が開かれ冒頭で述べたように著者も出席したが、次のような Phase II の立案がなされた。

- 1) 各国に協力研究機関をおく。
- 2) 1977—1979 年の間の各年に、それぞれ定められた食品の、特定の汚染物に關するこれまで (1971 年以後) のデータを WHO に送付する。

送付データとしての requirement の内容は後に述べることにするが、この計画に賛同して参加を決めた国々は

オーストリア、カナダ、デンマーク、エジプト、西ドイツ、グアテマラ、ハンガリー、アイルランド、日本、ケニア、オランダ、ニュージーランド、ポーランド、スウェーデン、スイス、イギリス、アメリカ

の 17 ケ国であったが、1978 年 9 月現在、ブラジル、コロンビア、インド、メキシコ、およびソ連とも協力の話し合いがなされているという。

わが国は環境衛生局がこの計画には全面的に協力することを決め、国立衛生試験所を協力研究機関 (Collaborating centre) として 1977 年 8 月に WHO に推せんした。

3. 国内における状況

上に述べた国際的な動きが起りつつあった頃、国内の状態はどうであったかという点、Jelinek 氏の上記の報告書の内容がまさにその当時の状況を適格にいい

表わしていた。

全国的に見れば極めて精力的に程度の高いデータが食品汚染物に関して生み出され、それぞれの地域において実態把握にあるいは汚染の監視に役立っていたではあろうが、国が全国調査の計画を立てて行った場合以外は分析データはそれぞれの地方に保存され、全国的な集計はほとんど行われていなかった。

したがって、食品別、汚染物別の実態を年次別に集計して推移を見たり、地域別に比較したり、汚染物の平均値を全国値として算出することは不可能であり、極言すればデータは死蔵されていたといってもよい。

FAO/WHO の上記の計画の有無に関係なく、1971 年以来積み重ねられた全国の食品衛生関係技術者の貴重な成績を、総集計し整理し保存して、さらに色々な処理をして情報として生かすことは、国家的見地からいって当然なすべきことでありそれを行うのには国際的な動向から見ても今が最も適当と判断された。

このような背景に立って本計画は昭和 52 年度の半ばから食品衛生調査研究の一環として開始されたのである。

II. プログラムの目標

1. 食品汚染物の実態に関する研究の範囲

本プログラムは、食品汚染物についての食品衛生上の取組みのうち「実態」の部分を総括的に受持つものであるといえよう。

実態研究は図 1 に示すように、影響や対策と共役して食品汚染物の研究を完全な形にするものである。現在、食品汚染物のいくつかについて、毒性研究が行われ、実態と組合わせて安全性評価が、また対策との接点として治療研究が行われていることはよく知られている。

この図から、実態研究の意義や守備範囲は容易に理

解されうるとは思うが、実際の対象汚染物としては食品との接触の機会と量の多少によってそれぞれ特定のものがとり上げられることとなる。

また時代と共に対象物が変化して行くのは当然のことであり、家畜での事象、労働衛生における事例あるいは環境調査の結果などを勘案して新しい汚染物に対する調査と監視が随時必要となることがありうる。

実態研究の内容は通常次のような項目を含んでいる。

- ① 実態調査の方法の改良と開発
- ② 実態調査の立案と実行
- ③ 実態の監視（異常の発見）
- ④ 実態調査試料の保存

- ⑤ 調査結果の集計、処理、情報提供、将来予測

これらの項目が、時代に即応した汚染物についてバランスよく実施されていることが必要である。しかしこれまでは、これらの中でいくつかの点に欠けるところがあったといってもよい。その点を改善し、将来に向けて食品汚染物の実態に関する研究の充実をはかるためにも本プログラムはきわめて有効といえる。というのは上記③、④、⑤を重点的にカバーしうるからである。従来の体制ではいずれの場合も①と②について主として力がそそがれていたのが実情であろう。

2. 具体的な研究計画

本調査研究が食品汚染物の実態についてのこれまでの未整理であった分野を補う目標をもって始められたことから、具体的な研究計画としては次の 4 項目が取り上げられた。

- 1) FAO/WHO 合同食品および飼料汚染物モニタリング計画に対する協力

先に述べたように国際的に食品汚染物の実態把握計画の機運が盛り上がり、Phase II として実際に特定の種目のデータを収集する計画が 1977—1979 年の 3 年で行われるので、毎年の送付要請項目につきわが国の全体を代表しうる値を算出して WHO に提出する。

- 2) 国内食品汚染物モニタリング計画

1971 年以来、全国の衛生研究所において作られた食品汚染物の分析データの中、特定の汚染源の影響をうけていない試料について得られたバックグラウンドデータを、一定の書式に従って記録して集計し、それらを全部一定のプログラムの下で厚生省統計情報部のコンピュータに入力し、必要に応じて必要な情報を得ることのできるようにする。

昭和 52 年度は、集計法の確立と一部データの投入を、昭和 53 年度は 1971—1977 年の間の全データの投入を終え、さらに出力のプログラムを作成すること

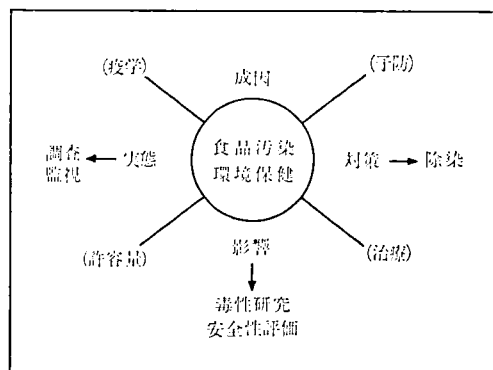


図 1. 環境保健関連研究分野の相対関係

を企てた。さらに現在は今後永久にこのモニタリング計画を運用しうるかどうかの確認のため、1978年度の分析値をいかに系統的に正確に迅速にデータベースに加えるかを検討し、モニタリング体制を完成させると共に、各種アウトプットを用いて評価を行い、国の責任で実態についての刊行物も作成したいと考えている。

3) 汚染物摂取量調査計画 (Total diet study)

これは実態監視、異常発見に寄与しうることである。調理後の日常食中に含まれる汚染物の総量調査には種々の方法があるが、マーケットバスケット法による調査はその一つである。わが国ではこれについては全国レベルの調査の方法もなく経験もない。そこで国際的に慣用化されている方法を取り入れ、total diet studyにつきマーケットバスケット法の試験法確立を第一の目標とし、さらに毎年度数ヶ所で実際の試験をして結果をとりまとめることとしたが、この計画についての詳細は別の機会に述べることにし、本稿ではこれ以上は触れないこととする。

4) 食品試料保存計画 (Food sample bank)

食品は地域的にも時間的にもかなり特徴のあるものであって、1977年の食品はその時代の特徴を有してい

る。将来数十、数百年を経た後に、現在の食品がその時代の食品衛生の研究上貴重な試料となりうるであろうことは容易に想像されるところである。

そこで 1977 年度より一定の食品試料を永年保存して後世に残すための体制を確立することを企てた。これについても今回は詳細を割愛する。

・Ⅲ. 経過と結果

1. FAO/WHO 合同食品・飼料汚染物モニタリング計画への参加

この計画は Phase II として 1977—1979 年の 3 ケ年間に特定のデータを収集して評価する予定であることは既に述べた。1977 年を stage 1, 1978 年を stage 2, 1979 年を stage 3 と呼ぶが、各 stage に各国から収集されるデータの内容をまとめると表 1 のようになる。

ここに示された汚染物や食品試料の選択およびそれらの収集順序などは、1977年ジュネーブでの打合わせ会における議論の結果、参加者の大方の承認を得て作られたものであるが、その間の経過について簡単に説明しよう。

先ず WHO の事務局 (Division of Environmental

表 1. FAO/WHO 合同食品および飼料汚染物モニタリング計画の Phase II に収集されるべきデータ

Stage	汚染物	試料食品	試料採取年
I (1977)	a) 有機塩素化合物*	a) 牛乳, 全粉乳, バター, 母乳	1971—1975
	b) 鉛	b) 鉛ハンダの罐づめ果物, ジュース, 野菜, 牛乳	1971—1975
II (1978)	a) 有機塩素化合物*	a) (i) 牛乳, 全粉乳, バター, 母乳	1976—1977
		(ii) 食用油脂, 魚	1971—1977
	b) 鉛	b) (i) 鉛ハンダ罐づめ果物, ジュース, 野菜, 牛乳	1976—1977
		(ii) 穀粉, バレイショおよび他の主要野菜, 軟体類, 甲殻類, 腎臓	1971—1977
	c) カドミウム	c) 軟体類, 甲殻類, 穀粒, 穀粉, バレイショ, 腎臓	1971—1977
III (1979)	a) 有機塩素化合物*	a) (i) 牛乳, 全粉乳, バター, 母乳, 食用油脂, 魚	1978
		(ii) 穀類, 卵, 果物, 野菜	1971—1978
		(iii) Total dietary intake	1971—1978
	b) 鉛	b) Total dietary intake	1971—1978
	c) カドミウム	c) Total dietary intake	1971—1978
	d) アフラトキシン	d) ラッカセイ, 他のナッツ, トウモロコシ, 牛乳	1971—1978
	e) ヒ素	e) 特定の食品および Total dietary intake	1971—1978

* 有機塩素化合物は DDT complex (pp'DDT+pp'DDE+op'DDT+TDE), total HCH isomers, heptachlor + β -heptachlorepoxyde, aldrin + dieldrin, HCB, PCB の 6 種である。

Health [Director : Dr. B.H. Dieterich] の Food Safety Unit [責任者は当時は Dr. C. Agthe, 現在は Dr. D.G. Chapman]) から working paper が提出され、その中の各項目に挙げられた物質やパラメータについて、取捨選択および追加の議論がなされた。

汚染物については、DDT や HCH の代謝物や異性体を別々に集めようという予定であったが、あまりに細分すると報告所要枚数が増える（汚染物×食品種×分析年度のクロス集計になり件数が過大となる）のと、細分データの完備していない国も多かったため、共にいわゆる total-値となった。表 1 に掲げられたものの他に、endrin, methoxychlor, もあったが、塩素系化合物は 6 種類が限度ということで削除された。

重金属はこの他総水銀が予定されていたが、スウェーデンとわが国から、非汚染バックグラウンドレベルが地域的に差がありすぎる（鹿児島県錦江湾の天然魚の高い水銀含有の例などを説明した）ことなどの意見が出て、見送りとなった。

また、有機リン化合物は実態値がほとんど不検出レベルであること、多環芳香族炭化水素は食品からの分析法が不備であることから共に削除された。ジチオカルバメートについての世界の実態を知りたいと考え著者からこれを提案したが、重要性についての賛意は示されたが実行は次回廻しとなった。

次に食品種については、それぞれの汚染物に最も関連の深い、しかも食品衛生上問題のあるものがそれぞれ選定された。ほぼ事務局案の通りとなったが、米国（前に出た Dr. Jelinek）が著者にも同意を求めつつ、塩素系化合物の stage 2 に魚類を追加した。

データの年次については 1978 年 3 月ローマでの技術委員会で多少補正されて表 1 のようになったが、わが国にとっては前年度のものを次の 9 月までにまとめるのは当時は困難であったので部分的には遅れてもよいという了解を得た。

いずれにせよ全項目を満足するようなデータの集積を保有している国は無いので、可能な部分について送付すればよいということとなった。

統計パラメータとしては、試料数、算術平均、最大 10 に区分した数値域での試料の分布度数、同じく分布率、95 パーセンタイル値^{*}、SD、SE、幾何平均、レンジなどといういくつかの案が出され、統計の専門家も加わって検討した結果、最終的には、試料数、10 パーセンタイル値（stage 2 からはこれを省略）、50 パーセンタイル（メディアン）値、および 90 パーセンタイル値を送付することとなった。

さて、stage 1 の締切りは 1977 年 10 月末とされたが、この内容が決まって著者が帰国したのが 6 月半ばであったので、それから 4 ケ月程の余裕しか無かった。過去の全国のデータを全部コンピュータに入れ、そこから任意に集計結果を取り出せるようになれば要求項目についての日本全国の代表値を送るのは容易であろうがそれまでにはどんなに急いでも 1 ～ 2 年かかると判断された。しかもその当時われわれの手に入るデータは各県毎の数値、あるいは各実態調査毎の数値で、主に平均値や最高、最低値であったが、WHO には 50 パーセンタイル（メディアン）値と 90 パーセンタイルを送付するような申し合わせになっており、それに対する処置は無から始めなければならなかったのである。

そこで、stage 1 は爾後の国内データコンピュータ化と切りはなして独立に対処することとし、stage 2 からはコンピュータに入れたデータベースからの情報で対応することとした。

さて、表 1 に示す項目の全国データを短日時に集計するのに最も有効な方法は何であるかを考えた結果選んだ方法がマークカードによるクロス集計であった。先ず全国の衛生研究所に事情を説明して、取りあえず、1977 年秋までに作らねばならぬデータについての協力を依頼したのち、図 2 に示すようなマークカードを送付した。カードの記入法や集計のねらい、あるいは当時の著者の心境など文章にするのはかなりむづかしく、むしろ p. 6～7 に示した依頼状のコピーを読んで頂くのが最も正確に状況を伝える方法であろうと考える。

この集計の成否は、その後のコンピュータへの入力計画の行方を予測するのに最も良い指標となると考えられたので、マークカードの返送状況をかなり緊張して見守ったものであったが、全国の衛生研究所の食品関連部門は、まことにすばらしい即応を示して下さり 10 月半ばには約 6,500 枚、件数にして約 30,000 件の分析値が提供された。これは、それまでの母乳の全国調査の結果などから想像していた件数の 2 倍近い件数であり、ほぼ完全に全国データと見ることができ

全国の代表値という考え方は、分析試料の採取場所が特定の県に偏っている時には適用できない。また、各県が等しい件数のデータを提供したとしても、それを処理することが正確に全国値の判定法かという点必ずしもそうではない。要は国民の汚染物に対する暴露

^{*} 試料の 95% がその数値より以下の値であるという数値

国産食品 77/6 (モニタリング-3)

FAO/WHO 調査 (1977 年分) のデータ集計について (抜粋)

本日よりお願ひ申し上げますのは WHO/FAO 食品汚染モニタリング計画の本年分のデータの取りまとめに限っております。これは、終切日の関係から、1978 年以降の分および本格的な国内のモニタリング集計とは切り離して行なうものです。

他のものについては後日連絡致します。

1. 今回の集計対象

- (1) 1971 年 (昭和46年) より 1975 年 (昭和50年) までの 5 年間のもの、年次毎に別集計、年次は試料収年 (昭和) を意味します。
- (2) 全乳、全粉乳 (調製粉乳や脱脂粉乳などは除く)、バターおよび月乳について DDT, HCH (BHC), デルドリン、ヘプタクロル、HCB, PCB の 6 種、並びにカン詰め (缶) ハンダシールの類 (のり) 食品 (果物、ジュース (濃縮ジュースを含む)、野菜、粉乳) の類
- (3) 上記のように、組合わせは (4 食品 × 6 塩素系 + 4 かんづめ品) × 5 年次 = 140 通りとなりますが、次項以下をお読みの上この中で貴所から御提供頂けるデータを選んで下さい。
- (4) DDT は *pp*-DDT, *pp*-DDE, TDE, *op*-DDT 等の総計、いわゆる総 DDT, HCH (BHC) は α , β , γ 等異性体の総計、いわゆる総 BHC, デルドリンは Dieldrin + Aldrin, ヘプタクロルは Heptachlor + Heptachlor epoxide, HCB: ヘキサクロロベンゼン

2. データの選択と分類

- (1) この集計は日本全体の実態を求めるものですから、データ数が多いよりもむしろサンプリングや分析法が comparable であることが重要で、
- (2) 分析法が公定法又は各種協定法と comparable なものを選んで下さい、貴所で用いた分析法を、データカードと別に回答用紙 (同封) でお知らせ下さい。
- (3) パックグラウンドデータとして貴地の代表例であることを要します。従って特定の事故などに因連して偏ったサンプリングをしたものは避け日常のモニタリングデータを選んで下さい。
- (4) 分析試料の取集点 (流通ルート上での) の異なるものは別に集計して下さい。WHO では次のような分類となっておりますが、今回の集計では青い塩素系化合物については
 - ① 全乳は 搾乳時と 出荷時 (工場より) と 小売に
 - ② 全粉乳とバターは 倉庫と 小売に区別し

検体コード	年度	汚染物質	食品	12	21	31	41	51
0 0 0 0 0 0 0 0		DDT	WT					
1 2 3 4 5 6 7 8	71	BHC	DT	1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1
2 3 4 5 6 7 8 9	72	DDE	B	2 2 2 2 2 2 2 2	2 2 2 2 2 2 2 2	2 2 2 2 2 2 2 2	2 2 2 2 2 2 2 2	2 2 2 2 2 2 2 2
3 4 5 6 7 8 9 0	73	HEP	HT	3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 3
4 5 6 7 8 9 0 1	74	HCB		4 4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4 4
5 6 7 8 9 0 1 2	75	PCB		5 5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5 5
6 7 8 9 0 1 2 3				6 6 6 6 6 6 6 6	6 6 6 6 6 6 6 6	6 6 6 6 6 6 6 6	6 6 6 6 6 6 6 6	6 6 6 6 6 6 6 6
7 8 9 0 1 2 3 4	76			7 7 7 7 7 7 7 7	7 7 7 7 7 7 7 7	7 7 7 7 7 7 7 7	7 7 7 7 7 7 7 7	7 7 7 7 7 7 7 7
8 9 0 1 2 3 4 5	77			8 8 8 8 8 8 8 8	8 8 8 8 8 8 8 8	8 8 8 8 8 8 8 8	8 8 8 8 8 8 8 8	8 8 8 8 8 8 8 8
9 0 1 2 3 4 5 6	78			9 9 9 9 9 9 9 9	9 9 9 9 9 9 9 9	9 9 9 9 9 9 9 9	9 9 9 9 9 9 9 9	9 9 9 9 9 9 9 9

図 2. 1977 年に使用したマークカード (縮尺)

す。最上欄の記入のすんだカードをまとめて最後にマークをして頂いた方が能率的で誤りも少くなるということです。

(8) 数値は3桁とって(とり方は(9)参照)マークして下さい。最初の2桁を100マスに、3桁目を右端の1行にマークして下さい。

(9) 3桁のとり方は次の通りをお願いします。

Fat basis の DDT, BHC, PCB は □.□□ ppm,

Pb は同じく □.□□ ppm.

Fat basis の Die, Hep, HCB は 0.□□□ ppm.

母乳は as is basis でずから 0.□□□ ppm.

の□の部分の3桁をマークして下さい。実際の数値とマークする数字との関係は次の例のようになります。

(A)	(B)
{fat basis の DDT, BHC, PCB } {Pb	{fat basis の Die, Hep, HCB } {as is basis の全Cl 剤
測定値→マーク数字	測定値→マーク数字
11.23 ppm → マークしない	1.02 ppm → マークしない
3.45 ppm → 345	0.15 ppm → 150
3.5 ppm → 350	0.031 ppm → 031
0.21 ppm → 021	0.03 ppm → 030
0.007 ppm → 001	0.0005 ppm → 001
0.003 ppm → 000	0.0004 ppm → 000

○ 検出限界が 0.001 ppm であった場合検出限界以下の測定値は最上欄に ND (0.0005) と書かれたものは (A) のケースでは 000 とマークされ (B) のケースでは 001 とマークされることになる。

○ A B 未測定の数値は、記入だけでマークはしない。

以上

昭和 52 年 9 月 14 日

国立衛生試験所 食品部長

内山 充

添付資料

- 1. 回答用紙
- 2. 検閲コード表
- 3. マークカード記入例
- 4. マークカード

枚 (同封、別送)

WHO 調査の収集点分類	
○収 獲 地	○卸
○と 畜 場	○小 売 店 頭
○製 造 工 場	○そ の 他
○輸 入 港	
○貯 庫	

③ 母乳は区別なしとします。所により収集法が違ふと思われまますので、この点は回答用紙(同封)でお知らせ下さい。同一品目が2つ以上の異なる収集点から集められている時は、分けられればそれらを分けて別群のカードにして下さい。

3. 使用するカード

(1) 今回は取り敢えず同封のようなマークカードを使用します。次回からはコンピュータ用データシートを用いる予定にしております。

(2) このカードはこのままクロス集計機にかけますので折ったりホチキスでとめたりしないで下さい。

4. マークカード記入要領

(1) マークカードの記入例のコピーを添付しました。例にならって御記入頂きたいと思いますがその前に以下の記入要領をお読み下さい。特に(5)、(6)、(8)、(9)に御留意下さい。

【最上欄の文字、数字の記入について】

- (2) 貴機関のコード番号は別紙コード表を御参照下さい。
- (3) 年次の欄は71, 72, ……75を記入して下さい。
- (4) 汚染物は略号 DDT, BHC, Die, Hep, HCB, PCB 又は Pb と、食品は略号 WM (全乳), DM (粉乳), B (バター), HM (母乳) とお書き下さい。Pb については F (果物), J (ジュース), V (野菜), M (粉乳) といひして下さい。(Pb については記入だけでマークは不要です)
- (5) データは1枚のカードにつき5件以内とし1), 2), ……5) のところにお書き下さい。
- 塩素剤のデータは母乳のみ as is basis (whole basis), 他は全部 fat basis とします。
- 検出限界以下のデータは ND (0. x x x) カッコ内には検出限界の1/2を置いて下さい。WHO では ND を計算に用いる場合は検出限界の1/2とする申し合わせになっています。
- (6) 数値は ppm 単位で記入して下さい。記入された数値をどうやってマークするかは集計機能から1つの約束に従って頂きたいのですがそれは(9)をごらん下さい。

【マーク欄の記入について】

(7) マークには同封のサインペンを必ず御使用下さい。吸光率など特殊のインクになっておりま

表 2. FAO/WHO への送付データ (Stage 1, 1977 年)†

1) 母乳 (as is basis, mg/kg)

汚 染 物	試料採取年度	分析件数	—10%—	—50%—	—90%—
DDT Complex	1971	603	0.012	0.045	0.113
	1972	579	0.022	0.067	0.186
	1973	361	0.023	0.071	0.182
	1974	287	0.022	0.062	0.161
	1975	333	0.015	0.054	0.132
	1976	350	0.010	0.046	0.115
Total HCH Isomer	1971	664	0.025	0.072	0.253
	1972	595	0.020	0.071	0.312
	1973	377	0.018	0.074	0.226
	1974	288	0.018	0.064	0.211
	1975	342	0.013	0.054	0.197
	1976	377	0.010	0.045	0.149
Dieldrin	1971	608	0.000	0.002	0.009
	1972	581	0.001	0.003	0.009
	1973	376	0.001	0.003	0.006
	1974	242	0.001	0.002	0.007
	1975	348	0.000	0.002	0.005
	1976	157	0.001	0.002	0.006
HEP+Epoxide	1971	108	0.000	0.001	0.002
	1972	283	0.000	0.001	0.004
	1973	112	0.000	0.001	0.003
	1974	131	0.000	0.001	0.003
	1975	49	0.000	0.001	0.002
	1976	31	0.000	0.000	0.003
PCB	1971	83	0.010	0.030	0.078
	1972	1149	0.010	0.027	0.064
	1973	1021	0.009	0.027	0.064
	1974	870	0.009	0.026	0.060
	1975	635	0.009	0.024	0.058
	1976	477	0.007	0.020	0.050

状態を正確に表現することが必要なものであって、人口の多い地方からは多くのデータがインプットされることが望ましいこととなる。この点は stage 1 に限らず今後共検討すべき問題の 1 つであろう。

ともあれ巨視的にはわが国の代表値として使用に耐えるデータの収集がされたということになる。このマークカードを、クロス集計機にかけ、あとは卓上電子計算器で克明に計算をして WHO への送付データを作り終えるのには、池 度子氏の努力に負うところが大きであった。そして 11 月 10 日に WHO に結果を送付することができたのである。

送付データの内容は表 2 に示す通りであるが、系統的に集められしかも年次推移のはっきりと示された数値として FAO/WHO の専門家会議でもかなり高く評価された。

Stage 1 への対応を大急ぎで進めながら、同時に次に述べる国内集計の作業を続けていたので、stage 2 への対応はすべて国内のデータベースの出来上り具合に依存することとなった。そしてその経過の詳細は次にゆずるとして、stage 2 のデータは厚生省統計情報部の佐藤郁雄係長と現在の著者の室の職員の協力によって完成し 1978 年の 12 月も終りに近い頃 WHO に

2) 牛乳 (fat basis, mg/kg)

汚 染 物	試料採取年度	分析件数	—10%—	—50%—	—90%—
DDT Complex	1971	977	0.00	0.16	0.61
	1972	1065	0.02	0.09	0.26
	1973	770	0.02	0.06	0.16
	1974	704	0.01	0.06	0.16
	1975	607	0.00	0.03	0.10
	1976	272	0.013	0.041	0.086
Total HCH Isomer	1971	1468	0.30	1.49	4.97
	1972	1322	0.11	0.48	1.68
	1973	890	0.05	0.23	0.64
	1974	776	0.06	0.20	0.45
	1975	664	0.05	0.15	0.37
	1976	353	0.031	0.10	0.25
Dieldrin	1971	1086	0.001	0.032	0.128
	1972	1199	0.001	0.030	0.080
	1973	808	0.000	0.016	0.070
	1974	716	0.000	0.017	0.065
	1975	619	0.000	0.016	0.050
	1976	88	0.006	0.027	0.081
HEP+Epoxide	1971	68	0.000	0.003	0.061
	1972	195	0.000	0.002	0.028
	1973	183	0.000	0.000	0.021
	1974	167	0.000	0.000	0.008
	1975	110	0.000	0.000	0.013
	1976	12	0.001	0.010	0.019
PCB	1971	—	—	—	—
	1972	429	0.01	0.09	0.29
	1973	384	0.01	0.06	0.12
	1974	394	0.00	0.05	0.11
	1975	329	0.00	0.05	0.15
	1976	195	0.006	0.033	0.13

† 1976 年度分のデータは Stage 2 (1978 年) に送付したものである。

送ることができた。内容は表 1 の項目に沿って作られたものであって、表 3 に示す通りである。

2. 国内の食品汚染物モニタリング計画

さて、WHO へのデータ送付は一つのきっかけとしては意味はあるが、わが国にとっては国内のすべての食品汚染物分析値をコンピュータに入れて保存し利用する計画もきわめて大きい意義を有している。

本計画は既存の、あるいは今後毎年、全国の衛生研究所（国公立の食品衛生関連の機関で現在国立 3、都道府県 47、指定都市 9、政令市 11 の計 70 ケ所）において得られる食品汚染物の分析データを、集計、保

存、処理し、汚染の実態、推移、相関関係を明らかにすると共に、それを基として今後の試験研究の方向や食品汚染対策を考察しようとするものである。

従ってこの計画には、先ず第一に全国の衛生研究所すべての全面的協力を得ることが必要であって、一部の欠落があっても成果の意義が小さくなるものといえる。

今回の計画を実行するに当っては、地方衛生研究所全国協議会、およびそれに付随する全国衛生化学技術協議会の組織を通じて、主旨の徹底および調査方法の説明などを行い、さらに 1978 年 2 月以降全国のプロ

表 3. FAO/WHO への送付データ (Stage 2, 1978)

1) 海産魚類 (as is basis, mg/kg)

汚 染 物	試料採取年度	分析件数	—10%—	—50%—	—90%—
DDT Complex	1971	29	0.0066	0.10	0.33
	1972	64	0.0017	0.018	0.086
	1973	40	0.0040	0.025	0.082
	1974	50	0.0015	0.0093	0.049
	1975	102	0.0005	0.014	0.089
	1976	260	0.0020	0.021	0.084
	1977*	52	0.0015	0.0085	0.053
Total HCH Isomer	1971	26	0.0009	0.0042	0.034
	1972	51	0.0017	0.012	0.041
	1973	40	0.0006	0.0032	0.026
	1974	50	0.0005	0.0030	0.017
	1975	102	0.0005	0.0024	0.027
	1976	103	0.0005	0.0050	0.032
Dieldrin	1972	35	0.0000	0.0003	0.0019
	1973	18	0.0000	0.0001	0.0013
	1974	13	0.0001	0.0007	0.0016
	1975	35	0.0002	0.0025	0.039
	1976	35	0.0005	0.0039	0.019
HEP+Epoxide	1972	42	0.0000	0.0000	0.0005
	1973	18	0.0000	0.0000	0.0000
	1974	13	0.0000	0.0000	0.0000
	1975	28	0.0000	0.0001	0.022
	1976	6	0.0000	0.0000	0.0000
PCB	1971	25	0.010	0.13	0.82
	1972	840	0.011	0.17	1.0
	1973	2739	0.0050	0.070	0.60
	1974	2057	0.0050	0.060	0.59
	1975	1701	0.0050	0.050	0.40
	1976	1460	0.0050	0.040	0.38
	1977*	537	0.0050	0.030	0.20

* incomplete.

ック会議で計画の説明を行った。

データの集計と処理は、入力と出力の両作業に大別される。それぞれについて経験者および特殊技術者の協力を得、さらに現場において分析とデータの記録に明るい協力者を含めたワーキンググループを作り試験計画を樹てた。さらに、データの保存と処理には、厚生大臣官房統計情報部の大型コンピュータを用いること、および同部情報企画課の好意ある協力により共同で本計画を進められるようになったのは大変幸いであった。

1) データの記入とコード化

データを記入するための集計カードのデザインは、その後の作業および出力の能率に大きく影響する。

しかし計画自体がわが国で初めての試みであるので、それぞれの段階に拠りどころとなるべき前例に乏しいことと、データ提供母体が地方衛生研究所およびその関連機関であって、各地独自の計画と方法で既にデータ作りとその記録が行われていることから、コンピュータに入力する記録の項目、分類、数値の記入法同一試料多項目分析データの整理等について、現場で

2) 農産物 (as is basis, mg/kg)

汚 染 物	試料採取年度	分析件数	-10%-	-50%-	-90%-
ばれいしょ					
Pb	1971	38	0.0050	0.17	0.35
	1972	32	0.0050	0.16	0.24
	1973	37	0.010	0.050	0.18
	1974	17	0.010	0.080	0.30
	1975	30	0.020	0.060	0.25
	1976	35	0.0050	0.025	0.35
Cd	1975	25	0.010	0.020	0.037
	1976	19	0.010	0.020	0.030

穀 類

Pb	1972	79	0.20	0.40	0.80
	1973	207	0.0050	0.20	0.50
	1974	139	0.0050	0.15	0.30
	1975	88	0.0050	0.028	0.40
	1976	58	0.0050	0.010	0.049
	1977*	37	0.010	0.025	0.19
Cd	1971	137	0.010	0.050	0.14
	1972	223	0.020	0.080	0.26
	1973	539	0.030	0.11	0.53
	1974	373	0.020	0.080	0.25
	1975	286	0.010	0.070	0.27
	1976	187	0.020	0.070	0.18
	1977*	228	0.020	0.080	0.71

主要な野菜

Pb	1971	123	0.010	0.15	0.60
	1972	188	0.0050	0.12	0.50
	1973	176	0.010	0.050	0.43
	1974	296	0.010	0.068	0.50
	1975	288	0.0050	0.040	0.26
	1976	295	0.0050	0.020	0.19
	1977*	260	0.0050	0.030	0.27

* incomplete

最も対応し易いデザインを作り上げることに努めなければならぬ。

この目的には、全国各地の衛生研究所から、入力項目を選択するために予かじめ考えられる出力統計パラメータの例についてアンケートで回答を得たり、集計用のカードのデザインについて極めて実質的かつ有用な意見を得ることができた。

数回におよぶワーキンググループでの協議の結果、集計用のカードは、最初著者が作った原案のデザイン

とは似ても似つかぬものになる程修正に修正を加えられ、現場で最も記入し易い形としてできあがったものが図3に示すものである。

このカードは全国の機関に予かじめ送付し、既存データの記入を依頼した。記入要領は p.13 に示すとおりである。

昭和 52~53 年においては記入ずみのカードはすべて著者の手もとへ返送され、そこでかなりの人手を費して記入事項のコード化を行っていたが、今後は各機

食品汚染物モニタリング集計カード

機関名	コード	分析年	試料番号
(1) 試料食品名 大分類 小分類			
(2) 試料採取年 19 年, 採取月 月 又は季節 1. 春 2. 夏 3. 秋 4. 冬			
(3) 試料採取点 1. 生産地(収穫地) 2. 工場 3. 倉庫 4. 市場 5. 小売市場 6. 家庭 7. 輸入港 8. 不明 9. その他()			
(4) 上についてその地名が明らか時は地名, 輸入品は輸出国名, 魚介類の収穫地については採取海域			
(5) 採取頻度 1. 不定期 2. 定期的: 毎 月 回			
(6) 試料の生育度		(7) 分析部位	
(8) 試料の栽培条件, 生育条件			
(9) 分析結果 分析した汚染物の種類 ☐ 種類 分析結果の表示 ☐ 表示 1. しない 2. した ☐ 検出 ☐ 不検出			

汚染物名	汚染物コード	分析法	検出限界	分析値	Flasid	脂肪又は水分含量
1)	41 44	45 49	50 54	55 61	62 65	63 65
2)	66 69	70 74	75 79	80 86	87 90	88 90
3)	91 94	95 99	100 104	105 111	112 115	113 115
4)	116 119	120 124	125 129	130 136	137 140	138 140
5)	141 144	145 149	150 154	155 161	162 165	163 165
6)	166 169	170 174	175 179	180 186	187 190	188 190
7)	191 194	195 199	200 204	205 211	212 215	213 215
8)	216 219	220 224	225 229	230 236	237 240	238 240
9)	241 244	245 249	250 254	255 261	262 265	263 265
10)	266 269	270 274	275 279	280 286	287 290	288 290

国立衛生試験所食品部・汚染物質研究室

図 3. 現在使用中の集計カード (原寸は A 4 版)

関でデータを記入する際に同時に行ってもらいたことが望ましいので、コード化に必要なコード表とコード化の要領を作成して全国に配布した。その一部を p.14~16 に示す。

昭和 53 年度末までに 1971—1977 年分のデータはほぼ入力を終了したが、その時点までに送付されたデータ数は、総件数 362,413 (カード枚数にして約 72,000 枚) で、食品試料 1 について分析された汚染物は平均 5 種 (1~25 種) であった。その年次別内訳は

1971	42,226 件
1972	47,662
1973	54,159
1974	53,905
1975	49,105
1976	57,080
1977	55,220

この他 1970, 1978 が両者で 3,056 件となる。この内訳から見て、今後毎年約 55,000 ないし 60,000 件のデータが報告されることになると推測される。

2) 入力に関するシステム

コード化されたデータは、外注によってパンチされ磁気テープ上に記録された。磁気テープ上のデータをチェックするプログラムは統計情報部佐藤雄氏によって作られた。これは理論的にありうべからざるコードを拾い出すことによりパンチエラーあるいはコードエラーを探し出すもので、実際には 100,000 件当たり約 500 項目のミスが発見され、原カードに照合した上で端末機を用いてデータの修正を行った。

同時に fat basis で報告されたデータを as is basis のデータに換算して記録したり、 α , β , γ , δ -HCH のデータのあるものからは total-HCH のデータを作成したり修正したりするプログラムも同氏によって作られ作動した。

現在、全データのエラーチェックは随時行いつつある。たとえば、母乳の採取点が小売市場であったり、1971 年収集試料を 1976 年に分析したりした記録などについては、それぞれ原カードにつき検討を加え必要に応じて各機関に問合わせて修正している。

上記磁気テープ上の 36 万件のデータは現在統計情報部に保存されている。

食品汚染物モニタリング集計カード記入要領

このカードは原則として1試料に1枚が使い下さい。

記入およびコード化に際しては本要領をあらかじめお読み下さい。
不明であるところは空欄とし明らかである事項だけ記入して下さい。

上段左側に試料についての記録事項を記入の後、右側の二重ワク内にそれをコードとして記入して下さい。コード化の変換はp.3以下にあります。

下段の二重ワク内には汚染物コードや分析値等を記入して下さい。

分析した汚染物が10項以上の場合は別のカードに続けて記入して下さい。

本書のコード表に該当の無いものはコード欄を空白のままにして下さい
(詳細なコード表によって班長の手習で記入致します)。

【カード認識部分 (Heading) について】

- a. 機関名 (異称も可) につづく機関コードは「コード表-1」を参照して下さい。
- b. 分析年は西暦で1978などと記入して下さい。これは年度 (会計年度) を表わします。
- c. 試料番号は、検出値に1年間の試料につける番号で、通し番号でも、あるいは別の規則に従った番号でも不連続番号でも結構です。但し4桁までとします。同じ年度に重複した番号が無いよう御注意下さい。

【項目毎の記入について】

- (1) 試料食品名の大分類・小分類は「コード表-3」を御参照下さい。大分類は番号と共に御記入下さい。なおこの表中に該当のない食品については、大分類は既存の89種のうち該当ものをえらんで下さい。小分類は試料食品名を書いて下さい。
- (2) 試料採取年は西暦です。1月～12月の区切りとします。従ってこの年号と最上欄 (Heading) の年号とは異なることもあります。採取月、又は季節は、はっきり判っている場合記入して下さい。
- (3) 採取点「9.その他」はカッコ内に具体的に書いて下さい。
- (4) 地名は県名だけでも結構ですが、市場や収穫地などが詳しく判っている場合は、市区町村名まで書いて下さい。輸出国は生産国を意味します。海域は判る範囲で詳しく書いて下さい。
たとえばオホーック海産のすけそつたらを大阪の市場で購入 (収去) した場合、

① 生産地……オホーック海	}	のいずれかに記入して下さい。
⑤ 小売市場……大阪市		
- (5) 小売市場……オホーック海という組み合わせにせよ御注意下さい。
- (6) 試料の生育年度とは、収穫地採取などで詳しい調査のできた場合で、動物性食品については原産物の頻度が定期的の場合は具体的に書いて下さい。

- の年令、牛乳の場合は乳牛の年令、魚介類は大きさ、などを記入します (「コード表-5」参照)。
- (7) 分析部位とは特記しうる記録があれば書いて下さい。たとえば、全体、可食部、水洗、へたを除く、皮を除く、脂を除く、葉部、葉部を除く、などの表現です (「コード表-6」参照)。
 - (8) 調理したものは調理法を簡単に書いて下さい。牛乳については搾乳の段階 (朝とか夕方とか) も。栽培条件、生育条件とはたとえば、露地、ハウス、温室、有袋、無袋、プロイラー、既先飼、葉摘などの条件を意味します (「コード表-7」参照)。
 - (9) 分析結果には、この試料について行われたすべての試験の分析値を記入して下さい。
分析汚染物の種類が10以上の場合は別のカードの分析結果の欄につづけて記入して下さい。2枚目以降のカードには①～⑧の記入は不要です。

コード化要領

例示の・は空らんを表わす

Heading 部分

例 北海道 1978年 試験№156 = 01・780156

(1) 試料食品

食品名は 11 11 の4桁に記入する → 「コード表-3」

10 は予備で、通常は空白とする。ただしSuspect sample (人為汚染等のある場所からの

試料)は 9;

果物、漬物、肉、乳などで記入は 1, ペン入は 2, 冷凍は 4 をつける。

例 は ま ち

オレンジジュース缶入

15 15 15 15

(2) 試料採取年

採取年(歴年)の西暦下2桁を 15 16, 採取月を 17 18, 季節を 19 に記入する。

例 1976年3月採取 7 6 0 3

1978年春 採取 7 8 ・ 1

(3) 試料採取点

採取点についての1から9までの分類をそのままコードとする。

例 5小丸市場 20 5

(4) 地名・国名・海域

県内都府県の市区町村は別表に記し5桁を記入する → 「コード表-4(1)」

例 埼玉県熊谷市

東京都内

宮崎県内

外国名は別表に記し4桁を記入する → 「コード表-4(2)」

例 マレーシア

水域・海域(魚など水産食品のみ)

○淡水域 一般: 21 22 に県コード, 23 24 に8を記入

特定: 25 26 に8, 27 28 に特定コード → 「コード表-4(3)」

例 長野県荒川

びわ湖産

○海水域(採取方法にいくつもの方法があるが適宜選択する)

a) ○○県沖: 21 22 に県コード 23 に0 → 県コード「コード表-1」

b) 日本近海特定水域 別表に従い4桁を記入する → 「コード表4(4)」

c) 外国水域 別表に従い4桁を記入する → 「コード表4(5)」

例 鳥取県沖

淡路灘

ベリング海

(5) 採取頻度

26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

(6) 試料の生育度

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

牛乳、乳製品食品の原料物、人体試料などの年令は 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

(7) 分析部位

食品(大分類)によりそれぞれ定められたコードを記入 → 「コード表-6」

例 魚, 可食部

1	0

 → 「コード表-6」

母乳に因しては初産産の別, 前産産よりの産前など

(8) 試料の取扱条件・生育条件

別表に従って記入する。人体試料は職業を記入 → 「コード表-7」

(9) 分析結果

a) 汚染物の種類
例 3種類のデータがあるとき

*	3

b) かび毒検出の時
かびの検出 しない

1	1	1	1

 した結果検出

2

, した結果不検出

3

 を

38

 へ
検出したかびのコードを

38	40

 → 「コード表-8」(未収載)

c) 汚染物コード
二重ワク外左側に必ず汚染物を出し, ついで4桁のコードを別表に従って記入する。
→ 「コード表-9」

例 Cd

1	1	0	9

PCB

3	6	0	1

d) 分析法コード
→ 「コード表-10」
(汚染物検出代替的分析法を上3桁のコードとして記入してあります。コード表が完備してありませんが一応例を挙げます)

e) 検出限界・分析値
かならずmg/kg単位の数値を記入
NDの分析値は検出限界の1/2(奇数の場合は±1いずれでもよい)を書く。

NDを含んだ値の総和の表現法(たとえば総DDT, 総HCHHにおいて)は次の通りとする。

1. 検出限界

個々の検出限界のうち最も大きいものの値とする。個々の検出限界の和ではない。

例 個々の検出限界 総和の検出限界

0.001	0.001
0.0005	0.002
0.002	0.001

 → 0.002

2. 分析値

a. すべてのNDのとき: 最も大きいものの値とする。ND値の和ではない。

例 個々の検出限界 個々の分析値 総和の分析値

0.001	0.001	0.0005
0.002	0.001	0.001
0.01	0.005	0.005
0.01	0.005	0.005

 → 0.005

b. NDでない値がある時: NDでないものの総和の値とする。ND値は入れない。

例 個々の検出限界 個々の分析値 総和の分析値

0.001	0.0005 (ND)	0.0005 (ND)
0.002	0.001 (ND)	0.001 (ND)
0.01	0.02	0.02
0.001	0.002	0.002

 → 0.022

0.001	0.0005 (ND)	0.0005 (ND)
0.001	0.0005 (ND)	0.0005 (ND)
0.001	0.001	0.001
0.001	0.0005 (ND)	0.0005 (ND)

 → 0.001

f) Basis

Basis	含量記録なし	脂肪含量あり	水分含量あり
as is	1	2	3
fat	4	5	-
dry	6	-	7

資料1-4

大 分 類	小分類・コード	大 分 類	小分類・コード
01-強化米		05-大豆類	
02-米	米 玄米 7分つき 精白米 精つき 輸入精白 もち米 もみ米 その他	大豆類 その他大豆製品 おから 乾燥大豆 きなこ 押しどろふ 親類大豆 豆乳 なっとう 生大豆 あまなっとう ぶどう豆 ゆば その他	00 01 01 10 20 11 12 20 21 30 31 40 41 50 99
03-米加工品	アルファ米 おもち かきもち かきゆ きりたんぽ ころり しらもち しらもち じょうしん 遊樂飯 遊樂飯 めし・精白 めし・7分つき その他	加工品 33-その他豆類 その他豆加工品 あずき乾燥 ゆであずき あん こしあん ざらしあん いんげん豆 うりずん豆 うりずん豆 えんどう豆 えんどう豆 えんどう豆 あまふく豆 小倉あん おさげ そら豆 フライベーンズ ふき豆 りょうとう その他	00 01 02 04 04 03 10 22 15 20 20 21 30 35 40 45 50 55 60 99
04-大豆	大豆 えん豆 オースミール 大豆・玄米 押し・玄米 押し・玄米 切断 はなまき その他	34-大豆類 いよかん きんかん くねんぼ その他	00 05 10 99

汚染物質コード

1101	Ag	1223	anthio
1102	Al		formothion
1103	As	1224	IBP
1104	As ₂ O ₃		kitazin P
1106	Au		aphidan
1107	Ba		IFSP
1108	Bi		FSP 204
1109	Cd	1561	hosdon
1110	Ca		isothioate
1111	Ce		isoxathion
1112	Co		karphe
1113	Cr total	1570	cythion
1114	Cr ³	157	malathion
1115	Cr ⁶	157	malathion
			leptophos
			NBCP
1119	Fe	157	phosvel
		157	mecarbam
		157	postan
		2341	monazon
		2342	saphizon
			DMPP
			methidathion
			supracide
		2343	BRP
			dibrom
			naled
		2344	phenkaptan
		2345	eisan,PAP
			phenchoate
			paphthion
		2346	phosalone
			rubitox
			zolone
		2347	imidan
			phosmet
			PMP
		2348	propaphos
			kayaphos
		2349	ofunack
			pyridaphenthion
		2350	salichion
		2351	morphothion,ekatin M
			thiometon
		2352	tributyl phosphorotri
		2353	DEP
			dipterox
			trichlorfon

3) 出力に関するシステム

出力プログラムのうち、FAO/WHO に送付するデータのプログラムは、前に述べたように佐藤氏により作成された。すなわち統計パラメータとして、標本数最低値、10 パーセンタイル値、メディアン値、90 パーセンタイル値、最高値、平均値、標準偏差が得られる。汚染物と食品種はそれぞれ WHO から要求されている項目の組み合わせができるように作成されている。その他随時専用のプログラムを応用して出力を行うことができる。

将来のために、統計、ヒストグラム、相関その他の出力が可能となるようなプログラムは別途、委託して作成した。その内容について詳細な省略するが概略を図4に示す。

4) 出力の一例

分析値の統計パラメータの例は WHO への stage 2 報告データがその例となる。そのほかとして件数の分布などを例として示す。

前に記したように 1971—1977 年分のデータとして約 36 万件が入力されているが、これには 1971—1975 年の牛乳、母乳データの一部が含まれていない。これは昭和 52 年度に WHO へ至急データを送る必要に迫られ、今回の本格的データ集計に先立って、クロス集計カードによる集計をしたため、その分を新カードに転記していない機関がいくつかあるからである。

これについては現在収集中である。36万件の機関分布を見ると、すべての機関から報告が届いている。

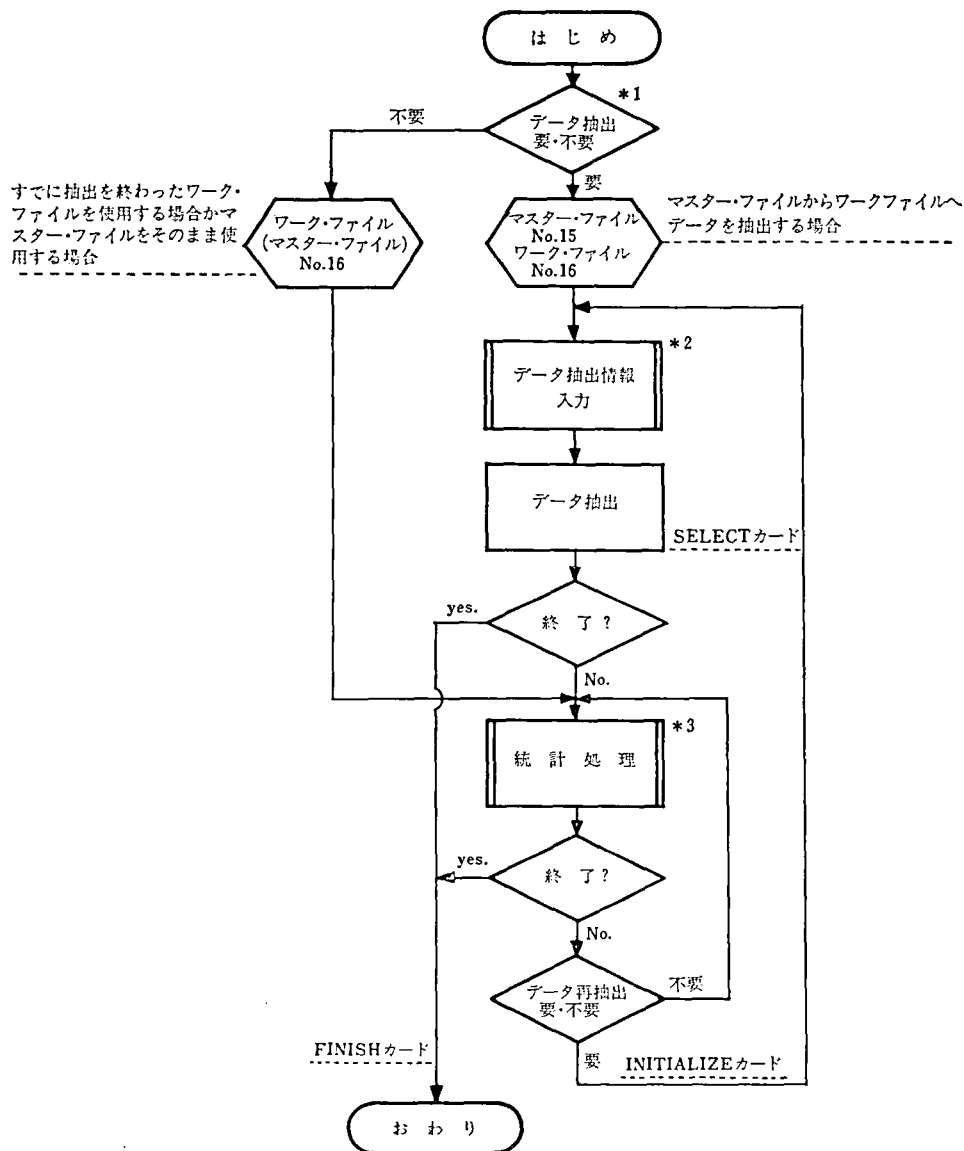
分析に用いられた食品試料の中で件数の多いものは次の通りである。但しこれは1つの試料につき農薬などで 10~20 項目も分析したものはその件数として数えられるので留意されたい。また、魚は魚種に細分されてコード化されているので個々の件数は少なくなる。

コード	食 品 名	件数
8205	市 乳	44,240
9101	母 乳	22,710
4800	きゅうり	12,903
8201	生 乳	11,470
0201	米	11,036
7601	豚 肉	8,559
7501	牛 肉	8,506
1400	じゃがいも	8,171
4700	キャベツ	7,784
4400	大 根	7,658

主要分析試料と主要汚染物の間のクロス集計で件数を示すと表4のようになる。

表 4. 主要分析試料および主要汚染物別分析件数集計表 (1979. 3. 30 現在)

	米	果実	野菜	牛・豚肉	鶏肉	魚	その他	計
PCB	221	196	510	1088	487	12126	9633	24261
Total-HCH	538	3247	6168	1254	544	742	8739	21232
Dieldrin	621	3251	5849	1261	545	645	8281	20453
Total-DDT	529	3103	5943	1096	507	954	7529	19661
Total-Hg	456	130	509	155	69	11389	4415	17123
Endrin	582	3270	5849	642	320	410	5580	16653
γ -HCH	245	1829	3727	1220	510	693	7987	16211
β -HCH	197	1653	3556	1218	511	693	8057	15885
α -HCH	198	1637	3544	1240	514	695	7933	15761
pp'-DDT	225	1699	3525	1094	486	588	7215	14832
δ -HCH	191	1538	3380	1190	504	582	7110	14495
pp'-DDE	181	1476	3325	1158	496	646	7166	14448
pp'-DDD	176	1342	3152	1136	493	643	6599	13541
Dieldrin+Aldrin	268	1762	3562	555	271	267	4556	11241
Pb	868	1617	2442	121	66	2588	3437	11139
その他	8214	17914	33443	3314	1719	15311	35562	115477
計	13710	45664	88484	17742	8042	48972	139799	362413



*1; 統計処理はワーク・ファイル (機番16) 上のデータについて行なわれる。

必要ならばマスター・ファイル (機番15) からワーク・ファイルにデータを抽出する。

*2; Chart 2 LABO,FISC,SAMP,YEAR,CONT,METH,POIN,PLAC,GROW,REGI,COND,VALU,
BASI,CASE カード

*3; Chart 3 STAT,HIST,CORR,SCAT,PAIR,CROS,LISTカードおよびその補助カード

図 4. 食品汚染物モニタリングデータ解析プログラムの全概要

お わ り に

以上著者がこの 2 ケ年の間に「食品汚染物質研究班」という環境衛生局の調査研究で作り上げ得たシステムについて概略を紹介した。この研究班は、ここに紹介したプログラムの他に、文中でも一寸触れたが total diet survey と food sample bank を行っている。特に total diet survey は今後何年かをかけてわが国での基礎を固めるべきもので、モニタリングプログラムと並んで食品汚染物の調査研究の両輪をなすものと言える。

FAO/WHO の動きという国際的なものをひき金に

したとはいっても、このような画期的なプログラムを極めて速やかな対応で委託研究として組むことを実行された環境衛生局の方針およびその後の援助に対しては最大限の賛辞と謝意を表したい。また文中でも述べたように本プログラムの運営が全国の同学の士の協力なしには行いえないことはこれまでもまた今後も全く同じである。このプログラムにかかわっていて実質的なデータベースの進展を見るのは楽しみであるが、それにも増して全国のすべての衛生研究所との触れ合いを肌で感じることができることがこの上ない喜びといえる。今後とも本プログラムの順調な発展を願うものである。

薄層デンストメトリーによるアヘントコン散中のエメチンの定量

高橋一徳・大野昌子

Densitometric Determination of Emetine in Opium Ipecac Powder on the Thin-layer Plate

Kazunori TAKAHASHI and Masako ÔNO

One of the components of ipecac, emetine, in Opium Ipecac Powder was determined successfully on TLC plates by densitometric procedure.

The procedure involves preliminary extraction with 1% HCl and separation of emetine-codeine-cephaeline fraction, followed by thin-layer densitometry based on the dual-wavelength zigzag scanning method.

Emetine separated on the plate becomes yellow in color against a white background by 1% iodine-chloroform spray then heat in an oven at 60°.

The reproducibility of integrated value and recovery of emetine hydrochloride by this method are shown in Table 1 and 3 respectively. The coefficient of variation obtained by the method is under 2.20%.

(Received May 31, 1979)

日局のアヘントコン散は、アヘン末とトコン末それぞれ同量ずつに賦形薬が加えられた生薬製剤であるが、含量規定はアヘンに基づくモルヒネだけで、トコン末については主成分のエメチンを呈色反応で確認しているだけである。

原料のトコン末は、エーテル可溶性アルカロイドを中和滴定法で定量し、エメチンとして計算され、含量規定は 2.0-2.5% となっている。

アヘントコン散に含まれるエメチンの量は、モルヒネに比べ約 1/4 にすぎないが、劇薬であり、薬効、安全性を考慮した品質管理の点でも、含量の測定は重要である。

この製剤に含まれる多くのアルカロイドからのエメチンの分離には、薄層クロマトグラフィー (TLC) が最も簡便、有利であるが、この薄層板上に分離された微量のエメチンを損失少なく定量する方法はまだ確立されていない。著者らは発色試液を噴霧したのち、試液の色を除き、スポットだけを呈色させ、可視部における吸収を二波長ジグザグスキャン方式の薄層デンストメーターを用いるデンストメトリーにより高精度でかつ迅速、容易に定量することができた。

実験方法

使用機器

二波長クロマトスキャナ CS-900 型、リニヤライザー、ベースライン補正装置付、島津製

試料

塩酸エメチン (Sigma 製, 105° で 5 時間乾燥)

トコン末 エーテル可溶性アルカロイド 2.02% (エメチンとして; 日局 9 定量法)

アヘン末 (日局), アヘン散 (日局)

塩酸エメチン標準原液および標準溶液の調製

標準原液: 塩酸エメチン約 75 mg を精密に量り、メタノールに溶かして正確に 50 ml とする。

標準溶液: 標準原液 3 ml をとり、メタノールを加えて正確に 10 ml とする (1 ml 中塩酸エメチン 450 µg 含有)。

試料溶液の調製

i) 1% 塩酸抽出法

トコン末約 0.1 g に相当する量を精密に量り、乳ばちにとり、1% 塩酸 10 ml を加えてかき混ぜ、分液漏斗中をろ過する。乳ばち、乳棒は 1% 塩酸 10 ml ずつで 2 回洗い、洗液はさきの分液漏斗中をろ過する。ろ紙上の残留物を水 10 ml で洗う。ろ液をクロロホルム 30 ml ずつで 3 回抽出する。全クロロホルム抽出液を合わせ、水 10 ml で洗い、洗液はさきの水液に含む。水液に水酸化ナトリウム試液 10 ml を加えてアルカリ性とし、クロロホルム 30 ml ずつで 3

回抽出する。全クロロホルム抽出液を合わせ、水 10 ml で洗ったのちろ過する。洗液をクロロホルム 5 ml で抽出し、さきのクロロホルム抽出液に合わせて水浴上で蒸発乾固し、得られた残留物に正確にメタノール 3 ml を加えて溶かし、定量用試料溶液とする。

ii) アンモニア・エーテル抽出法

トコン末約 0.1 g に相当する量を精密に量り、エーテル 40 ml を加えて激しく振り混ぜアンモニア試液 2 ml を加え、1 時間振り混ぜ一夜放置したのちろ過し、さらにエーテル 10 ml ずつで 2 回振り混ぜろ過する。ろ液を水浴上で蒸発乾固し、残留物に 1% 塩酸 20 ml を加えて加温して溶かし、分液漏斗中にろ過する。容器は 1% 塩酸 10 ml ずつで 2 回洗い、洗液はさきの分液漏斗中にろ過する。ろ紙上の残留物を水 10 ml で洗い、以下 i) と同様に操作し、定量用試料溶液とする。

薄層クロマトグラフィー

測定条件

薄層板 Silica gel 60 F₂₅₄ (けい光剤入り、厚さ 0.25 mm, Merck 製)

発色試液 1% ヨウ素・クロロホルム溶液

操作 標準溶液および試料溶液の 3 μ l ずつをマイクロシリンジを用いて、薄層板の下端から 3 cm の位置に 1.5 cm の間隔でそれぞれ交互に 5 か所ずつスポットする。風乾後、クロロホルム・アセトン・メタノール・強アンモニア水混液 (50 : 40 : 10 : 1) を展開溶媒として上昇法により 10 cm の距離まで展開したのち、薄層板を風乾し、さらに 60° で 10 分間加熱乾燥する。

発色 乾燥した薄層板に 1% ヨウ素・クロロホルム溶液を均等に噴霧する。風乾後、60° の乾燥器中で正確に 10 分間加熱して発色させる。

走査および積分値の測定 発色後直ちに二波長クロマトスキャナに薄層板を固定して薄層板を走査し、可視部吸収法により、記録図を描かせ、面積積分値を測定する。

測定はつぎの条件で行う。

測定方式：ジグザグスキャンニング

スリット：1.25 mm × 1.25 mm

走査速度：10 mm/min

記録紙速度：10 mm/min

測定波長： λ_R , 700 nm

λ_S , 440 nm

受光系：反射

アヘントコン散中のエメチンの量は次式により求めることができる。

アヘントコン散中のエメチンの含量 (%) =

$$a \times \frac{\text{標準溶液中の塩酸}}{\text{エメチン量 (mg)}} \times \frac{3}{10} \times \frac{480.66}{553.59} \times 100$$

試料採取量 (mg)

a : 試料溶液の面積積分値/標準溶液の面積積分値

実験結果

i) 展開溶媒の検討

薄層板は定量用として均等な厚さをもっていなければならないので、これに適した Silica gel 60 F₂₅₄ を用いた。二波長クロマトスキャナによる定量は各成分の完全な分離だけでなくスポットの形状も吸光値に影響を与える因子になるため、スポットにはテーリングがなく Rf 値に変動を与えることの少ない溶媒を選ぶことが必要条件である。検討の結果、クロロホルム・アセトン・メタノール・強アンモニア水混液 (50 : 40 : 10 : 1) を用いたとき、エメチンは測定に最も適した Rf 値 (約 0.50) およびスポットの形状を示し、再現性の点で良好であった (Fig. 1)。

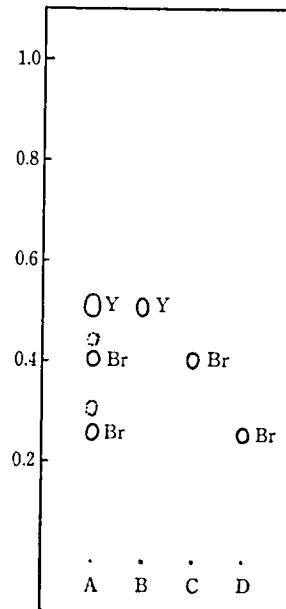


Fig. 1. Thin-layer chromatogram of the sample solution

plate : Silica gel 60 F₂₅₄

solvent : chloroform · acetone · methanol · 28%

ammonia water = 50 : 40 : 10 : 1

location reagent : 1% I₂ in chloroform

A : sample solution

B : emetine

C : cephaeline

D : codeine

Y : yellow

Br : brown

ii) 検量線の作成

検量線の作成には塩酸エメチン標準原液 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml ずつを正確にとり、それぞれメタノールで正確に 10 ml にうすめ、その 3 μ l ずつをとり、TLC を行ったのち、発色させたエメチンのスポットについて測定した。縦軸にはエメチンのスポットの面積積分値（高さ, mm）を、横軸にはスポットした量をとって、検量線を作成したところ、Fig. 2 に示すように原点を通る直線が得られた。

iii) 面積積分値の再現性

エメチンのスポットの面積積分値の再現性は一枚の薄層板に標準溶液の 3 μ l を薄層板の下端から 3 cm の位置に 1.5 cm の間隔で 9 か所スポットし TLC を行ったものについて検討した (Table 1)。また使用する既製の薄層板間に生ずる面積積分値の再現性を検討するために、3 枚の薄層板を用い、同様に 9 か所にスポットし、毎回新たに調製した展開溶媒で展開後発色させ、それぞれについて面積積分値を求めた。各薄層板ごとに得られたスポットの面積積分値はそれぞれ 75.2 mm, 73.6 mm, 75.0 mm, 変動係数は 1.23%, 2.20%, 2.19% で再現性は良好であった。しかし実際の定量的場合には、標準溶液を対照として同時にスポットして、同一条件で展開後、発色させ定量する必要がある。

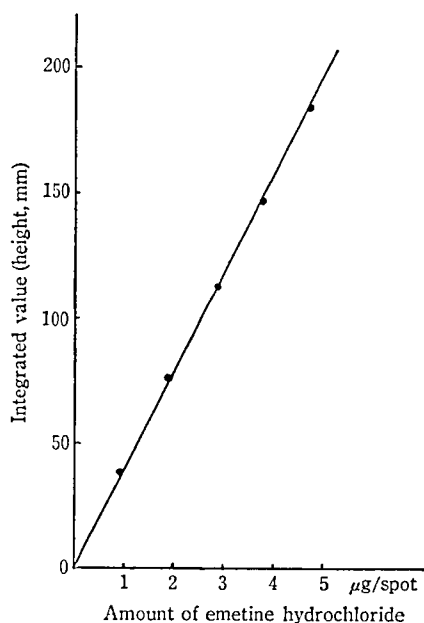


Fig. 2. Calibration curve of emetine hydrochloride

Table 1. Reproducibility of integrated value of emetine hydrochloride on the precoated plate

Amount	0.93 μ g	1.86 μ g
Integrated value	37.5 mm	75.5 mm
	37.5	74.0
	37.5	73.0
	38.0	75.0
	39.0	76.5
	39.0	77.0
	39.5	76.5
	39.0	78.0
	39.0	77.5
$\bar{x}$	38.4	75.9
s	0.831	1.654
CV	2.16%	2.18%

iv) 抽出方法の検討

著者らはあへん中のアルカロイドを定量するとき、1% 塩酸を用いて抽出分離を行い好結果を得ている¹⁾。一方日局 9 ではトコン末中のエメチンをエーテル可溶性アルカロイドとして定量するため、アンモニアアルカリ性でのエーテル抽出法を用いている。そこでアヘントコン散からのアルカロイド抽出法を検討するために、試料として、日局トコン末とそれぞれ調製したトコン 10 倍散およびアヘントコン散を用い、前記の 1% 塩酸抽出法およびアンモニア・エーテル抽出法に従って操作し、TLC デンシトメトリーによりエメチン含量を求めたところ Table 2 に示したようにトコン末、トコン 10 倍散ではいずれの抽出法によっても同じ結果が得られた。しかしアヘントコン散の場合にはアンモニア・エーテル抽出法によると低い値を示すので、別にアヘン散に一定量の塩酸エメチンを加えた試料を調製し回収率を検討したが、その平均は 70.1% ($n=3$) と低く、あへんのエーテル可溶性成分による妨害であることが明らかに認められた。

v) 回収率の検討

塩酸エメチンの一定量をとって、アヘントコン散の 1% 塩酸抽出法にしたがって得た抽出物について TLC デンシトメトリーを行い、得られた面積積分値から含量 (mg) を算出し、回収率を求めた (Table 3)。

vi) アヘントコン散への適用

精密に量った市販のアヘントコン散約 1g について、本法により定量して得た結果は Table 4 に示すとおりであった。

Table 2. Contents of emetine in the extracts of Powdered Ipecac, prepared 10% ipecac powder and prepared opium ipecac powder extracted with 1% HCl and with ammonia-ether determined by TLC-densitometry

extraction sample	1% HCl	ammonia-ether
A	1.45%	1.43%
	1.45	1.45
	1.46	1.42
B *	1.45	1.43
	1.45	1.45
	1.44	1.45
C *	1.45	1.07
	1.45	1.07
	1.46	1.13

* calculated as 0.1 g of powdered ipecac

sample A : Powdered Ipecac

B : prepared 10% ipecac powder

C : prepared opium ipecac powder

Table 3. Recovery of emetine hydrochloride by the TLC-densitometry

	Taken (mg)	Found (mg)	Recovery (%)
emetine hydrochloride	1.302	1.285	98.7
		1.275	97.9
		1.270	97.5

Table 4. Contents of emetine in Opium Ipecac Powder by the TLC-densitometry

sample	emetine
A	0.11%
B	0.11

考 察

アヘントコン散に含まれるエメチンは溶媒抽出法によってコデイン、セファエリン以外の多くの共存アルカロイドから分離することができたが、さらに単離するには TLC が最も有利で、これ以外の方法によるのは困難であった。

TLC で単離したエメチンを定量するために、二波長・ジグザグスキャンニング方式の薄層デンストメトリーについて検討したが、最も誤差少なく、精度よく測定できたのは可視部吸収法であった。

製剤からエメチンを抽出するために、日局 9 トコン末の定量法で用いているアンモニア・エーテル法を試みたが、回収率は低く約 70% で抽出方法としては不適当である。また 1% 塩酸抽出法では各溶媒抽出段階でエマルジョンを生じ遠心分離を行わなければならなかったが、定量結果からみて大きな誤差の要因にはなっていないと思われる。

エメチンは紫外部に吸収を有するが、アヘントコン散のような生薬製剤では紫外部吸収に影響をおよぼすおそれのある植物成分を考慮しなければならない。可視部吸収を測定するためにエメチンを特異的に発色させるにはヨウ素による発色法が最もすぐれており、噴霧した試液の色は加熱操作だけで除くことができ、エメチンだけを黄色に呈色させて精度よく定量できる。共存するコデイン、セファエリンはかっ色を示すが、エメチンから完全に分離され、影響を与えない。一般に発色操作で生ずる定量誤差の原因としては試液の濃度、噴霧の均一性があげられ、ここでは発色させさらに試液の色を除くための加熱槽の一定温度保持および加熱時間等の諸因子に対する考慮を必要としたが、われわれの設定した条件下で検量線作成時に得られる面積積分値から変動係数を求めたところ、最も大きいときでも 2.20% 以下で、製剤中のエメチンの定量法として十分適用できるといえる。

確立した TLC デンストメトリーによる市販トコン末（日局）中のエメチン含量は 1.45% で、日局規格の 2.0—2.5% からみると低いが、日局ではエーテル可溶性アルカロイド総量をエメチンとして表示しているので、当然セファエリンも含まれた値で、セファエリン等の副アルカロイド量が定められていない現在、その定量値との相互比較は不可能である。

市販のアヘントコン散中のエメチン含量は原料のトコン末中の含量に換算すると 1.1% とさらに低い値を示しているが、これもトコン末の場合と同じ原因であろうと思われる。

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試験, 95, 4 (1977)

フェノバルビタールの免疫学的確認法

木村俊夫・徳永裕司・太田美矢子・横田椅江
福田秀男・佐藤 浩・川村次良

Immunological Characterization of Phenobarbital

Toshio KIMURA, Hiroshi TOKUNAGA, Miyako OHTA, Isue YOKOTA,
Hideo FUKUDA, Hiroshi SATO and Jiro KAWAMURA

An immunological characterization method for phenobarbital is described. Antiphenobarbital antibody was obtained by immunization of rabbits with p-azophenobarbital-bovine serum albumin conjugate. Hemagglutination inhibition by barbiturates were tested using rabbit erythrocytes labeled with phenobarbital and antibodies mentioned above or from a commercial enzyme immunoassay kit. Haptens which inhibit the aggregation between antibody and the labeled erythrocytes form a ring in the bottom of small test tube.

This method is sensitive and specific to phenobarbital and cyclobarbitol. Some cross reactions were observed in amobarbital, methylphenobarbital, barbitol and pentobarbital. No inhibition occurred by 1000 $\mu\text{g/ml}$ of hexobarbital, thiopental sodium, and other related compounds such as glutethimide or caffeine.

(Received May 31, 1979)

薬物を免疫学的に測定する方法は、すでにラジオイムノアッセイ (RIA) を始めとし、エンザイムイムノアッセイ (EIA) などが確立され、血液中の微量の薬物の測定に繁用されている。しかしこのような免疫学的方法が薬物の定性反応に応用された例はほとんどなく、細菌学の方野や、妊娠診断における検出、確認のために専ら用いられてきた。著者らは抗原抗体反応を目視的に観察することにより、簡単に薬物の検出、確認ができるならば、選択性に優れた定性反応となり得ると考え、フェノバルビタールをそのモデルとして取り上げ、抗原抗体反応によって起こる赤血球凝集の阻止反応 (hemagglutination inhibition, HAI) の適用を試みた。フェノバルビタールの phenyl 基の para 位にたん白を結合させ、この結合体でウサギを免疫して得た抗体と、抗原で標識したウサギ赤血球を用い、種々のバルビツール酸誘導体につきこの反応を試み、各誘導体に対する抗体の親和性を検討した結果、確認反応として有用であることが判ったので報告する。

実験材料および方法

1. 試薬

フェノバルビタールは三共株式会社製品、シクロバルビタール、アモバルビタール、メチルフェノバルビタールは東京化成工業株式会社製品、バルビタールは

和光純薬株式会社製品 (特級) をそれぞれ購入した。ベントバルビタール、ヘキソバルビタール、チオペンタールナトリウムは藤永製薬株式会社の好意により分与されたものを用いた。

ウシ血清アルブミン (BSA) は Armour 社製品 (Fraction V) を用いた。

HAI による確認反応および RIA の操作に用いる緩衝液 (PBS) は 0.04 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に塩化ナトリウム 0.9%, BSA 0.5% を含むように調製したものを用いた。

p-アミノフェノールは Butler の方法¹⁾ に準じて合成した。

BSA-*p*-アゾフェノバルビタールは佐藤らの方法²⁾ に準じて合成した。

³H-フェノバルビタールは New England Nuclear 社製の 5.0 Ci/mmol のものを、使用時に PBS で希釈し、0.25 $\mu\text{Ci/ml}$ とした。デキストラン-炭末懸濁液は、デキストラン 70 0.25 g を PBS 50 ml に溶かしたもの、および Norit A 2.5 g を PBS 50 ml に懸濁した液を等量ずつ混合して製した。シンチレーターは New England Nuclear 社製 Aquasol II を用いた。

2. 抗フェノバルビタール抗体

BSA-*p*-アゾフェノバルビタール 10 mg を生理食塩液 2 ml に溶かし、同量の Freund's complete ad-

juvant (株式会社ヤマトロン製品)を加えて完全に乳化させ、これをウサギ足趾に数個所に分けて注射した。以後2週間に1回背部皮下へ注射し、2ヶ月以後に採血し、その血清を抗体として用いた。

また別に市販のフェノバルビタール EIA キット (EMIT Phenobarbital Assay, Syva 社製品, 第一化学薬品扱) 中に含まれる抗体をも使用した。

3. フェノバルビタール標識ウサギ赤血球浮遊液 (Ph-RBC)

Daniel らの方法³⁾に従い調製したホルマリン-タンニン酸処理ウサギ赤血球を6倍量の 0.01 M ホウ酸ナトリウムに懸濁し、これに *p*-アミノフェノバルビタール 0.06 mmole を 0.08 N 塩酸 3 ml に溶かした液に、亜硝酸ナトリウム 0.06 mmole を水 1 ml にとかした液を冷時混合して調製した *p*-ジアゾフェノバルビタール溶液を加え、ゆるやかにかくはんしながら 3° で 18 時間反応させる。このようにしてフェノバルビタールで標識したウサギ赤血球を遠沈して集め、PBS (ただし BSA を含まないもの) で4回洗い、最後に同緩衝液を適当量加えてその 0.1 ml 中に Ph-RBC が約 70 万個含むようにし、冷蔵庫に保存した。

4. 凝集反応 (HAI)

8×80 mm の試験管に、PBS で 10 倍に稀釈した Ph-RBC, フェノバルビタールあるいは被験物質を PBS に溶かした液および PBS で適当に稀釈した抗体をそれぞれ 0.1 ml ずつとり、よく混合し、観察用スタンドに室温で3時間放置する。この間、できるだけ振動を与えないように注意する。3時間後の試験管の管底における Ph-RBC の凝集状態を、前記のスタンドの下部に取り付けた鏡により観察する。抗体の稀釈度を決定する際は、フェノバルビタールあるいは被験物質の代わりに PBS 0.1 ml を加えて反応を行った。

5. ラジオイムノアッセイ (RIA)

抗体の各種バルビツール酸誘導体に対する親和性を定量的に調べるために行った。15 ml のプラスチック製造洗管に PBS 0.7 ml をとり、これに試料溶液 0.1

ml, ³H-フェノバルビタール 0.1 ml, 抗体 0.1 ml を順次加え、室温で 30 分間放置後、デキストラン-炭末懸濁液 0.5 ml を手早く加え、直ちに良く混合し、4° で 20 分間放置する。4° で 3000×g, 15 分間遠沈し、上清 0.5 ml を液体シンチレーション計測用バイアルびんにとり、シンチレーター 8 ml を加えて混和後、液体シンチレーションカウンターで放射能を 10 分間計測した。なお抗体は、加えた ³H-フェノバルビタールの約 50% が結合するような濃度に PBS で稀釈して用いた。

実験結果

1. 検出感度

ハプテン (この場合はフェノバルビタール) で標識した赤血球の浮遊液に、そのハプテンに対する特異抗体を加えれば、試験管管底に均一な凝集物として沈降する。この際この抗体と反応するような物質が存在すれば、赤血球-抗体の結合が競合的に阻害され、その結果、その物質の濃度によって種々の大きさの環として沈降する。

種々の量のフェノバルビタールを加えたときの HAI の状態を Fig. 1 に示す。1 μg/ml 以上の濃度では確実に阻害が起こり、0.1 μg/ml では判定がやや困難であった。しかし本反応においては試料全部を試験管に投入して試験することも可能であるから、全量がたとえ 1 μg しか得られなくとも検出は可能である。HAI 反応における抗体濃度は、Fig. 2 における 400× に示すように管底における凝集が均一になるような稀釈度のうち、最も低濃度の場合がフェノバルビタールに対して高い検出感度を与えた (Table 1)。

2. 反応の特異性

Table 2 に HAI および RIA によって調べた各抗体の各種バルビツール酸誘導体に対する特異性を示す。HAI 欄には、各誘導体を PBS にとかして HAI を起こす最小濃度を示し、RIA 欄には、³H-フェノバルビタールと抗体の結合への阻害曲線 (Fig. 3 および

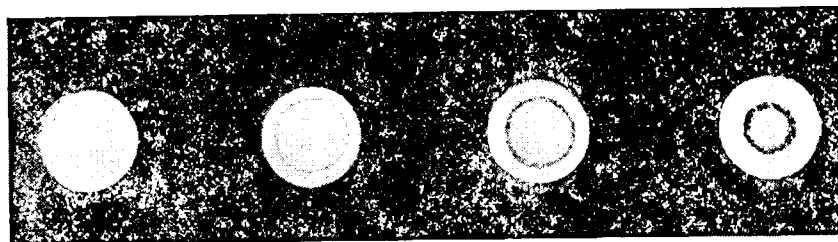


Fig. 1. Inhibition of hemagglutination by phenobarbital
left to right 0, 1, 10, 100 μg/ml

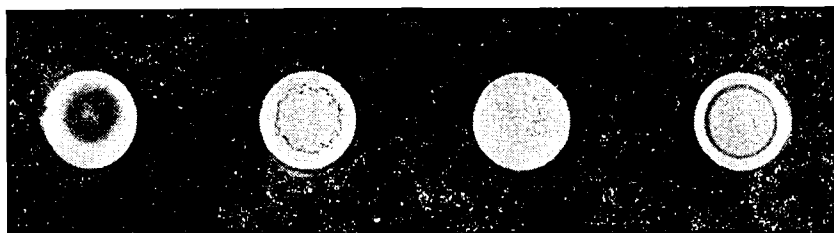


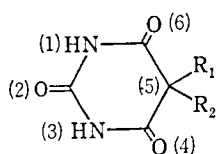
Fig. 2. Hemagglutination pattern in various dilutions of antibody
left to right 20x, 150x, 400x, 500x

Table 1. Changes in sensitivity at various dilutions of antibody

Dilutions	Concentration of phenobarbital ($\mu\text{g/ml}$)			
	0.1	1.0	10.0	100
200	—	$\pm$	++	++++
300	$\pm$	+	++	++++
400	+	++	+++	++++

Table 2. Specificities of antibodies

	Substance			Anti-azo-phenobarbital		Antibody in kit*1)	
	R ₁	R ₂	other	HAI*2)	RIA*3)	HAI*2)	RIA*3)
Phenobarbital	C ₂ H ₅		—	1—10*4)	1000*5)	1—10*4)	1000*5)
Cyclobarbital	C ₂ H ₅		—	1—10	1000	10	150
Amobarbital	C ₂ H ₅	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_3$	—	10	77	10	110
Methylphenobarbital	C ₂ H ₅		C H ₃ (1)	100	18	10	190
Barbital	C ₂ H ₅	$-\text{C}_2\text{H}_5$	—	100	18	1000	0.5
Pentobarbital	C ₂ H ₅	$-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	—	100	1	100	1.6
Hexobarbital	C H ₃		C H ₃ (1)	—	0	—	0.2
Thiopental	C ₂ H ₅	$-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	C (2)→S	—	$\pm$	—	0.1



*1 from commercial EIA kit

*2 hemagglutination inhibition method

*3 radioimmunoassay

*4 detection limit ($\mu\text{g/ml}$)

*5 relative affinity

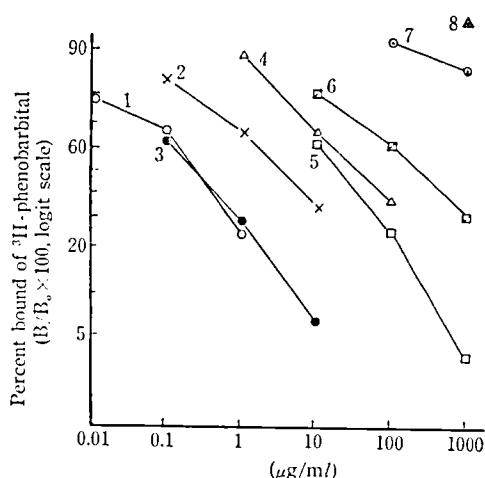


Fig. 3. Binding of ^3H -phenobarbital to anti-azophenobarbital antibody in the presence of various concentration of barbiturates

1: phenobarbital, 2: amobarbital, 3: cyclobarbital, 4: methyphenobarbital, 5: pentobarbital, 6: barbital, 7: thiopental sodium, 8: hexobarbital

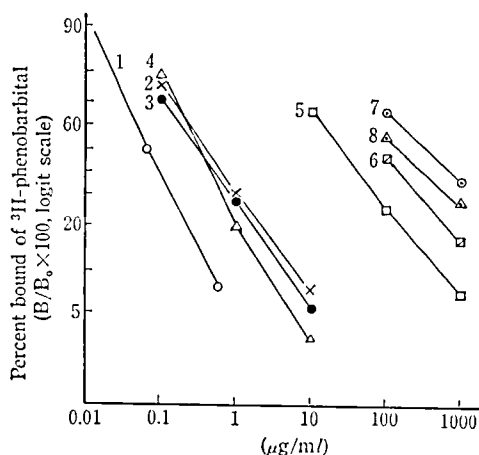


Fig. 4. Binding of ^3H -phenobarbital to antibody in kit in the presence of various concentration of barbiturates 1-8: see in Fig. 3.

Fig. 4) から求めた抗体への相対親和度 (relative affinity) を示す。相対親和度は、抗体と ^3H -フェノバルビタールの結合を 40% 阻害するような各誘導体の濃度の逆数を、フェノバルビタールの場合を 1000 とし算出した。

いずれの抗体を用いた場合でも、HAI は RIA の結果と良く対応した。抗フェノバルビタール抗体を用いた場合、フェノバルビタールおよびシクロバルビタールは $1 \mu\text{g/ml}$ 以上で可能であり、アモバルビタールおよびメチルフェノバルビタールでは $10 \mu\text{g/ml}$ 以上、バルビタールおよびペンタバルビタールでは $100 \mu\text{g/ml}$ 以上で検出される。ヘキソバルビタールおよびチオペンタールナトリウムでは全く阻害を示さなかった。またバルビツール酸誘導体と類似の構造を有するグルテチミド、カフェイン、サリドマイドなども凝集を阻害しなかった。

被験薬物を $1 \mu\text{g/ml}$ 程度に溶かした液 0.1 ml を用いて試験を行ったとき、もし凝集阻害を起こしたならば、フェノバルビタールまたはシクロバルビタールであると推定できる。試験に際し、常にいくつかの既知濃度のフェノバルビタール溶液を対照において併行実験を行えば、被験薬物の検出限界から各バルビツール酸誘導体の推定が一層確実なものとなろう。

試薬としての抗体および Ph-RBC は安定であり、冷蔵庫中に 6 ケ月間保存したのちに力価の低下や、赤血球の破壊などは見られなかった。

考 察

バルビツール酸系薬物のような向精神薬は、その保存、管理に十分な注意が払わねばならないのは勿論であるが、確認試験も一層の慎重さが必要である。バルビツール酸誘導体の一般的な確認反応としては、銅ビリジジン試薬による呈色反応があるが選択性に乏しい。HAI 反応によれば抗体の調製などの困難性は残るが、感度および選択性で優れているのは当然であろう。

今回ウサギに対して生成させた抗アゾフェノバルビタール抗体は、フェノバルビタールとシクロバルビタールに対しほぼ同程度の反応性を有するが、その他のバルビツール酸誘導体に対しては $1/10$ 以下の反応性であり、ヘキソバルビタールおよびチオペンタールナトリウムではほとんど反応性がない。この抗体がフェノバルビタールとシクロバルビタールを区別し得ないのは、両者の構造上ベンゼン環とシクロヘキセン環のみが異なるだけで非常に似ていることに加えて、抗原として用いた BSA-アゾフェノバルビタール分子中のキャリアたん白である BSA と環の間の距離が近いからと思われる。一般にキャリアたん白との結合部位から遠い程、よく抗原を識別するといわれているからである。このことはキャリアたん白との結合部位から遠いバルビツール酸環の 1 位にメチル基があるのみが異なっているメチルフェノバルビタールとの反

応性が著しく低下していることから説明できる。

市販キット中の抗体を用いた実験では、抗アゾフェノバルビタール抗体にくらべてメチルフェノバルビタールに対してかなりの反応性があることから、この抗体はバルビツール酸環の1位あるいは3位にキャリアたん白を結合させたものを抗原として作成したと考えられた。

両抗体は共にアモバルビタールに比較的高い親和性を有しているのは、フェノバルビタールの phenyl 基とアモバルビタールの 3-methylbutyl 基の大きさが類似していることによるのかも知れない。またシクロバルビタールの側鎖がエチル基の代わりにメチル基であるヘキシバルビタール（ただしバルビツール酸環1位にメチル基を有しているが）が全く反応しないことから、5位の側鎖の一方はエチル基であることが抗体との反応に必要であろう。

以上の事を総合して考察すると、この HAI 反応で被験薬物が明白な陽性を示したならば、その物質の構造は

(1)バルビツール酸環を有し、(2)同環の5位の一方がエチル基であり、(3)他方が phenyl 基あるいはそれと類似の大きさを持つ基であることが推定できる。

フェノバルビタールの RIA については、Sato ら²⁾および Flynn ら⁵⁾の報告がある。Sato らの抗体は、

シクロバルビタールに対する親和性が若干異なる以外は、今回われわれの得た抗体と同じ特異性を持っており、これは免疫源として用いたフェノバルビタールたん白結合体の構造がほぼ等しいことによる。一方 Flynn らの 5-allyl-5-(β -carboxyl- α -methyl-ethyl) barbituric acid とウシ γ グロブリンの結合体を抗原として得た抗体は、バルビツール酸の5位の一方が ethyl また allyl 基であれば、5位の他方の基が ethyl, 1-methylbutyl, phenyl のいずれの場合でもかなりの交差反応性を有し、特異性は若干劣るようである。

もし特異性の異なる2～3種の抗体が得られれば、HAI 法におけるそれらの結果を比較することにより各バルビツール酸誘導体相互の分別確認が一層正確にできると考えられる。

文 献

- 1) T.C. Butler : *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **116**, 326 (1956)
- 2) H. Satoh, Y. Kuroiwa : *J. Biochem.*, **76**, 1293 (1974)
- 3) T.M. Daniel *et al.* : *J. Immunol.*, **99**, 741 (1963)
- 4) B.F. Erlanger : *Pharmacol. Rev.*, **25**, 271 (1973)
- 5) E.J. Flynn, S. Spector : *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **181**, 547 (1972)

市販ブロメライン製剤の製剤学的検討—力価試験、崩壊試験、重量偏差試験および電気泳動法による純度試験

谷本 剛・福田秀男・横田椅江・川村次良

Pharmaceutical Studies on Commercially Available Bromelain Preparations: The Assay of Potency, Disintegration Test, Weight Variation Test and Purity Tested by Electrophoresis

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Isue YOKOTA
and Jiro KAWAMURA

The results of the assay for bromelain potency and the tests for disintegration, weight variation, and purity carried on commercially available bromelain preparations, (coated tablet : 8 samples) were described. Two of the eight samples contained less bromelain than 90% of their labeled amounts and the all samples complied with the criterion of the disintegration test in J.P. Although the weight variation test in J.P. is not applied to any coated tablet, their weight variations were examined for fact-finding and seven samples were found to be in a deviation range prescribed for "Tablets" by J.P. IX. The results obtained by means of SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and agar gel immunoelectrophoresis have shown that the all samples contain some protein impurities.

(Received May 31, 1979)

今日、多くの酵素製剤が市販され、臨床に供されているが、これら酵素製剤はその本質がたん白質であり、動物、植物あるいは微生物から抽出されたものであるため、医薬品としての規格に関しても、他の医薬品とは異なった種々の、特に定量法、純度、抗原性などにおいて問題点がある。今回、われわれは市販プロメライン製剤を入手し、その力価試験、製剤学的試験および電気泳動法によるたん白質化学的検討を行い、これら問題点の現状についてしらべた。

実験方法

I 試料・試薬

1. 試料

入手したプロメライン製剤は 8 種類であり、すべて腸溶性の錠剤であり、そのうち 7 種類が糖衣錠であった。

2. 酵素希釈液¹⁾

0.03 M システインおよび 6 mM EDTA を含む液を製する。なお、0.1 N 水酸化ナトリウム液または 0.1 N 塩酸を加えて pH 4.5 に調製する。

3. カゼイン基質液¹⁾

ハンマーステン法による精製カゼイン 0.6 g を 0.05 M リン酸-水素ナトリウム液 80 ml に溶かし、1 N 塩酸で pH 7.0 に調整し、水を加えて 100 ml とする。用時調製する。

4. 沈殿試薬¹⁾

0.11 M トリクロル酢酸、0.22 M 酢酸ナトリウムおよび 0.33 M 酢酸を含む液を製する。

5. チロジン標準品

日本薬局方標準品チロジンをを用いる。

6. 第 1 液、第 2 液

日本薬局方一般試験法³⁾、崩壊試験法の項にしたがって調製する。

7. 電気泳動用緩衝液

0.1% ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) および 0.1 mM テトラチオン酸ナトリウム (TTA) を含む 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) を電気泳動用緩衝液とする。

8. トリス緩衝液

トリス 23.4 g および 1 N 塩酸 50 ml に水を加えて 1 l とする。

II 方法

1. 崩壊試験

日本薬局方一般試験法³⁾ 崩壊試験法 (6) 腸溶性の製剤 (i) 顆粒剤および顆粒状の形で充填したカプセル剤以外の製剤の項にしたがって試験する。

2. 重量偏差試験

日本薬局方製剤総則 14 錠剤の重量偏差試験の項に準じて試験した。

3. 力価試験¹⁾

i) 試料溶液の調製

A 法：試料 20 個をとり、水で皮膜を洗い落とし、余分の水をろ紙で除き、乳鉢で酵素希釈液約 5 ml を加えてすりつぶし、粥状としたのち、メスフラスコに移し、酵素希釈液約 100 ml を加えてより振り混ぜ、さらに酵素希釈液を加えて正確に 200 ml とする。この液を遠心分離し、その上澄液の適量を正確に量り取り、酵素希釈液を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とする。なお試料溶液 1 ml 中に 30~50 プロメライン単位を含むように調製する。

B 法：A 法における遠心分離の操作を省略し、均一に懸濁した液の適量を正確に量り取り、以下同様に操作する。

C 法：A 法における酵素希釈液の代りに 0.4 M 塩化ナトリウムを含む酵素希釈液を用いて同様に操作する。

ii) 操作法

試料溶液 1 ml を試験管にとり、 $37 \pm 0.2^\circ$ の恒温槽中に 5 分間保つ。別に 37° に予温したカゼイン基質液 5 ml を前記試料溶液中にすばやく吹き込むと同時に秒時計を始動させる。正確に 10 分間経過後、沈殿試薬 5 ml を加え、 37° に 40 分間放置したのち、ろ過し、ろ液につき 2 時間以内に波長 275 nm における吸光度 A を水を対照として測定する。別に試料溶液 1 ml に沈殿試薬 5 ml を加えたのち、カゼイン基質液 5 ml を加えて、以後同様に操作し、吸光度 A_0 を求める。別にあらかじめ 105° で 3 時間乾燥したチロジン標準品を精密に量り、0.1 N 塩酸に溶かし、その 1 ml 中にチロジン 50.0 μ g を含む液を調製し、その吸光度 A_s を水を対照として測定する。

プロメライン力価 (単位/錠)

$$= \frac{A - A_0}{A_s} \times 50 \times \left(\frac{11}{10} \times \frac{\text{試料溶液の希釈倍数}}{20} \right)$$

1 プロメライン単位：上記反応条件で 1 分間にチロジン 1 μ g に相当する生成物を与える酵素量

4. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

i) ゲルの作製

Weber と Osborn の方法²⁾にしたがって 0.1% SDS および 0.1 mM TTA を含む 10% ポリアクリルアミドゲル ($\phi 6 \times 70$ mm) を作製した。

ii) 電気泳動用試料液の調製

皮膜を水で洗い落した試料 1 錠を乳鉢にとり、粉末

としたのち、2 mM TTA を含む 10 mM リン酸緩衝液 (pH 6) 5 ml を加えてよく振り混ぜたのち、遠心分離して上澄液を得る。この上澄液のたん白質 2 mg に相当する量を取り、これに 1% SDS 水溶液 0.2 ml, 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 0.04 ml, 20% グリセリン 0.4 ml および水を適量加えて全量 2 ml とし、16 時間 37° に保温して、電気泳動用試料液とする。

iii) 標準たん白質溶液の調製

Mann Research Laboratories 社から購入した分子量測定用高純度の牛血清アルブミン (分子量: 68000), ヒト γ -グロブリン (分子量: H 鎖 53000), 卵アルブミン (分子量: 45000), キモトリプシンノーゲン A (分子量: 25700), ミオグロビン (分子量: 17800), チトクローム c (分子量: 11700) をそれぞれ 1 mg ずつ量りとり、1% SDS 水溶液 0.1 ml, 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 0.5 ml, 20% グリセリン 0.2 ml および水適量を加えて全量 1 ml とし、16 時間 37° に保温して標準たん白質溶液とした。

iv) 電気泳動

常法にしたがって電気泳動装置を組み立て、0.05% ブロムフェノールブルー溶液 0.05 ml を加えた電気泳動用試料液および標準たん白質溶液の 0.05 ml ずつを各ゲルの上端に積層したのち、上部緩衝液槽を陰極に、下部緩衝液槽を陽極に接続して、ゲル 1 本当り 8 mA の電流を通じて 5 時間泳動した。

v) 染色および脱色

コマシーブリリアントブルー R 0.25 g, メチルアルコール 500 ml および酢酸 100 ml に水を加えて 1 l とした液を染色液とし、泳動終了後のゲルをこの染色液に浸して 15 時間染色した。メチルアルコール 250 ml および酢酸 70 ml に水を加えて 1 l とした液に染色後のゲルを浸して過剰の色素を除いた。

5. 寒天ゲル免疫電気泳動²⁾

i, 寒天ゲル板の作製

トリス緩衝液 100 ml に寒天 1 g を加えてよく混和し、透明になるまで加熱して完全に溶解する。ガラス板 (5×13 cm) を水平台上に置き、その上に溶解した寒天溶液約 10 ml を注ぎ一様の厚さになるように広げ、寒天が固まるまで静置する (ゲルの厚さ約 2 mm)。

ii) 抗血清の作製

A および B 社の製剤用原料プロメライン末をそれぞれ 10 および 5 mg をとって混和し、0.03 M システインを含む生理食塩液 1.5 ml に溶解し、遠心分離して上澄液を得る。上澄液に Freund's complete adjuvant (IATRON LABORATORIES 製) を同量加

えて乳化し、その 1.5 ml を家兎に 2 週間間隔で 4 回皮下投与した。最終投与後 2 週間目に全血を採取して抗血清を得た。

iii) 免疫電気泳動用試料溶液の調製

糖衣あるいは皮膜を除いた錠剤を 1 錠当り 2 ml の 0.03 M システインを含むトリス緩衝液で抽出し、遠心分離して得た上澄液を免疫電気泳動用試料溶液とした。

iv) 電気泳動

寒天ゲル板に抗血清を入れる溝と試料溶液を注入する直径 2 mm の孔を作り、孔に試料溶液 6 μ l を注入して、寒天ゲル板 1 枚当り 15 mA を通電して 1.5 時間泳動した。泳動終了後、溝に抗血清を注入し、約 20 時間後に沈降線を観察した。

結果と考察

1. 崩壊試験

8 検体はいずれも第 1 液による 120 分間の上下運動では白糖などの剤皮の破損、はく離が認められたものの、腸溶性皮膜の開口や崩壊は認められず、ひき続いて行った第 2 液による試験で、検体 No 2~8 は試料 6 個全てが 30 分以内に崩壊し、No 1 も試料 6 個中 2 個が 30 分以内に、残り 4 個も 60 分以内に崩壊した (Table 1)。このように検体は全て日局崩壊試験に適合したものの、その崩壊時間には製剤間に差がみられ、最も短いもの (検体 No 3) では 4 分間で試料 6 個すべてが崩壊したのに対して 40 分間を要したものの (検体 No 1) もあった。

2. 重量偏差試験

重量偏差の規格内にとどめるほど均一に剤皮を施すコーティング技術がまだ得られていないとして、剤皮を施した錠剤については日本薬局方において重量偏差試験法が適用されていないが、今回、剤皮を施した錠剤の重量偏差の実情を把握する目的で日局製剤総則 14. 錠剤 (4) 項に準じて重量偏差の測定を行った。検体 No 2, 4 および 7 は平均重量が 0.3 g 以上であったので偏差 (%) の基準を 5% としたが、これを越えるものではなく、またバラツキの指標となる変動係数 (C. V.) も 1.5~2.8% と小さかった。検体 No 1, 3, 5, 6 および 8 の平均重量は 0.12 g 以上 0.3 g 未満であったので偏差 (%) の基準を 7.5% とした。No 1 および 8 には 7.5% を越えるものはなかったが、No 3 では 1 個、No 5 では 2 個がこの基準を越えた。しかし、基準の 2 倍以上のものはなかった。No 6 は 4 個が基準を越えていた。変動係数も No 5 が 4.8%, No 6 が 5.1% であり、他の検体に比較して大きか

Table 1. Results of the disintegration test for commercially available bromelain preparations

Sample No	Numbers of tablet disintegrated in			Maximum disintegration time (min)
	1st fluid	2nd fluid		
	after 120 min	after 30 min	after 60 min	
1	0	2	4	40
2	0	6	—	29
3	0	6	—	4
4	0	6	—	8
5	0	6	—	20
6	0	6	—	30
7	0	6	—	20
8	0	6	—	29

Table 2. Results of the weight variation test for commercially available bromelain preparations

Sample No	Average weight (mg)	Range of deviations (%)	Numbers of tablet having the deviation of more than 7.5%	C.V.* (%)
1	247.7	6.8~-4.5	0	2.70
2	316.9	3.0~-3.8	0	2.25
3	225.6	3.3~-7.9	1	2.81
4	342.6	2.3~-3.4	0	1.51
5	191.3	11.8~-5.3	2	4.80
6	246.8	8.9~-10.4	4	5.12
7	301.5	4.2~-4.4	0	2.80
8	210.8	5.5~-6.9	0	3.46

* coefficient of variation : standard deviation/average weight

った (Table 2)。

この試験から、日局に規定された錠剤の重量偏差試験法を適用しても 8 検体中 7 検体がこの試験に適合するという結果が得られ、今回入手した検体からみた限りでは、おおむね、剤皮を施した錠剤においても一定の偏差内にある製剤が製造されていることが推察された。

3. 力価試験

Table 3 に示すように、試料溶液を A 法で調製した場合、No 2, 6, 8 の 3 検体のみが規格に適合し、No 1, 3, 4, 7 の 4 検体は規格値より低い力価を示した。この原因として主剤であるブロメラインの不溶性賦形剤への吸着が考えられたため、これら低力価を示した検体についてさらに B 法および C 法で試料溶液を調製して試験を行った。不溶物を除去することなく、均一

に懸濁した試料溶液を用いる B 法によって No 1 と 7 はほぼ表示量の力価を示した。また No 3 も力価は A 法に比べて上昇はしたが、許容範囲の値には至らなかった。No 4 についてはほとんど力価の上昇は認められなかった。また塩溶効果を期待した C 法でも、No 1 にはその効果が認められ力価は上昇したが、No 3 および 4 については B 法で得られたのとはほぼ同様の結果であった。したがって、No 3 と 4 については含量不足と認め、力価試験には不適と判定した。一方、No 5 は A 法で許容範囲の上限を越える値 (127.6%) を示したが、糖衣層を除くことなく、粉末としたのち酵素希釈液で抽出することにより、規格に適合する値 (104.9%) を示した。この原因としてしょ糖などの糖衣層成分がブロメライン活性を阻害して力価を下げたとも考えられたので、ブロメライン活性へのしょ糖の

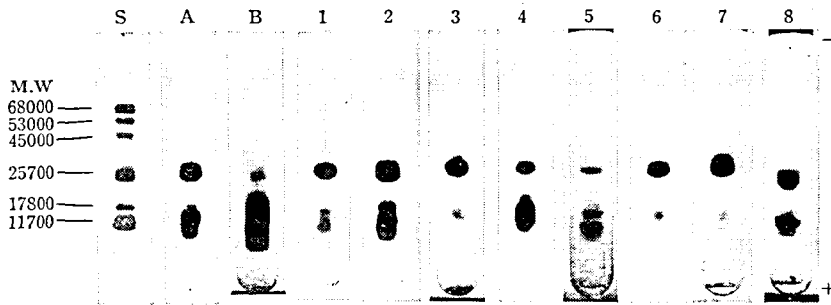


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of commercially available bromelain preparations and crude bromelain

S : standard protein

A, B : crude bromelain

1—8 : commercially available bromelain preparations

Table 3. Contents of bromelain in commercially available bromelain preparations

Sample No	Labeled amount (units/tablet)	Range of permissible content (%)	Bromelain contents (%) found by		
			Method-A	Method-B	Method-C
1	10,000	90—125	20.8	101.3	80.1
2	31,000	90—110	90.2	—	—
3	10,000	90—120	21.5	77.5	74.6
4	10,000	90—110	59.7	65.6	68.8
5	10,000	90—110	127.6	123.6	—
6	10,000	90—120	108.0	—	—
7	10,000	90—110	62.3	97.5	—
8	10,000	90—120	94.9	—	98.1

影響を検討したが、しょ糖による阻害効果はほとんど認められなかった (Table 4)。したがって No 5 の場合、糖衣層成分中のしょ糖以外の何らかの成分による阻害効果によってみかけ上規格に適合する力価を示したものと推察された。

4. プロメライン製剤の純度

市販プロメライン製剤の純度の実情を知る 目的で SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 および 免疫電気泳動法を用いて検討した。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った結果を Fig. 1 に示した。プロメラインはパイナップルの果汁あるいは茎汁から抽出されたたん白分解酵素の総称であり、6 種類の酵素が存在し、その分子量は約 25000 であることが知られている^{4,5)}。Fig. 1 において分子量約 25000 に相当する部位に存在するバンドがプロメラインであるが、いずれの検体も分子量 25000 以下の成分を比較的多量含むことが明らかになった。入手し得た 2 種の

Table 4. Effect of sucrose on bromelain activity

Sucrose concentration (%)	Relative activity (%)
0	100.0
0.5	97.0
5	96.8

原料プロメライン末 (A, B) についてもやはり低分子量の夾雑たん白質を多く含有することが明らかとなった。

一方、これらの原料プロメライン末で調製した抗血清を用いた免疫電気泳動を行ったが、原料プロメライン末自体が多くの沈降線を生じ、多数の抗体産生物質を含有することが判明した。また各検体について行った結果も、検体間に生じた沈降線の数には差があるも

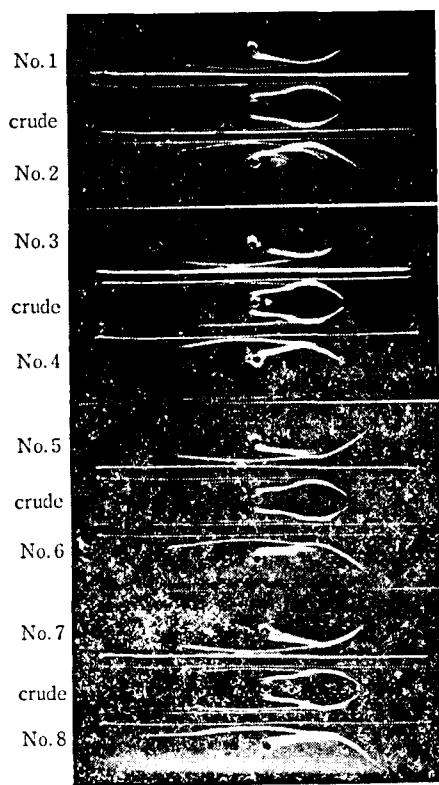


Fig. 2. Agar gel immunoelectrophoresis of commercially available bromelain preparations

の、全てに複数個の沈降線を認めた (Fig. 2)。

これらの結果から、市販プロメライン製剤はたん白質化学的にみてあまり純粋なものではなく、夾雑たん白質を含むものであることが判明した。

一般に、たん白質製剤は注射剤としてはその安全性の面から異種たん白質の夾雑や抗原性の有無などが重要視され、規格の作製にあたってこの点に注意がは

らわれているが経口剤に対してはこれらの注意はあまりはられていないのが現状である。経口的に投与されるものであっても主剤としてのたん白質が吸収されて薬効が発揮されるものであれば、夾雑するたん白質もやはり吸収される可能性が考えられ、注射剤の場合と同様の考え方が必要となるであろう。

プロメライン製剤は消炎剤、抗浮腫剤として経口的に投与されてその効果が認められているものであり広く臨床に使用されているが、その作用機序は現在不明である。したがって吸収されて薬効を発揮するのかあるいは他の未知の機序で薬効を示すのかは明らかではないが、トリプシンをはじめ他のたん白質^{6,7)}と同様、プロメライン^{8,9)}についても腸管からの吸収が証明されている以上は夾雑たん白質の存在や抗原性の有無などに注意をはらう必要があると考える。

文 献

- 1) 日本公定書協会：新医薬品とその試験法, P. 334 (1973) 薬業時報社
- 2) K. Weber and M. Osborn: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
- 3) 山岸安子, 河谷 忠：臨床病理, 臨増 **30**, 152 (1977)
- 4) N. Takahashi, Y. Yasuda, K. Goto, T. Miyake and T. Murachi: *J. Biochem.*, **74**, 355 (1973)
- 5) 山田富美子：名古屋市立大学医学会雑誌, **24**, 250 (1973)
- 6) B.L. Kabacoff, A. Wholman, M. Umhey and S. Avakian: *Nature*, **199**, 815 (1963)
- 7) A.L. Warshaw, W.A. Walker, R. Cornell and K.J. Isselbacher: *Lab. Invest.*, **25**, 675 (1971)
- 8) R.D. Smyth, R. Brennan and G.J. Martin: *Am. J. Pharm.*, **133**, 294 (1961)
- 9) R.D. Smyth, R. Brennan and G.J. Martin: *Exper. Med. Surgery*, **22**, 46 (1964)

皇居内苑濠水の水質について

佐谷戸安好・松井啓子・中室克彦・安藤正典

Character of Water Quality of the Inner Moats around
the Imperial PalaceYasuyoshi SAYATO, Sachiko MATSUI, Katsuhiko NAKAMURO
and Masanori ANDO

Seasonal changes of water quality were investigated in the moats of the Imperial Palace in Tokyo to know the character of the moat water and were compared with the Outer Moat around the Imperial Palace. The sampling stations were placed at nine points in the Inner Moats. These moats are not polluted by industrial or domestic waste water and are in the state of nature.

Patterns of seasonal changes in the quality of water showed to be different quality of water between the Inner and Outer Moats around the Imperial Palace. It is considered that the moat water is eutroph because of the alkalinity, excessive saturation of dissolved oxygen, high nitrogen and phosphate in the moat water during four seasons and formation of the so-called "aquatic blossom". However, there was no similarity between the water qualities of the Inner Moats from the viewpoint of statistical analysis.

(Received May 31, 1979)

緒 言

都心に位置する皇居外苑濠の水質について著者らはすでに、四季における水質成分と生物相の検討を行い富栄養化現象を呈することを明らかにした¹⁻⁴⁾。

一方、皇居内苑濠の研究について一般的には調査の機会に恵まれないためほとんど水質調査に関する研究報告がなされていない。

著者らは 1977 年以來、宮内庁の委託により皇居内苑濠水の保存管理指標を得ることを目的として 3 ケ年計画で本研究を開始した。

すなわち皇居内苑濠に 9 ケ所の調査地点を設け、都市排水の流入が認められない自然環境にある濠水の水質特性の把握と外苑濠水との水質の比較検討を行い知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 調査地区の概要

皇居内苑濠は Fig. 1 に示すごとく約 10 個の濠および池からなっている。これら濠のうち①吹上大池、②上道灌濠、③中道灌濠、④下道灌濠、⑤蓮池濠、⑥乾濠、⑦平川濠、⑧天神濠および⑨二の丸池を採水地点とした。

本濠水は 1978 年現在の水表面の面積、貯水量は Fig. 1 に示すごとくで、→印は溢流水の流下方向を

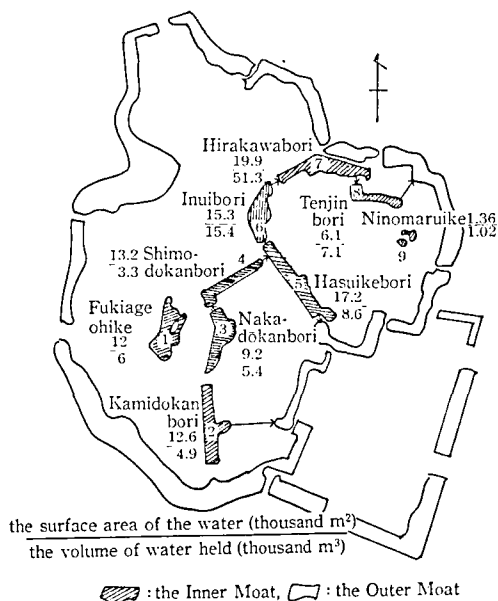


Fig. 1. Sampling Stations of the Inner Moats around the Imperial Palace

示す。また、②上道灌濠、③中道灌濠、④下道灌濠、⑥乾濠は夏期にハスが繁茂するのが著しい。

2. 調査期間

1977 年 5 月より 3 ケ月ごとに 1 回 1979 年 2 月まで

各季節ごと年 4 回計 8 回調査を実施した。

3. 採水方法

各採水定点の中層水を採水し試料とした。

4. 分析方法

各調査地点の試料水は日本薬学会協定衛生試験法ならびに JIS 工場排水試験方法 K0102 に準拠して行った。

結果と考察

1. 内苑藻水水質の経年変化について

内苑藻水（以下内苑と略す）の各季節ごとの全試料の平均値を求め、水質の経年変化の検討を行うとともに、外苑藻水（以下外苑と略す）（1969 年 5 月～1971 年 2 月²⁾）との比較を行った。

まず、水中の生物相や水質に影響を与える気温、水温、pH、DO および DO 飽和百分率について検討した。

すなわち内苑藻は一般的に水深が浅く、このため Fig. 2 に示すごとく水温は、気温の影響を直接うけ

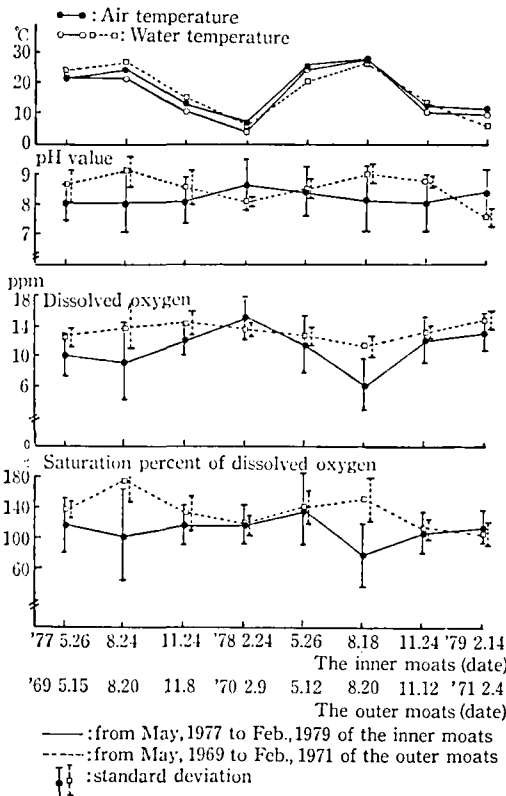


Fig. 2. Comparison of Seasonal Changes of Water Quality between the Inner and Outer Moats

て変化することを示している。各藻水の pH 値は冬期約 8.6 夏期に約 8.1 を示し、冬期約 8.0 夏期 9.0 を呈する外苑とは逆の経年変動パターンを示しているのがみられる。しかし pH 値は一般的に年間を通じて富栄養湖の示す水質と同じく、アルカリ性を示していることを示している。

また DO、DO 飽和百分率も経年的に過飽和を呈するが、外苑とは異なるパターンを示した。

一方、pH、DO 飽和百分率の各季節における平均値とその標準偏差について、内苑および外苑を比較すると、内苑の方が大である傾向を示すため、内苑は各藻水間の水質の差が外苑より大きいことが示唆された。

また BOD、COD について検討すると、Fig. 3 に示すごとく BOD は標準偏差が経年的な変動幅（5～8 ppm）より大であることが認められた。このことより、内苑の各藻水水質がそれぞれ異った固有の水質を有することが推定される。ただ 1977 年は夏期の気温が平年に比して比較的低温でありこの水温に影響される BOD、COD 値が本藻水の典型的な水質パターンとは考えられないため、1978 年の水質の変動パターンについてみると、BOD は 8 月に上昇する傾向を示し、生物相の増殖期にあたる 5 月に高い値を示した外苑水質とは異なる傾向を示すことを認めた。つぎに COD は外苑と同様夏期に上昇する傾向を呈したが、外苑に

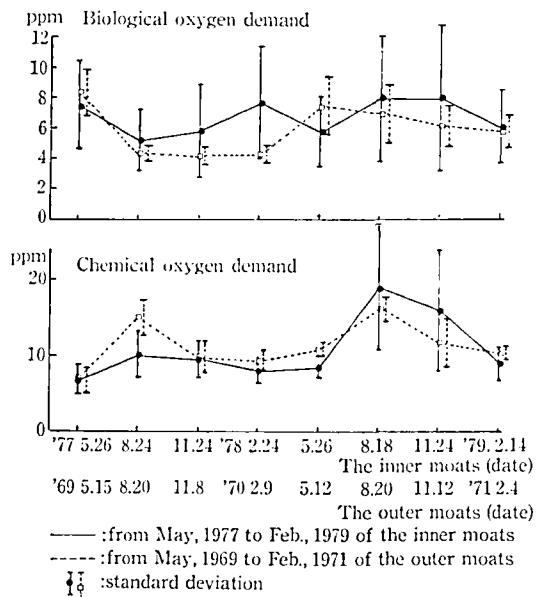


Fig. 3. Comparison of Seasonal Changes of Water Quality between the Inner and Outer Moats

おいては夏期に BOD が減少するのに対して、COD が増加するという BOD-COD の逆相関関係²⁾は本澁水では認められなかった。

つぎに総窒素、アンモニア性窒素、リン酸イオン、ケイ酸の各項目について検討すると、Fig. 4 に示すごとくいずれも季節的なこれら成分の平均値に対する標準偏差についてみると、内苑は外苑に比較して大であることを示した。

また経年変動についてみると、1978年夏期8月にこれらのいずれの項目も上昇する傾向が認められた。

以上の結果から、内苑の水質の変動パターンは外苑とは明らかに異なり、しかも各季節の水質の標準偏差が外苑よりも大であり、かつ経年変動幅より大きい傾向を示すことを認めた。このことはすでに報告^{1,3)}したごとく、外苑8ヶ所の澁水が比較的類似性をもつことが示されているのに対し、内苑の各澁水水質がそれぞれ異なった水質を有することが示唆される結果を示したものと考える。

2. 各澁水水質成分について

1) 各澁水の季節的変動

内苑の水質が各澁ごとに異なることが考えられるため、各澁水個々の水質を把握するため、内苑9定点における1977年5月から1979年2月までの2年間にわたる季節的水質変動について検討を行った。すなわち、Fig. 5 に示すごとく、pHは水温の上昇による影響、季節的変動も特にみられず、外苑に比しやや低い、四季を通じてアルカリ性であることを示した。各澁水の DO、DO 飽和百分率はいずれも過飽和を呈するが、4定点(②上道澁、③中道澁、④下道澁、⑥乾澁)の DO は8月に限り低い特長的な現象を認めた。またこの採水当時のこれら澁水の pH が7付近を示し澁水の年間平均と比較して低いことから、DO の低い原因としては、これら4つの澁には夏期ハスが繁茂し日射を妨げる結果、藻類の光合成が抑制され²⁾、二次的に水質に影響を及ぼしていることが推定された。つぎに BOD、COD について検討すると、Fig. 6 に示すごとく5月から8月に向かい減少するもの(②上道澁、③中道澁、⑥乾澁、⑨二の丸池)と5月から8月に向かい上昇する傾向のあるもの(①吹上大池、④下道澁、⑤蓮池澁、⑦平川澁、⑧天神澁)が認められるが、これに対し、COD では全般的に5月から8月が最高で11月に再び減少する傾向を示すが、②上道澁、⑥乾澁、⑧天神澁の3定点は、5月から11月にかけて上昇する異なったパターンを示した。このように各澁水はそれぞれ固有の BOD、COD 値を有することを認めた。

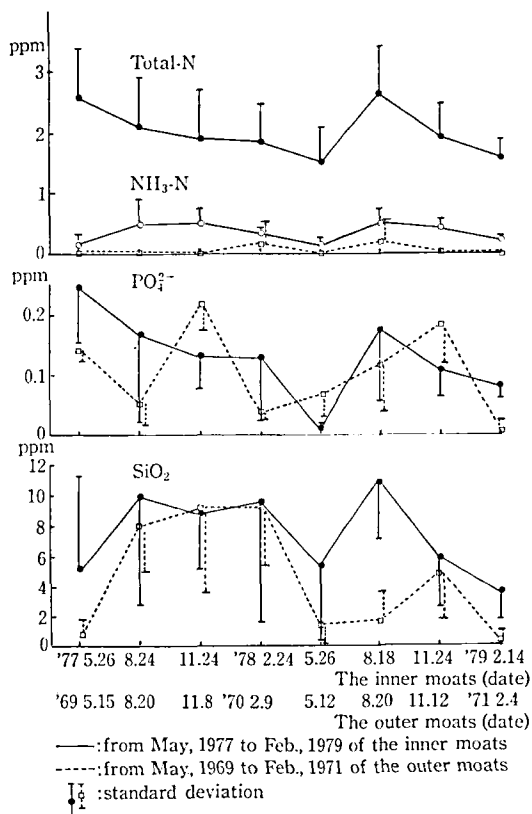


Fig. 4. Comparison of Seasonal Changes of Water Quality between the Inner and Outer Moats

さらに、総窒素、リン酸イオン、ケイ酸の各項目について検討するに、Fig. 7 に示すごとく総窒素は各澁水固有のパターンを示し窒素含有量が 0.48~2.17 ppm と比較的低いグループ(⑤蓮池澁、⑥乾澁、⑨二の丸池)および 1.01~3.69 ppm と比較的高い窒素量を示すその他の澁のグループに分れることを認めた。

また、リン酸イオンも同様に各澁水間類似の季節的パターンは認められず、0.01~0.05 ppm の範囲内で変動することを示した。ケイ酸は各澁水の季節的变化における変動幅が 0.9~28.0 ppm と非常に大きいことを示している。以上の結果から本澁水水質は、各澁水いずれも pH がアルカリ性、DO は過飽和を呈し、BOD、COD が高い値を示している。湖沼の富栄養化現象を示す指標として津田⁹⁾が N : 0.15 ppm 以上、P : 0.02 ppm 以上を、また坂本⁶⁾が N : 0.5~1.3 ppm、P : 0.01~0.09 ppm、SiO₂ : 1.0~41.7 ppm では富栄養型であると述べている。本澁水のこれら成分は津田らの示す限度範囲以上の値をいずれも示した

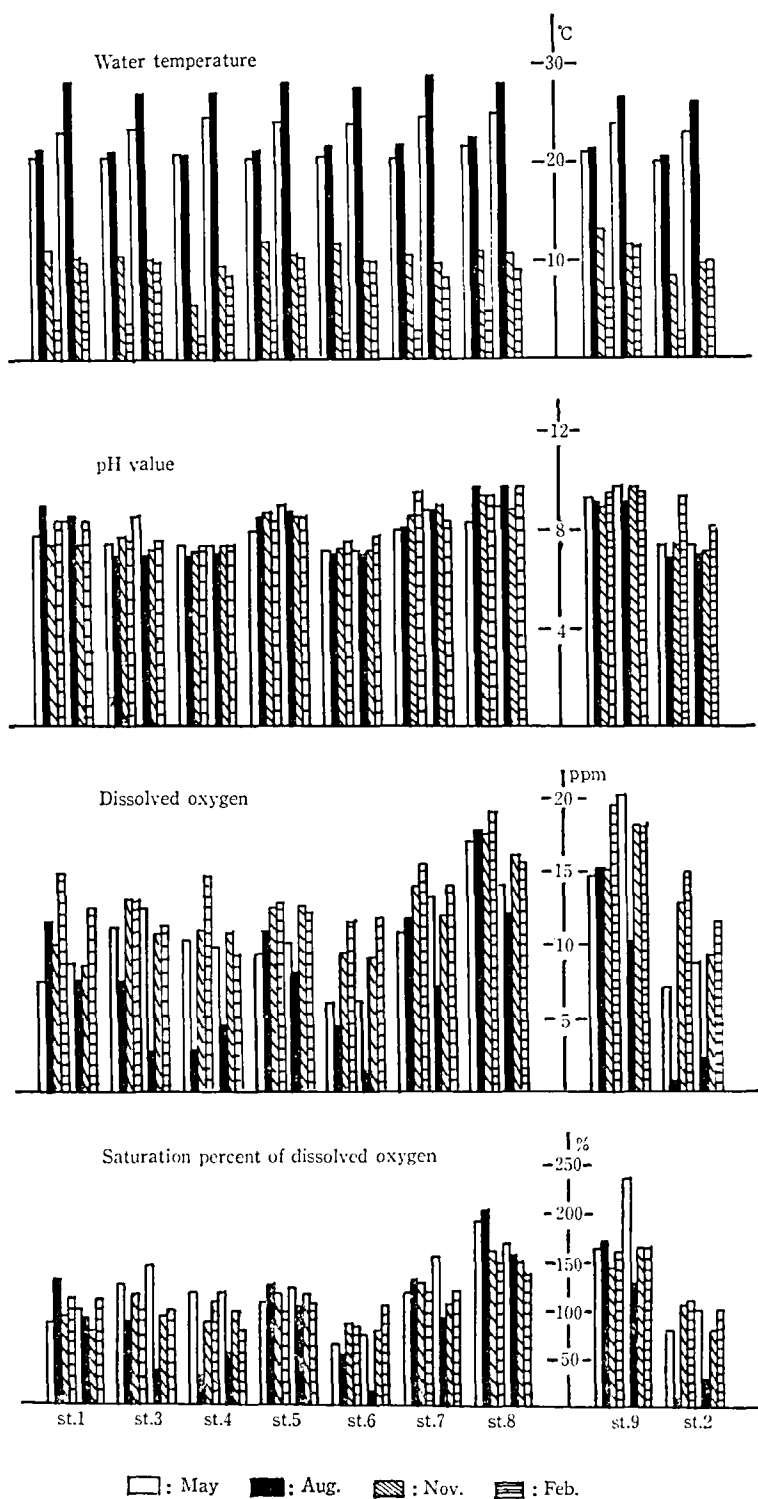


Fig. 5. Seasonal Changes of Water Quality of Each Inner Moat (from May, 1977 to Feb., 1979)

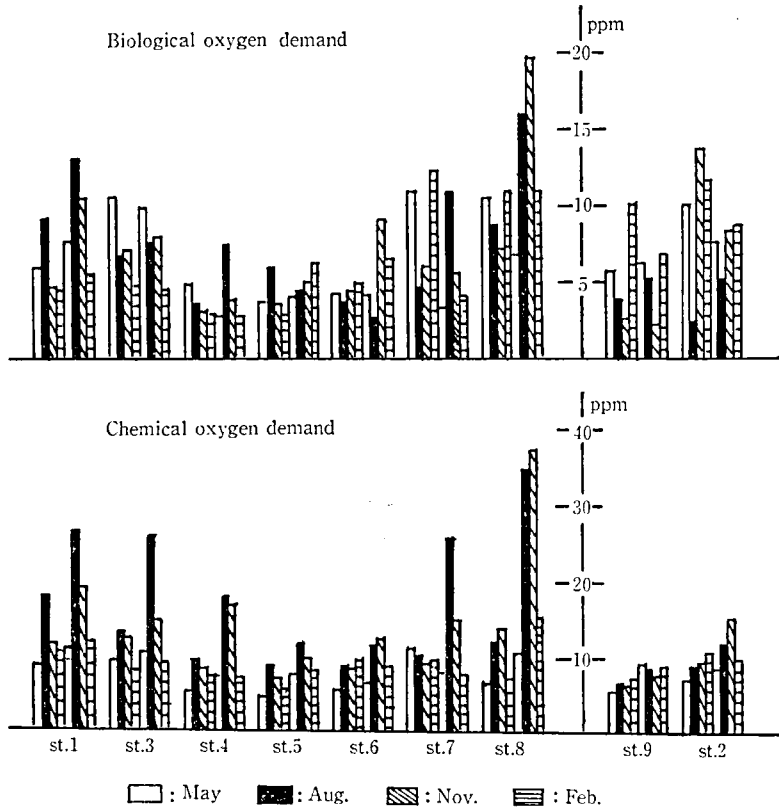


Fig. 6. Seasonal Changes of Water Quality of Each Inner Moat (from May, 1977 to Feb., 1979)

め、明らかに富栄養化現象を呈する水質であることを認めた。しかし内苑の水質は各濠間において類似した季節的特長を示すパターンは認められず、外苑が示す富栄養化現象とは異なり各濠が独立した性状を示すことが考えられた。

2) 各濠水の水質特性

内苑の水質特性を把握する目的で、代表的な水質成分について8回の測定値の相加平均値、幾何平均値、標準偏差、最小値、最大値および水質変動係数について解析を行い Table 1 に示した。すなわち、各濠水の水質特性として、測定値が正規分布する場合に有効な指標になると考えられる⁷⁾ 相加平均値と分布係数が対数正規分布であるとき有効な指標となり得ると考えられる⁷⁾ 幾何平均値の間でいずれの水質成分においても大きな差は認められなかった。また、水質変動係数はリン酸イオンが最大でケイ酸、アンモニア性窒素において大きいことを示した。

一方、各濠水水質に関しては、pH, DO 飽和百分率の2成分についてみると、②上道灌濠、③中道灌濠、

④下道灌濠と⑥乾濠のグループ (pH 7~8, DO 飽和百分率 100% 以下) と①吹上大池、⑤蓮池濠、⑦平川濠のグループ (pH 8~9, DO 飽和百分率 97~120%) および⑧天神濠、⑨二の丸池のグループ (pH 9~10, DO 飽和百分率 150% 以上) の3グループに分類が可能であることを示した。

しかし、水深の浅いことで共通点を有する②上道灌濠、④下道灌濠、⑧天神濠はいずれもアンモニア性窒素、COD, BOD が他の濠に比し高い値を示し富栄養化現象が進行していることが考えられた。

一方、⑤蓮池濠、⑥乾濠は富栄養化現象の指標となる総窒素、アンモニア性窒素、リン酸イオン、BOD, COD が内苑では低い値を示し、水質変動係数が比較的小さいことから安定した水質を有することが考えられる。

以上の結果から皇居内苑の各濠は自然環境に近い状態で存在し、かつ異なった生態環境を有するため、特定の水質成分においては濠間での類似性は認められても、水質全体の類似性は認められず、各濠固有の水質

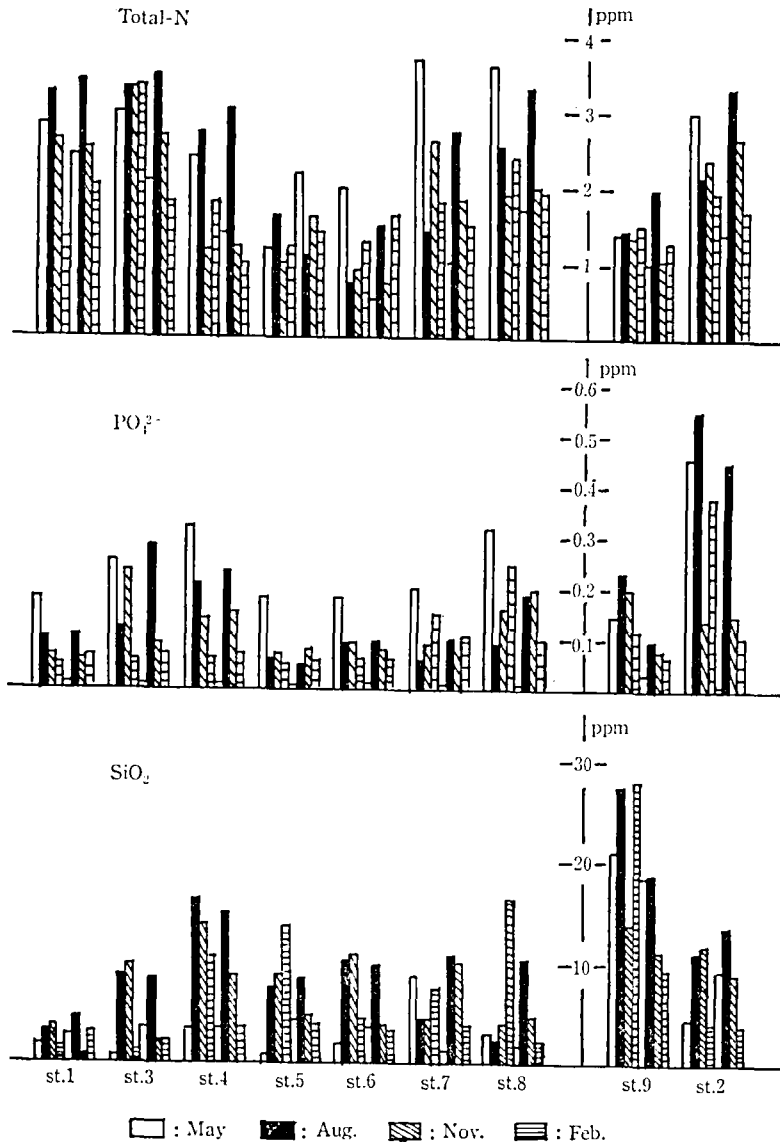


Fig. 7. Seasonal Changes of Water Quality of Each Inner Moat (from May, 1977 to Feb., 1979)

特性を有することが考えられた。

結 論

以上の結果から皇居内苑濠水はつぎのような水質を有することが考えられる。

1. 1978 年の経年変化において DO, DO 飽和百分率は 8 月に低下するのに対して BOD, COD, 総窒素, リン酸イオン, ケイ酸などは上昇し, 逆相関関係を有することを示した。また, 経年変化における水質の平均値に対する標準偏差は多くの水質成分の経年変動幅

より大きく, しかも, 皇居外苑濠水の標準偏差に比べ大きいことから, 内苑濠水水質は各濠間の類似性がないことが示唆された。

2. 各濠水水質の季節的変動において, いずれの濠水も富栄養化現象を呈することを認めた。しかし, 本濠水水質において類似した季節的特長を示す変動パターンは認められず, 各濠が独立した性状を示すことが考えられた。

3. 各濠水は特定の水質成分においては濠の分類が可能であっても, 水質全体の類似性はなく, 内苑濠水は

Table 1. Character of Water Quality of the Inner Moats

	Sampling station	Arithmetic mean	Geometric mean	Standard deviation	Maximum value	Minimum value	Coefficient of variation of water quality*
pH	1	8.05	8.16	0.59	9.0	7.4	1.22
	2	7.83	7.56	0.73	9.4	6.8	1.38
	3	7.73	7.52	0.67	8.6	7.0	1.23
	4	7.61	7.26	0.62	7.4	6.9	1.07
	5	8.59	8.58	0.28	9.0	8.0	1.13
	6	7.29	7.28	0.26	7.8	7.0	1.11
	7	8.66	8.65	0.48	9.6	8.0	1.20
	8	9.30	9.29	0.49	9.8	8.4	1.17
	9	9.45	9.45	0.28	9.8	9.0	1.09
DO	1	9.96	9.68	2.414	14.59	7.18	2.03
	2	8.53	6.35	4.636	15.00	0.84	17.86
	3	10.16	9.23	3.288	12.89	2.53	5.10
	4	9.03	8.01	3.625	14.58	2.54	5.74
	5	11.01	10.89	1.614	12.67	8.03	1.58
	6	7.55	6.47	3.360	11.62	1.48	7.85
	7	12.23	11.93	2.477	15.64	6.97	2.24
	8	16.16	16.01	2.142	19.02	12.04	1.58
	9	16.43	16.10	3.107	20.29	10.14	2.00
DO%	1	97.71	96.46	15.84	127.49	75.10	1.70
	2	78.01	61.85	36.33	110.67	9.25	11.96
	3	98.20	91.23	30.55	142.36	31.35	4.54
	4	84.37	77.55	28.91	114.96	28.14	4.09
	5	109.12	108.76	8.86	122.46	95.75	1.29
	6	70.72	64.26	24.57	104.36	18.44	5.66
	7	119.32	118.01	17.80	154.90	89.36	1.73
	8	162.34	160.88	22.31	204.55	143.29	1.43
	9	166.45	163.94	30.50	237.91	124.49	1.91
BOD	1	7.62	7.11	2.877	13.00	4.65	2.80
	2	8.59	7.72	3.373	11.83	2.54	4.66
	3	7.42	7.11	2.082	10.77	4.23	2.55
	4	3.87	3.62	1.588	7.61	2.64	2.88
	5	4.54	4.41	1.087	6.33	2.95	2.15
	6	4.86	4.54	1.893	9.08	2.54	3.58
	7	7.26	6.52	3.330	12.25	3.38	3.62
	8	11.36	10.66	4.237	19.86	6.77	2.93
	9	5.32	4.76	2.424	10.15	2.12	4.79

Table 1. (Continued)

	Sampling station	Arithmetic mean	Geometric mean	Standard deviation	Maximum value	Minimum value	Coefficient of variation of water quality*
COD	1	14.26	13.32	5.519	25.74	8.04	3.20
	2	9.80	9.55	2.278	14.47	6.54	2.21
	3	12.54	11.72	5.151	24.89	7.88	3.16
	4	9.56	8.73	4.355	17.45	5.05	3.46
	5	7.63	7.29	2.270	11.91	4.49	2.65
	6	8.67	8.33	2.441	12.98	5.05	2.57
	7	11.74	10.80	5.647	25.74	7.42	3.47
	8	16.92	13.87	11.227	36.81	6.35	5.80
	9	7.36	7.28	1.090	8.89	5.61	1.59
Total-N	1	2.53	2.44	0.627	3.39	1.26	2.69
	2	2.33	2.24	0.626	3.26	1.34	2.43
	3	2.88	2.80	0.604	3.56	1.78	2.00
	4	1.86	1.72	0.727	3.02	0.99	3.36
	5	1.42	1.38	0.347	2.17	1.03	2.11
	6	1.16	1.04	0.520	2.08	0.69	3.01
	7	2.06	1.91	0.806	3.69	1.01	3.65
	8	2.40	2.32	0.646	3.61	1.70	2.12
	9	1.40	1.37	0.270	1.95	1.09	1.89
NH ₃ -N	1	0.30	0.28	0.109	0.45	0.12	3.75
	2	0.50	0.33	0.455	1.47	0.10	14.70
	3	0.29	0.23	0.166	0.61	0.05	12.20
	4	0.31	0.13	0.265	0.78	0.00	—
	5	0.21	0.16	0.119	0.39	0.03	13.00
	6	0.26	0.21	0.116	0.50	0.12	4.17
	7	0.42	0.36	0.202	0.72	0.13	5.54
	8	0.35	0.29	0.244	0.93	0.13	7.15
	9	0.39	0.34	0.206	0.78	0.17	4.59
PO ₄ ³⁻	1	0.08	0.06	0.046	0.18	0.01	18.0
	2	0.28	0.18	0.188	0.55	0.01	55.0
	3	0.14	0.10	0.094	0.28	0.01	28.0
	4	0.15	0.10	0.096	0.32	0.01	32.0
	5	0.07	0.06	0.046	0.18	0.01	18.0
	6	0.08	0.06	0.045	0.18	0.01	18.0
	7	0.10	0.08	0.053	0.20	0.01	20.0
	8	0.17	0.12	0.092	0.32	0.01	32.0
	9	0.12	0.10	0.063	0.23	0.07	7.7

Table 1. (Continued)

	Sampling station	Arithmetic mean	Geometric mean	Standard deviation	Maximum value	Minimum value	Coefficient of variation of water quality*
SiO ₂	1	2.70	2.40	1.235	4.90	1.00	4.90
	2	8.24	7.34	3.624	13.40	3.50	3.83
	3	4.64	3.37	3.421	10.00	0.90	11.11
	4	9.28	7.61	5.170	16.60	3.25	5.11
	5	6.42	5.10	3.694	13.75	0.90	15.28
	6	5.87	4.93	3.386	10.50	2.00	5.25
	7	6.20	5.09	3.228	10.70	1.10	9.73
	8	5.59	4.11	4.853	16.38	1.70	9.64
	9	18.45	17.19	6.692	28.00	9.00	3.11

Each value is calculated from data of eight times from May, 1977 to Feb., 1979.

* Coefficient of variation of water quality = $\frac{\text{Maximum value}}{\text{Minimum value}}$

各滲固有の水質特性を有することが考えられる。

謝辞 本研究に当り現地採水に御協力いただいた宮内庁管理部庭園課の方々に謝意を表します。

文 献

- 1) 佐谷戸安好, 松井啓子, 中室克彦, 安藤正典, 外村正治, 松本浩一, 松本淳彦: 衛生化学, **19**, 94 (1973)
- 2) 佐谷戸安好, 松井啓子, 中室克彦, 安藤正典,

外村正治, 松本浩一, 松本淳彦: 衛生化学, **19**, 102 (1973)

- 3) 佐谷戸安好, 中室克彦, 安藤正典, 松井啓子: 衛生化学, **22**, 357 (1976)
- 4) 佐谷戸安好, 安藤正典, 中室克彦, 松井啓子: 衛生化学, **23**, 211 (1977)
- 5) 津田松苗: “汚水生物学” 北隆館, 東京, P. 85 (1964)
- 6) 坂本 充: 用水と廃水, **15**, 25 (1973)
- 7) 日本地球化学編, “水汚染の機構と解析” 産業図書, 東京, P. 89 (1978)

輸入脱脂粉乳の微生物叢について

小沼博隆・Ninbodee Tanyalak・高山澄江

羽柴真澄・河西 勉・鈴木 昭

Microbial flora in skim milk powder imported from Australia,
New-Zealand and Canada

Hirotaka KONUMA, Tanyalak NINBODEE, Sumie TAKAYAMA

Masumi HASHIBA, Tsutomu KAWANISHI and Akira SUZUKI

Microbial flora of 89 samples of skim milk powder imported from Australia, New-Zealand and Canada were investigated. Total counts ranged between 10^2 and 10^6 /g. The microorganisms most frequently encountered were *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus circulans* and *Bacillus* spp. Other microorganisms were *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus firmus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus varians*, *Micrococcus* spp., *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, Yeast, Mold and Gram positive unidentified bacteria. It is noticeable evidence that, the high frequency of occurrence of *Bacillus cereus* and *B. cereus* var. *mycoides* were recorded as 78.7% (70/89). To obtain more detail information, food microbiological studies on the contamination of these bacteria in skim milk powder, especially *B. cereus*, and their implication for human food poisoning should be carried out in the next phase of our study.

(Received May 31, 1979)

ま え が き

脱脂粉乳は、食事の洋風化に伴ない、パン、洋菓子、アイスクリーム等の乳菓、ミルクセーキミックス等の乳飲料、料理の材料、その他幅広く使用されており、その消費量は、166,034 トン¹⁾に達している。そのうち、約半数の 83,916 トンが輸入品であり、年々増加の傾向にある。

脱脂粉乳は、過去に大規模な食中毒事件^{2,3)}を起しているが、従来から細菌学的な問題が少なくと軽視されているため、輸入検査の重要品目に指定されていない。しかし、最近 3~4 年間に輸入された脱脂粉乳のうち、当室に検体として送付されたものには、細菌学的成分規格に不合格の製品が 7.9% 認められた。そこで、昭和 50 年以降当室に送付された 89 検体について詳細な微生物叢を調べる方法を導入し、検討したので報告する。

試料および実験方法

試料：輸入脱脂粉乳は、オーストラリア産 14、ニュージーランド産 27、カナダ産 48 の合計 89 検体である。

生菌数および大腸菌群検査法：生菌数および大腸菌群検査は、公定法⁴⁾にしたがった。

微生物叢の検索法：微生物叢の検索は、公定法で調整した試料液を 10^{-6} まで段階希釈を行い、その各段階希釈液 0.1 ml を 10 種類の寒天平板培地 (TS 血液, DHL, TATAC, 卵黄加マンニット食塩, 標準, 卵黄加標準, 卵黄加 CW, BL, および PD 各寒天培地) に滴下し、コンラージ棒で表面塗抹を行い、35°, 48~72 時間培養を行った。PD 寒天平板は、25°, 5 日間培養し、CW, BL 寒天平板は、Gas Pak Anaerobic Systems (BBL) により 35°, 72~96 時間培養した。

所定の培養が終わった後、光岡^{5,6)}の腸内微生物叢とその分離法に準拠した。すなわち希釈した試料を塗抹した各種平板のうち、その最高希釈平板に認められた集落の特徴 (色, 形, 大きさ) によって群分けし、各群の菌数を記載した後、その代表集落を釣菌、分離し同定した。

分離菌の同定：分離菌の同定は、Cowan & Steel⁷⁾の第一次鑑別にしたがった方法で分けた後、*Bacillus* は、Bergey's manual⁸⁾、および東^{9,10)}の方法に準拠、*Streptococcus*, *Micrococcus* は、Bergey's manual、*Staphylococcus* は、Cowan & Steel、*Lactobacillus* は、光岡¹¹⁾の方法にそれぞれ従い、その他の菌群は、

Table 1. Incidence of viable cell counts and coliforms in 89 samples of skim milk powder imported from Australia, New-Zealand and Canada

Country	No. of samples	No. of rejection (%)	Viable cell count/g					Coliforms
			$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	10^6	
Australia	14	2 (14.3)	11		1	2		Negative
New-Zealand	27	0	26	1				Negative
Canada	48	5 (10.5)	28	13	5	2		Negative
Total	89	7 (7.9)	65	14	6	4		

Table 2. Microbial flora in 89 samples of skim milk powder imported from Australia, New-Zealand and Canada

Microorganisms	No. of positive samples (%)	Bacteria counts of per gram				
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	10^6
<i>Bacillus cereus</i>	59 (66.3)	33	14	6	5	1
<i>Bacillus cereus var. mycoides</i>	24 (27.0)	10	9	4	1	
<i>Bacillus subtilis</i>	68 (76.4)	42	16	6	3	1
<i>Bacillus licheniformis</i>	57 (64.0)	35	14	6	2	
<i>Bacillus megaterium</i>	18 (20.2)	8	6	3	1	
<i>Bacillus circulans</i>	28 (31.5)	16	8	2	2	
<i>Bacillus pumilus</i>	11 (12.4)	4	3	2	2	
<i>Bacillus firmus</i>	8 (9.0)	5	2	1		
<i>Bacillus</i> spp.	30 (33.7)	22	7	1		
<i>Lactobacillus casei</i>	14 (15.7)	8	6			
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 (11.2)	6	4			
<i>Corynebacterium</i> spp.	14 (15.7)	9	3	2		
<i>Micrococcus luteus</i>	45 (50.6)	33	7	5		
<i>Micrococcus varians</i>	11 (12.4)	6	3	2		
<i>Micrococcus</i> spp.	10 (11.2)	7	2	1		
<i>Streptococcus faecium</i>	35 (39.3)	26	8	1		
<i>Streptococcus thermophilus</i>	17 (19.1)	7	7	3		
<i>Streptococcus bovis</i>	4 (4.5)	2	2			
<i>Streptococcus</i> spp.	17 (19.1)	11	4	2		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22 (24.7)	12	7	3		
Yeast	4 (4.5)	3	1			
Mold	2 (2.2)	2				
Unknown (gram positive bact.)	12 (13.5)	7	3	2		

第一次鑑別のみとした。なお、Yeast ならびに Mold は、ポテトデキストロース寒天に発育した集落を釣菌し、直接検鏡のみで判定した。

結果および考察

一般検査の結果：今回、オーストラリア、ニュージーランドおよびカナダ産脱脂粉乳 89 検体について生菌数、大腸菌群を検査した結果、Table 1 に示したど

Table 3. Microbial flora in 14 samples of skim milk powder imported from Australia

Microorganisms	No. of positive samples (%)	Bacteria counts of per gram				
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	10^6
<i>Bacillus cereus</i>	7 (50.0)	3	2	1	1	
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	2 (14.3)	1	1			
<i>Bacillus subtilis</i>	11 (78.6)	6	2	1	1	1
<i>Bacillus licheniformis</i>	8 (57.1)	5	1	2		
<i>Bacillus megaterium</i>	1 (7.1)	1				
<i>Bacillus circulans</i>	5 (35.7)	4	1			
<i>Bacillus pumilus</i>						
<i>Bacillus firmus</i>						
<i>Bacillus</i> spp.	7 (50.0)	6	1			
<i>Lactobacillus casei</i>						
<i>Lactobacillus</i> spp.						
<i>Corynebacterium</i> spp.	1 (7.1)	1				
<i>Micrococcus luteus</i>	7 (50.0)	7				
<i>Micrococcus varians</i>						
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (14.3)	2				
<i>Streptococcus faecium</i>	4 (28.6)	3	1			
<i>Streptococcus thermophilus</i>	3 (21.4)	2	1			
<i>Streptococcus bobis</i>						
<i>Streptococcus</i> spp.	2 (14.3)	2				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5 (35.7)	5				
Yeast						
Mold						
Unknown (gram positive bact.)	3 (21.4)	3				

とく、脱脂粉乳の成分規格値（生菌数 5 万以下、大腸菌群陰性）を上回る検体が、オーストラリア産は、14 検体中 2 検体（14.3%）、カナダ産は、48 検体中 5 検体（10.4%）で、89 検体中 7 検体（7.9%）が不合格となった。大腸菌群は、いずれも陰性であった。

微生物叢：以上のような一般細菌汚染状態を示す脱脂粉乳の微生物叢について、その菌数および検出頻度について検討した結果を Table 2~5 に示した。

脱脂粉乳 89 検体の微生物叢は、Table 2 に示すごとく、*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus* spp., *Micrococcus luteus*, *Streptococcus faecium* が高頻度に分布しており、*Bacillus*, *Micrococcus*, および *Streptococcus* が主要菌叢であった。また輸出国別に主な菌叢を比較したところ、Table 3~Table 5 に示したごとく、各輸出国の検体から共通して分離された菌種は、*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* var. *my-*

coides, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., であり、国別による微生物叢の違いは、ほとんど認められなかった。嫌気性菌は、全く検出されなかった。

以上の成績から、特に注目されたのは、食中毒起因菌となりうる *Bacillus cereus* が高率に検出され、*B. cereus* var. *mycoides* を含めると、89 検体中 70 検体（78.7%）から検出されたことである。*Bacillus cereus* の汚染については、寺山ら¹²⁾、楠ら¹³⁾が本菌の汚染状況を詳細に調査した市販食品中で最も高率であった豆腐の 66.1%、56.0% より高い汚染率を示した。しかし、今回の輸入脱脂粉乳は、工場別、バッチ別およびロット別の仕分けが困難であったために同一ロットの検体を数検体、検査している可能性があり、この成績からいちがいに脱脂粉乳は *Bacillus cereus* による汚染が高いとは断定できない。*Bacillus cereus* は、主と

Table 4. Microbial flora in 27 samples of skim milk powder imported from New-Zealand

Microorganisms	No. of positive samples (%)	Bacteria counts of per gram				
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	10^6
<i>Bacillus cereus</i>	5 (18.5)	4	1			
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	1 (3.7)	1				
<i>Bacillus subtilis</i>	12 (44.4)	11	1			
<i>Bacillus licheniformis</i>	7 (25.9)	7				
<i>Bacillus megaterium</i>						
<i>Bacillus circulans</i>	7 (25.9)	6	1			
<i>Bacillus pumilus</i>						
<i>Bacillus firmus</i>						
<i>Bacillus</i> spp.	5 (18.5)	5				
<i>Lactobacillus casei</i>						
<i>Lactobacillus</i> spp.						
<i>Corynebacterium</i> spp.						
<i>Micrococcus luteus</i>	3 (11.1)	3				
<i>Micrococcus varians</i>						
<i>Micrococcus</i> spp.	1 (3.7)	1				
<i>Streptococcus faecium</i>						
<i>Streptococcus thermophilus</i>						
<i>Streptococcus bovis</i>						
<i>Streptococcus</i> spp.	4 (14.8)	4				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (3.7)	1				
Yeast						
Mold						
Unknown (gram positive bact.)	2 (7.4)	2				

して土壌や植物に広く分布し、食品の腐敗菌として古くから知られており、特に殺菌牛乳およびクリーム腐敗に関与し、そのクリームは、“bitty cream”と呼ばれている。したがって、本菌が汚染している粉乳を使用して製造された水分活性の低い生菓子類、スープ類、調理パンなどで、しかも製造工程中に十分な加熱工程のない食品の場合、その食品の腐敗、変敗に影響を与えることが考えられる。

また、*Bacillus cereus* は、食中毒細菌として最近再び注目されはじめた。本菌による食中毒は、1950年に Hauge¹⁴⁾ が報告したのが最初であり、1970 年代になって西欧諸国¹⁵⁻¹⁸⁾、特にイギリス¹⁵⁻¹⁷⁾ において数多く報告されている。

わが国では、1961 年、鈴木ら^{19,20)} の報告を最初として、いくつかの報告²¹⁻²³⁾ があり、1975 年以降、品川ら²⁴⁾、坂口ら²⁵⁾、坂井ら²⁶⁾ の報告がある。なかでも品川ら²⁴⁾ の給食牛乳での本菌によると疑われた食中毒

の報告は、鈴木らが、かつてカナダ産脱脂粉乳による原因不明食中毒 (*Bacillus cereus* が純培養に 1×10^3 前後検出された) が発生した際、本菌による疑いが最も濃厚であったと報告していることとを考えると非常に興味のあるところである。

脱脂粉乳は、水分量 5% 以下の乾燥食品であるため、そのままの状態が保持される限り、細菌学的にはあまり問題にならないが、新しい食品が開発され、その原料の 1 つとしていろいろの食品に使用されるにおよび、それらの食品の形態、水分活性、および保存条件などによっては、粉乳中の耐熱性菌の存在は、その食品の安全性、保存性、劣化等に重大な影響をおよぼすことは、十分想像できることである。Powers ら²⁷⁾ は、香辛料中の本菌汚染から他の食品への移行を警告しているが、脱脂粉乳を使用した食品は、香辛料を使用した食品より、ベビーフードなど乳幼児の食品に利用される機会が多いことが考えられるために、起病

Table 5. Microbial flora in 48 samples of skim milk powder imported from Canada

Microorganisms	No. of positive samples (%)	Bacteria counts of per gram				
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	10^6
<i>Bacillus cereus</i>	47 (97.9)	26	11	5	4	1
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	21 (43.8)	8	8	4	1	
<i>Bacillus subtilis</i>	45 (93.8)	25	13	5	2	
<i>Bacillus licheniformis</i>	42 (87.5)	23	13	4	2	
<i>Bacillus megaterium</i>	17 (35.4)	7	6	3	1	
<i>Bacillus circulans</i>	16 (33.3)	6	6	2	2	
<i>Bacillus pumilus</i>	11 (22.9)	4	3	2	2	
<i>Bacillus firmus</i>	8 (16.7)	5	2	1		
<i>Bacillus</i> spp.	18 (37.5)	11	6	1		
<i>Lactobacillus casei</i>	14 (29.2)	8	6			
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 (20.8)	6	4			
<i>Corynebacterium</i> spp.	13 (27.1)	8	3	2		
<i>Micrococcus luteus</i>	35 (72.9)	23	7	5		
<i>Micrococcus varians</i>	11 (22.9)	6	3	2		
<i>Micrococcus</i> spp.	7 (14.6)	4	2	1		
<i>Streptococcus faecium</i>	31 (64.6)	23	7	1		
<i>Streptococcus thermophilus</i>	14 (29.2)	5	6	3		
<i>Streptococcus bovis</i>	4 (8.3)	2	2			
<i>Streptococcus</i> spp.	11 (22.9)	5	4	2		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14 (29.2)	5	6	3		
Yeast	4 (8.3)	3	1			
Mold	2 (4.2)	2				
Unknown (gram positive bact.)	7 (14.6)	2	3	2		

性の疑いのある菌種については、成分規格の中に許容量を定めるべきであると考ええる。そこで、脱脂粉乳の細菌学的成分規格については、生菌数 5 万以下と大腸菌群陰性に加えて、*Bacillus cereus* を含めた有芽胞菌の菌数設定を考慮することが必要と思われる。

要 約

輸入脱脂粉乳（オーストラリア、ニュージーランド、カナダ産）89 検体の微生物叢を検討した結果、菌数は、 $\leq 10^2 \sim 10^6$ の範囲にあり、その主要菌叢は、*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus circulans* および *Bacillus* spp. であった。その他の菌叢としては、*Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus firmus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus varians*, *Micrococcus* spp., *Streptococcus ther-*

ophilus, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, Yeast, Mold, および、グラム陽性未同定菌などであった。また、*Bacillus cereus* は、*Bacillus cereus* var. *mycoides* を含めると脱脂粉乳 89 検体中 70 検体 (78.7%) に検出された。

今後、脱脂粉乳由来 *Bacillus cereus* の生物学的性状等と病原性との関連性について、他の食品由来株を含めて検討すべきであると考ええる。

文 献

- 1) 日本乳製品協会編：日本乳業年鑑，P.134 (1977)
- 2) 東京都衛生局編：東京都衛生局報中毒特集報 (1956)
- 3) 厚生省環境衛生局食品衛生課編：全国食中毒事件録，P.45 (1960)
- 4) 厚生省食品衛生課，食品化学課，乳肉衛生課編：

- 食品衛生関係法規集①, P. 772 (1979) 中央法規出版
- 5) 光岡知足：モダンメディア, 4, 171 (1970)
 - 6) 光岡知足：感染症誌, 45, 406 (1971)
 - 7) S.T. Cowan, K.J. Steel：医学細菌同定の手引き, 第2版 (1974) 近代出版
 - 8) R.E. Buchanan, N.E. Gibbons：Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Ed. (1974) The Williams & Wilkins Company
 - 9) 東 量三：ニューフードインダストリー, 4, (9) 67 (1962)
 - 10) 東 量三：ニューフードインダストリー, 4, (10) 61 (1962)
 - 11) 光岡知足：臨床検査, 18, 1163 (1974)
 - 12) 寺山 武, 新垣正夫, 山田澄夫, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 坂井千三：第 33 回日本食品衛生学会講演要旨, P. 31 (1977)
 - 13) 楠 淳, 池島伸至, 新井輝義, 神真知子, 入倉善久, 友成正臣, 伊藤 武, 坂井千三：東京都衛研年報, 28, 11 (1977)
 - 14) J.M. Goepfert, W.M. Spira, H.U. Kim：J. Milk Food Technol., 35, 213 (1972)
 - 15) P.R. Mortimer, G. McCann：Lancet, 1, 1043 (1974)
 - 16) R.J. Gilbert, M.F. Stringer, T.C. Peace：J. Hyg. Camb., 73, 433 (1974)
 - 17) R.J. Gilbert, J.M. Parry：J. Hyg. Camb., 78, 69 (1977)
 - 18) M. Raevuori, T. Kiutamo, A. Niskanen, K. Salminen：J. Hyg. Camb., 76, 319 (1976)
 - 19) 鈴木 昭：乳技協資料, 399, 59 (1961)
 - 20) 鈴木 昭, 河西 勉：衛生試報, 79, 195 (1961)
 - 21) 田村利勝, 紺野哲郎, 白石圭四郎, 大長記興：日本公衛誌, 12, 945 (1965)
 - 22) 田村利勝：メディアサークル, 11, 115 (1966)
 - 23) 下内啓万, 貴田正義, 西尾隆昌, 井上 豊：兵庫県衛生研究所研究報告, 6, 1 (1971)
 - 24) 品川邦汎, 石橋正憲, 山本博之, 国田信治：大阪府公衛研所報, 食品衛生編, 6, 7 (1975)
 - 25) 坂口玄二, 品川邦汎：大阪府食品衛生課, 大阪府獣医師会, 講演集 (1977)
 - 26) 坂井千三, 伊藤 武, 斉藤香彦, 丸山 務, 柳川義勢, 新垣正夫, 寺山 武：感染症誌, 52, 39 (1978)
 - 27) E.M. Powers, T.G. Latt, T. Brown：J. Milk Food Technol., 39, 668 (1976)

薬物性腎障害の生化学的検索に関する研究

I) puromycin aminonucleoside および mercuric chloride

投与による尿中酵素活性の変化

大野泰雄・川西 徹・高橋 惇・大森義仁

Biochemical studies of chemically induced renal damage

I) Changes of urinary enzyme activities induced by puromycin aminonucleoside and mercuric chloride

Yasuo OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKAHASHI
and Yoshihito OMORI

Renal glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside (75 mg/kg) caused severe proteinuria from 4 days after the intravenous injection. This was correlated with the marked increase in urinary lactate dehydrogenase, glutamate oxalate transaminase, glutamate pyruvate transaminase, cathepsin D and alkaline phosphatase (ALP) activities. But slightly increase in the activity of leucine aminopeptidase (LAP) was observed and no increase in γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP) was found.

On the other hand subcutaneous injection of mercuric chloride (0.4 mg/kg, daily for ten days) caused slight proximal tubular injury and did not increase urinary protein release. In this case, γ -GTP, ALP and LAP, which were reported to be present in large quantities in renal proximal tubule, were increased in the same degree.

From these results it was suggested that assay of these urinary enzyme activities is useful to detect and to investigate the chemically induced acute renal damage.

(Received May 31, 1979)

薬物による腎障害は有害薬物反応の 1 つであるが、従来より行われている PSP やイヌリン等の尿中へのクリアランスを測る方法や、本来生理的に尿中へ排泄されるクレアチニンや尿素等の血中濃度を測定する方法では腎障害を鋭敏に検索できなかった。これは腎臓にはもともと大きな機能的な余裕がある¹⁾ためである。

最近、尿中に排出される乳酸脱水素酵素やアルカリホスファターゼ、N-Acetyl- β -glucosaminidase などの酵素活性やアイソザイムパターンが化学物質や薬物による腎障害の発生により大きく変化することが知られるようになった^{2,3,4)}。これらの酵素は血清、腎臓、輸尿管等に由来するものである。また腎臓自身非常に分化した構造を有しており、各種酵素の分布にも量的に相違があり^{5,6)}尿中に流出してくる酵素について検討することにより鋭敏に腎障害を検索することができ⁹⁾、また逆に障害部位の推測ができるのではないかと思われる⁷⁾。しかし、今までの尿中酵素に関する研究は主に尿細管に障害を与える物質を用いた場合が多く、糸球体に特異的に作用する物質を用いた例は少なかった。そこで、今回われわれはこの方法を使用し実験動物を用いた薬物性腎障害のスクリーニング法を確立するため、腎糸球体に作用し、激しい蛋白尿をおこす Puromycin aminonucleoside⁸⁾ (Puromycin と略す) を投与し、尿中の各種酵素活性の変化について検討し、腎近位尿細管に障害を与える塩化第 2 水銀 (HgCl₂ と略す) の作用^{4,9)}と比較検討した。

実験方法

ウィスター系雄ラット (9 週齢) を室温 24°C~26°C の動物室で飼育した。薬物は体重 1 kg 当り 5 ml の生理食塩液に溶解し午前 10:00 より午前 11:00 の間に HgCl₂ は 0.4 mg/kg を頸部皮下に 1 日 1 回 25 日間、Puromycin は 75 mg/kg を尾静脈より 1 回投与し、ほぼ 1 日おきに実験開始後 23 日目まで 7 回採尿した。採尿は日本クレア製ラット用代謝ケージに入れ午前 12:00 より翌日の午前 10:00 まで 22 時間、氷冷した遠沈管中に採尿し、1 日尿とした。なお対照群には Tween 80 1% CMC 0.1% 溶液を体重 1 kg 当り 5 ml を 1 日 1 回 10 日間連日経口投与した。最終投与後 24 時間にラットを断頭により殺し流出する血液を集め、血清中各種酵素活性を測定した。尿は 3000 r.p.m. で 10 分間遠心した後その上清をセルロース透析チューブ (Visking Company) 中に入れ、氷冷したイオン交換水中で 1 時間毎に水を交換しながら 3 時間透析した後各種酵素活性を測定した。

結果は同日の対照群の結果と比較し、Student の方法により検定を行った。なお Puromycin 群については対照群より 2 日遅れて実験を開始したため、Puromycin 群の 2, 4, 6, 8 日目の結果はそれぞれ 4, 6, 8, 10 日目の対照群の結果と比較した。測定酵素名、その略語、および活性測定法は以下の如くである。Glutamate oxalate transaminase (GOT): 和光 GOT-UV キット (和光純薬)、Glutamate pyruvate transaminase (GPT): 和光 GPT-UV キット (和光純薬)、Lactate dehydrogenase (LDH): 和光 LDH-UV キット (和光純薬)、Alkaline phosphatase (ALP): アルカリホスファターゼテストワコー (和光純薬)、Leucine aminopeptidase (LAP): ロイシンアミノペプチダーゼ測定試薬 (和光純薬)、 γ -Glutamyl transpeptidase (γ -GTP): γ -GTP テストバック AK (三共製薬)、Cathepsin D: Peters らの方法¹⁰⁾に準じ¹⁴C 標識ヘモグロビンを基質として pH 3.5 で反応させ、TCA 溶液を添加後の上清について、液体シンチレーションスペクトロメーターにて放射活性を測定した。N-Acetyl- β -glucosaminidase (N-Ac- β -Glu): Lea Back らの方法¹¹⁾に準じて、Methylumberiferyl-N-Acetyl- β -glucosaminide を基質として使用し、生成した 4-Methylumberiferone を蛍光法により測定した。蛋白: 牛血清アルブミンを標準とし Lowry らの方法¹²⁾により測定した。クレアチニン: 透析前の尿について Folin-Wu 法¹³⁾で測定した。

試薬

塩化第 2 水銀は岩井化学製 (特級) を使用し、Puromycin aminonucleoside は Nutritional Biochemicals Corporation 製のもの、Methylumberiferyl-N-Acetyl- β -glucosaminide および 4-Methylumberiferone は Sigma 製のものを使用し、他は市販の特級試薬を使用した。

実験結果

1. 対照群における尿中酵素活性

対照群において 10 日目尿 1 ml 当りに存在する酵素活性を採尿後に殺したラット血清中の活性と比較し、Table 1 に示した。LDH, GOT では尿中活性は血清中活性の約 5%, GPT では約 20%, ALP では約 50% であった。一方、LAP は血清の約 1.2 倍、N-Ac- β -Glu が約 2 倍、Cathepsin D は約 9 倍、 γ -GTP は約 800 倍の活性が見られ酵素の種類により著しい差異が認められた。

1 日尿中に現われた総酵素活性を体重 1 kg 当りで計算したものが Table 2 である。これによると LDH,

Table 1. Comparisons of enzyme activities in the serum and urine

	Serum	Urine	Urine/Serum
Lactate dehydrogenase	301±19	16.1±0.7	0.05
Glutamate oxalate transaminase	83.5±4.9	5.51±1.01	0.06
Glutamate pyruvate transaminase	11.6±0.49	2.47±0.48	0.21
Alkaline phosphatase	322±29	158±13	0.49
Leucine aminopeptidase	27.7±3.28	34.6±4.67	1.24
γ -Glutamyl transpeptidase	1.75±0.08	1404±125	802
Cathepsin D	216±14	1998±185	9.25
N-Acetyl- β -glucosaminidase	1.40±0.04	2.68±0.61	1.91

Enzyme activities are expressed as the mean±S.E.M per ml of serum or urine. Urine was collected in ice cold tube for 22 hours and about 24 hours later the rats were killed by decapitation and serum was obtained. The number of rats was 6.

The units of the enzyme activities are as follows;

Lactate dehydrogenase; I.U., Glutamate oxalate transaminase; I.U., Glutamate pyruvate transaminase; I.U., Alkaline phosphatase; nmole of phenol/min, Leucine aminopeptidase; nmole of β -naphthylamine/min, γ -Glutamyl transpeptidase; μ mole of p-nitroaniline/min, N-Acetyl- β -glucosaminidase; nmole of 4-methylumbelliferone/min, cathepsin D; 1000 dpm/min.

GOT, GPT, LAP, ALP については最初に尿を採集した2日目で排出量が多く、4日目以降は1日尿中の酵素活性の平均値はLDHで350~512 I.U./kg, GOTが134~150 I.U./kg, GPTが55~71 I.U./kg, LAPが0.64~0.85 μ mole/min/kg, ALPが3.0~3.7 μ mole/min/kg とほぼ一定した酵素活性が得られた。 γ -GTP, Cathepsin D, N-Ac- β -Glu にはそのような傾向は見られず、10日間を通じ1日尿中への排出量は γ -GTPで33~53 mmole/min/kg, Cathepsin Dが37~62×1000 dpm/min/kg, N-Ac- β -Gluは833~416 mmole/min/kgであった。なお尿量は10日間を通じ体重1kg当り27~32 mlであり、尿中蛋白およびクレアチニン量はそれぞれ体重1kg当り120~167 mg, 34~46 mgでありほぼ一定の値を示した。

2. 塩化第2水銀投与ラットにおける尿中酵素活性
HgCl₂ 0.4 mg/kg/day 投与によりLDH, GOTは2日目より、Table 2で示した同日の対照群と比較し、それぞれ187%, 333%と有意に上昇し、4日目では816%, 405%と更に上昇した(Table 3, Fig. 1)。しかしそれ以降、連続投与にもかかわらず、GOTは活性が更に高くなることはなく、逆に徐々に低下し、10日目では対照群の82%に低下するのに対し、LDHでは6日、8日で一時低下するが14日以降再び増加した。一方、ALPや γ -GTP, Cathepsin Dでは4日目に有意の増加が認められ、それぞれ対照群の143%, 187%および180%であった。しかし6日目以降低下

し、25日まで対照群と差がなかった。なおLAPの場合も4日目に最高になり対照群に比較し207%であった。なおGPTやN-Ac- β -Gluおよび尿量、蛋白、クレアチニンでは著明な増加は見られなかった。

3. Puromycin aminonucleoside 投与ラットにおける尿中酵素活性

Puromycin 75 mg/kgでは投与4日目から蛋白排出量が増加しはじめ同日の対照群に比し6日目で718%8日目で1,186%と増大した(Table 4, Fig. 2)。これとほぼ同期するように尿中酵素活性も増加し、8日目でLDHが1,597%, GOT 1,082%, GPT 803%, Cathepsin D 620%, ALP 480%, N-Ac- β -Glu 382%に達した。一方LAPの上昇はわずか2日目で108%, 4日目で83%, 6日目で159%, 8日目で240%であった。 γ -GTPではこのような場合でも増加は見られず、それぞれ95%, 67%, 33%, 111%であった。なおクレアチニン排出量にも増加は見られなかった。それ以後、尿中蛋白は12日、16日と増加が持続し、23日になって減少したが、なお630 mg/kg/dayとかなり多かった。LDH, GOT, GPT, ALP, Cathepsin D, N-Ac- β -Gluの場合も蛋白の場合と同様に12日、16日は増加が持続したが、23日には低下し、まだ薬物の作用の認められないPuromycin群2日の結果と比較し、それぞれ172%, 247%, 143%, 89%, 97%, 63%になった。一方、LAP, γ -GTPではこの時期も他の酵素のような著明な変化が見られなかった。

Table 2. Total urinary enzyme activities released in a day from control rats

	Number of days after commencement of the experiment				
	2	4	6	8	10
Lactate dehydrogenase	876±122	512±20	417±79	350±55	453±84
Glutamate oxalate transaminase	211±19	147±13	141±23	134±16	150±40
Glutamate pyruvate transaminase	108.7±15.6	66.9±5.7	71.8±13.0	59.7±2.8	55.4±7.2
Alkaline phosphatase	4.58±0.17	3.30±0.26	3.08±0.60	3.76±0.51	3.35±0.03
Leucine aminopeptidase	1.02±0.28	0.82±0.22	0.85±0.22	0.74±0.13	0.64±0.12
γ -Glutamyl transpeptidase	40.4±6.7	43.5±5.8	53.8±12.7	44.7±7.4	33.8±5.6
Cathepsin D	50.4±3.4	37.6±5.5	51.6±4.6	50.9±4.1	62.7±7.1
N-Acetyl- β -glucosaminidase	346±42	233±30	416±24	399±28	324±32
Urinary output	32.4±2.8	28.2±2.9	30.3±5.7	27.2±1.3	27.2±3.1
Protein	167±17	129±12	120±20	165±8	122±4
Creatinine	46.2±5.4	42.5±3.7	34.9±6.1	36.0±0.3	42.7±4.9

Enzyme activities are expressed as the mean±S.E.M. per kg of body weight released in 22 hours.

The number of rats was 5.

The units of the enzyme activities are as follows;

Lactate dehydrogenase; I.U., Glutamate oxalate transaminase; I.U., Glutamate pyruvate transaminase; I.U., Alkaline phosphatase; μ mole of phenol/min, Leucine aminopeptidase; μ mole of β -naphthylamine/min, γ -glutamyl transpeptidase; mmole of p-nitroaniline/min, cathepsin D; 1000 dpm/min, N-acetyl- β -glucosaminidase; nmole of 4-methylumbelliferone/min.

Urinary output; ml/kg body weight, creatinine and protein; mg/kg body weight.

考 察

Puromycin aminonucleoside は投与初期糸球体に限局した障害をおこし、蛋白尿をおこすことが知られている⁹⁾。また今回使用したラットにおいてもこの薬物により、糸球体に限局された変化が生じ、foot process の著明な融合が見られた(鈴木ら、未発表データ)。この場合の尿中排出酵素パターンの特徴は尿中蛋白の4日目からの急激な上昇と、それに相関して各種酵素活性の上昇が見られるが、近位尿細管の障害で増加するといわれる LAP^{4,14)} の上昇はわずかであり、また近位尿細管刷子縁に多量に存在する γ -GTP¹⁵⁾ の上昇が見られないことであった。このことは HgCl₂^{4,9)} のように近位尿細管の障害をおこすものでは、今回の結果で示したように障害が弱く蛋白尿の

見られないときでも γ -GTP や LAP の活性上昇が見られることと比較し興味深い。一方、Pillion ら(1976)¹⁵⁾ は酵素の含まれていない栄養液で腎を灌流した場合でも尿中に γ -GTP が現われることを報告しており、また腎組織 10,000×g 上清分画中には肝の約500倍に相当する強い γ -GTP 活性があり(未発表データ)、また尿中には血清の約800倍の活性が存在することを考慮すると尿中の γ -GTP が主に腎組織に由来するものであり、近位尿細管に障害がおきたときに特に強く遊離されてくるものと思われる。

一方、ALP は曲尿細管上皮細胞に多く存在し⁹⁾ Uranyl nitrate で近位曲尿細管に障害をおこした時に増加することが示されている¹⁶⁾。また、Ellis ら(1973)⁴⁾ は犬に HgCl₂ を投与した実験で尿中の ALP, acid phosphatase, N-Ac- β -Glu, β -glucuronidase

Table 3. Effects of daily doses of mercuric chloride (0.4 mg/kg) on the urinary enzyme activities released in a day

	Number of days after commencement of the experiment									
	2	4	6	8	10	14	18	25		
Lactate dehydrogenase	1636±263 ^{a)}	4178±983 ^{b)}	980±247	1261±341	911±275	5168±419	3436±799	1372±167		
Glutamate oxalate transaminase	703±168 ^{a)}	595±171 ^{a)}	280±39 ^{a)}	390±91	124±20	177±12	305±100	179±47		
Glutamate pyruvate transaminase	93±17	79±5	105±15	69±14	60±10	62±7	41±4	73±20		
Alkaline phosphatase	2.96±0.21 ^{d)}	4.73±0.40 ^{a)}	3.73±0.38	3.07±0.35	3.01±0.35	1.53±0.11	1.43±0.09	2.44±0.12		
Leucine aminopeptidase	0.41±0.03	1.70±0.39	0.74±0.06	0.81±0.10	0.50±0.06	0.47±0.05	0.59±0.12	0.26±0.05		
γ-Glutamyl transpeptidase	19.0±1.7 ^{c)}	81.5±9.3 ^{b)}	67.7±3.7	52.3±2.9	42.3±3.5	29.5±1.94	36.5±6.0	21.3±1.76		
Cathepsin D	35.4±2.6 ^{c)}	67.5±8.5 ^{a)}	75.3±12.9	93.6±7.87	93.4±16.0	74.9±4.7	66.8±11.6	47.1±2.6		
N-Acetyl-β-glucosaminidase	221±31 ^{c)}	296±17	284±34 ^{c)}	248±13.2	202±24 ^{c)}	218±12	194±32	138±11		
Urinary output	25.4±1.5	25.5±1.0	32.1±5.5	35.0±4.4	32.2±4.6	32.0±4.4	29.1±2.6	27.2±1.5		
Protein	141±14	146±13	116±5	115±4 ^{d)}	106±8	178±7	167±16	139±2		
Creatinine	49.5±5.4	40.4±2.9	46.2±1.5	44.6±1.2 ^{b)}	41.5±2.3	48.0±1.9	45.1±2.4	42.4±1.7		

Drugs were administered subcutaneously daily. The number of rats was 5.

Enzyme activities are expressed as in Table 2.

a), b), c) and d) indicate that the results are significantly different from control results of the same day.

a) and b); higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$ respectively.

Table 4. Effects of single injection of puromycin aminonucleoside (75 mg/kg) on the urinary enzyme activities

	*Number of days after commencement of the experiment						
	2	4	6	8	12	16	23
Lactate dehydrogenase	678±59 ^{a)}	519±77	5203±613 ^{b)}	7235±1913 ^{a)}	10498±3016	5786±1272	1167±193
Glutamate oxalate transaminase	145±1	329±77 ^{a)}	2699±237 ^{b)}	1624±317 ^{b)}	2130±556	1628±149	359±109
Glutamate pyruvate transaminase	78±12	102±28	330±75 ^{a)}	445±99 ^{a)}	435±196	317±61	112±50
Alkaline phosphatase	1.95±0.22 ^{a)}	2.45±0.39	16.9±3.6	16.1±3.6 ^{a)}	8.71±2.19	6.36±0.61	1.74±0.20
Leucine aminopeptidase	0.89±0.12	0.71±0.06	1.18±0.13	1.54±0.54	1.15±0.25	1.37±0.18	1.44±0.37
γ -Glutamyl transpeptidase	41.6±6.9	36.3±4.1	14.8±5.2 ^{c)}	37.8±9.0	33.7±6.5	40.1±5.1	57.8±8.8
Cathepsin D	44.7±10.9	39.1±6.5	144±23	389±96 ^{a)}	269±76	164±11	43.8±6.1
N-Acetyl- β -glucosaminidase	281±13	335±29	905±137 ^{a)}	1239±249 ^{a)}	873±183	513±55	178±21
Urinary output	26.5±3.5	24.5±1.2	32.8±4.5	58.2±11.5	46.7±10.0	36.7±3.7	19.8±2.8
Protein	116±4	336±70	1185±95 ^{b)}	1448±225 ^{b)}	1994±388	1666±153	630±72
Creatinine	25.8±7.9 ^{a)}	43.0±1.3	36.2±2.2	46.7±5.1	63.5±7.7	54.5±3.2	28.5±4.7

Drugs were administered intravenously at the day 1. The number of rats was 4.

Enzyme activities are expressed as in Table 2.

a) —d) indicate the same as in Table 3.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); Significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

*; This experiment started 2 days after the experiments of Table 2 and Table 3, and so the results are compared with the control data of 2 days later.

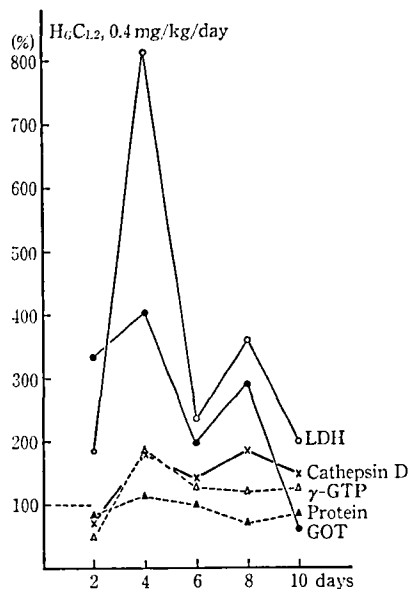


Fig. 1. Changes of urinary enzyme activities of rats receiving the daily subcutaneous injection of mercuric chloride (0.4 mg/kg)

Ordinate; released enzyme activity, % of control results of the same day

Abscissa; number of days after commencement of the experiment

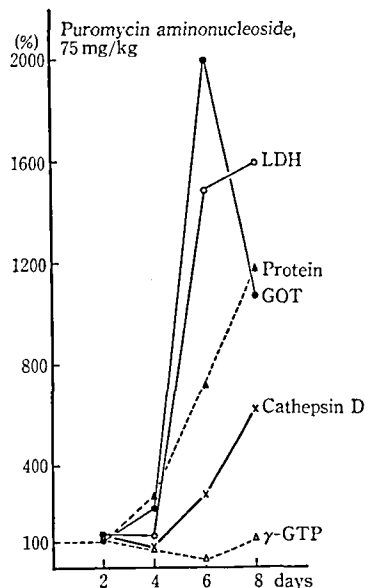


Fig. 2. Changes of urinary enzyme activities of rats receiving the single intravenous injection of puromycin aminonucleoside (75 mg/kg).

Ordinate; released enzyme activity, % of control results of the same day

Abscissa; number of days after commencement of the experiment

等を測定した所、ALP が最も低用量の HgCl_2 投与によっても上昇が見られることから、近位尿細管障害の指標として ALP が最も感受性が高いと述べているが、今回の結果で見ると血清中には尿中の約2倍の活性があり、また Puromycin による糸球体障害により強く上昇したことから腎障害時血清由来 ALP により、尿中活性が大きく変化する可能性があり、これのみをもって近位尿細管障害の指標とすることはできない。

一方、LDH や GOT は HgCl_2 と Puromycin のいずれでも障害の発生した初期から大きな上昇が観察された。これらは尿に比較し血清中に10倍以上の活性が存在し、血清由来のものが尿中に現われた可能性があるが、Pojer ら (1960)¹⁷⁾ はヒトで血清中 LDH 濃度が高い時でも尿中への排出量が変らないことを示しており、また Kemp ら (1960)¹⁸⁾ はラットに結晶化した酵素を投与しても尿中酵素活性は増加しないことを示しており、腎機能が正常の場合には血清中の酵素活性の上昇が直接的に尿中酵素活性を変化させることはないように思われる。またリソゾーム酵素である

N-Ac-β-Glu¹⁹⁾ や Cathepsin D²⁰⁾ の排出は腎乳頭部に限局された壊死のおこるような条件下で特異的に上昇することが示されている。以上、LDH, GOT の尿中活性の上昇は腎糸球体および近位尿細管のいずれの障害においても著明であり、また尿中蛋白や近位尿細管に多く存在する ALP, LAP, γ-GTP, またリソゾーム由来の酵素である N-Ac-β-Glu や Cathepsin D の尿中活性を測定し比較検討することにより障害部位の推定ができるように思われる。

本研究は一部、厚生省特別研究費国庫補助金の援助を受けた。

文 献

- 1) Schonfield : *J. Am. Med. Assoc.*, 193, 618 (1965)
- 2) W.P. Raab : *Clin. Chem.*, 18, 5 (1972)
- 3) D. Robinson *et al.* : *Biochem. J.*, 102, 533 (1967)
- 4) B.G. Ellis *et al.* : *Chem.-Biol. Intr.*, 7, 101 (1973)
- 5) P.J. Wright *et al.* : *Enzymologia*, 42, 317

- (1972)
- 6) B.G. Ellis, R.G. Price : *Chem. Biol. Intr.*, **11**, 473 (1975)
- 7) B.G. Ellis *et al.* : *Biochem. Soc. Transactions*, **1**, 995 (1973)
- 8) K. Koi *et al.* : *J. Toxicol. Sci.*, **4**, 1 (1979)
- 9) R.C. Cottrell *et al.* : *Food Cosmet. Toxicol.*, **14**, 593 (1976)
- 10) J.J. Peters *et al.* : *J. Exp. Med.*, **136**, 1117 (1972)
- 11) D.H. Lea Back *et al.* : *Biochem. J.*, **78**, 151 (1961)
- 12) O.H. Lowry *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- 13) R.W. Bonsnes & H.H. Tanssly : *J. Biol. Chem.*, **158**, 581 (1945)
- 14) W.P. Raab : *Clinica Chem. Acta*, **29**, 451 (1970)
- 15) J.D. Pillion *et al.* : *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 913 (1976)
- 16) C. Breedis *et al.* : *J. Arch. Pathol.*, **36**, 402 (1943)
- 17) J. Pojer *et al.* : *Rev. Fr. Etud. Clin. Biol.*, **5**, 919 (1960)
- 18) E. Kemp & T. Lansen : *Scand. J. Clin. Lab. Invest*, **12**, 463 (1960)
- 19) B.G. Ellis, R.G. Price *et al.* : *Biochem. Soc. Trans.*, **1**, 995 (1973)
- 20) 大野泰雄, 川西 徹, 高橋 惇, 大森義仁 : 衛生試験報 : **97**, 56 (1979)

薬物性腎障害の生化学的検索に関する研究

II) Indomethacin および Phenylbutazone 投与による 尿中酵素活性の変化

大野泰雄・川西 徹・高橋 惇・大森義仁

Biochemical studies of chemically induced renal damage

II) Change of urinary enzyme activities induced by Indomethacin and Phenylbutazone

Yasuo OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKAHASHI
and Yoshihito OMORI

Single large dose of indomethacin (75 mg/kg, p.o.), which is reported to cause renal papillary necrosis, increased the urinary cathepsin D activity within a day of administration. But lactate dehydrogenase (LDH), glutamate oxalate transaminase (GOT), alkaline phosphatase (ALP), leucine aminopeptidase (LAP) γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP), and N-acetyl- β -glucosaminidase activities released in the urine did not increase. Daily oral dose of indomethacin (2 or 4 mg/kg) also increased the urinary cathepsin D activity after 6 or 8 days of treatment. On the other hand frequent administration of indomethacin (2 mg/kg, twice a day for 10 days) increased both LDH and GOT activities from the beginning of the experiment.

Daily oral administration of phenylbutazone (75, 150 and 300 mg/kg), which was also reported to cause papillary necrosis, resulted in an increase in the activities of urinary γ -GTP, ALP and LAP along with other enzymes studied. The increase in urinary protein release did not correlate with the changes of LDH and GOT activities.

From these results it was suggested that phenylbutazone may cause renal proximal tubular damage.

非ステロイド性抗炎症薬であるインドメタシンやフェニルブタゾンにはリュウマチ性関節炎に、またインドメタシンは更に糸球体腎炎にも広く使われている。他方これらの薬物によりヒトで腎乳頭壊死¹⁾や間質性腎

障害^{2,3)}を引き起こすことが知られており、実験的にもラットにこれらを大量投与することにより急性の乳頭壊死^{4,5)}のおこることが報告されている。しかしこれらの実験は形態学的な研究に限られており、また低

用量を反復投与した報告は少ない。

最近、尿中に排出される種々の酵素活性を測定することにより、簡便にして、しかも鋭敏に腎障害を検索することができ、またある程度障害部位の推定ができるようになった⁶⁻⁸⁾。

そこで今回はインドメタシンおよびフェニルブタゾンを反復投与したときの腎臓への影響について、尿中酵素活性を測定することにより検討した。

実験方法

ウィスター系雄ラット（9週齢）を室温 24°~26°の動物室で飼育した。なお実験1では Tween 80 を 1%, および CMC を 0.1% 含む混液 5 ml にインドメタシン 2 mg, または 4 mg を懸濁させ、体重 1 kg 当り 5 ml, 1 日 1 回 10 日間強制経口投与した。実験2ではインドメタシン 2 mg, または 75 mg を上記混液 5 ml で懸濁させ 2 mg/kg 群では 1 日 2 回 10 日間、また 75 mg/kg 群では 1 回のみ、体重 1 kg 当り 5 ml 強制経口投与した。実験3ではフェニルブタゾン 75 mg, 150 mg, または 300 mg を CMC 2% 溶液 5 ml に懸濁し、体重 1 kg 当り 5 ml, 1 日 1 回 10 日間強制経口投与した。なお対照群には実験1, 実験2では Tween 80 を 1%, CMC を 0.1% 含む混液を、実験3では CMC 2% 溶液をそれぞれ体重 1 kg 当り 5 ml を 1 日 1 回 10 日間強制経口投与した。なお投与は午前 10:00 より 11:00 の間に行った（1 日 2 回投与する場合は更に午後 8:00 より 9:00 の間に投与した）。そして 1 日おきにラットを日本クレア製ラット用代謝ケージに入れ午前 12:00 より翌日の午前 10:00 まで 22 時間氷冷した遠沈管中に採尿し、1 日尿とした。この尿を 3,000 rpm で 10 分間遠心しその上清をセルロース透析チューブ (Visking Company) 中に入れ、氷冷したイオン交換水中で 1 時間毎に水を交換しながら 3 時間透析した後に各種酵素活性を測定した。また、薬物の最終投与後約 24 時間でラットを断頭、採血し、血清中各種酵素活性を測定した。なおデータはすべてラット 1 日尿中に現われた総活性値をもとに計算し同日の対照群の値と比較し、Student の方法により検定を行った。なお実験2のインドメタシン 75 mg/kg 1 回投与群では対照群より 3 日後に投与したため、この 1 日目 3 日目、5 日目の結果はそれぞれ対照群の 4 日目、6 日目、8 日目の結果と比較した。尿中各種酵素活性の測定法については前報⁹⁾にしたがった。それらの略語を以下に示す。Lactate dehydrogenase : LDH, Glutamate oxalate transaminase : GOT, Glutamate

pyruvate transaminase : GPT, Alkaline phosphatase : ALP, Leucine aminopeptidase : LAP, γ -Glutamyltranspeptidase : γ -GTP, N-Acetyl- β -glucosaminidase : N-Ac- β -Glu. 実験2は前に報告した実験⁹⁾と同時に行ったものなので対照群の結果はそれと同じである。

試薬

フェニルブタゾンは藤沢薬品、インドメタシンは住友化学製のものを使用した。Methylumbelliferyl-N-acetyl- β -glucosaminide および 4-Methylumbelliferone は Sigma 製のものを使用し、他は市販の特級試薬を使用した。

実験結果

実験1. インドメタシン 2 mg/kg/day および 4 mg/kg/day の作用

低用量のインドメタシン (2 mg/kg/day) の場合は反復投与によっても体重の増加が幾分抑制されたのみで、対照群に比し有意な差はなかった。一方、4 mg/kg/day のインドメタシンにより、投与開始3日目より体重は有意に抑制され、6日目、7日目、8日目でラットは一匹ずつ死亡した。死亡例の剖検によれば腹水貯留、消化管の漿膜面の絨毛形成が見られ癒着が著しかった。薬物投与開始後 10 日目における臓器重量は肝臓が対照群で体重比 3.9% であり、インドメタシン 2 mg/kg/day 群で 3.9%, 4 mg/kg/day 群で 4.8% であった。また腎臓はそれぞれ 0.81%, 0.82%, および 0.96% であり、肝臓、腎臓重量の体重比はインドメタシン 4 mg/kg/day 投与により増大した。尿量は Table 1~3 に示したように、対照群で体重 1 kg 当り 30 ml 前後でありインドメタシン 2 mg/kg/day では対照群と差がなく、4 mg/kg/day では 4 日目で低下が見られた。

対照群 1 日尿中の酵素活性は Table 1 に示した。

インドメタシン 2 mg/kg/day および 4 mg/kg/day 投与による 1 日尿中の酵素活性への影響はカテプシン D に見られ、8 日目にそれぞれ対照群の 164%, 146% と有意に上昇した。しかし、その他の酵素では対照群に比し有意な増加は見られなかった。一方、4 mg/kg/day 投与により、LAP, γ -GTP は 6 日目、8 日目でそれぞれ対照群の 50~60% に低下した。また LDH, ALP でも 8 日目にそれぞれ対照群の 42.3% および 55.4% に低下した。なお GOT, GPT, N-Ac- β -Glu および蛋白は 8 日間を通じ有意の変化を示さなかった (Table 2, Table 3, Fig. 1, Fig. 2)。

Table 1. Total urinary enzyme activities released from control rats (control for Table 2 and Table 3)

	Number of days after commencement of the experiment			
	2	4	6	8
Lactate dehydrogenase	690±190	466±119	568±60	480±49
Glutamate oxalate transaminase	209±33	133±13	121±11	159±30
Glutamate pyruvate transaminase	103±21	51±4	66±8	73±13
Alkaline phosphatase	4.14±0.44	3.60±0.17	3.20±0.22	4.57±0.44
Leucine aminopeptidase	1.15±0.51	0.89±0.25	0.94±0.12	0.96±0.10
γ -Glutamyl transpeptidase	44.4±10.9	34.1±4.4	27.9±2.22	39.1±2.56
Cathepsin D	54.4±9.9	59.1±4.3	64.0±4.5	56.1±3.4
N-Acetyl- β -glucosaminidase	240±33	222±35	355±32	257±23
Urinary output	33.0±4.5	34.5±5.1	28.8±1.6	28.8±1.5
Protein		161±15	131±5	153±11

Eight male rats were administered p.o. 5 ml/kg of 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as the mean±S.E.M. per kg body weight released in 22 hours.

The units of the enzyme activities are as follows;

Lactate dehydrogenase; I.U., Glutamate oxalate transaminase; I.U., Glutamate pyruvate transaminase; I.U., Alkaline phosphatase; μ mole of phenol/min, Leucine aminopeptidase; μ mole of β -naphthylamine/min, γ -Glutamyl transpeptidase; mmole of p-nitroanilide/min, cathepsin D; 1000 dpm/min, N-acetyl- β -glucosaminidase; nmole of 4-methylumbelliferone/min. Urinary output; ml/kg body weight, protein; mg/kg body weight.

Table 2. Effects of daily doses of indomethacin (2 mg/kg) on the urinary enzyme activities

	Number of days after commencement of the experiment			
	2	4	6	8
Lactate dehydrogenase	452±53	443±67	464±34	492±90
Glutamate oxalate transaminase	158±30	111±10	83±8 ^{a)}	175±35
Glutamate pyruvate transaminase	82±15	68±8	65±15	85±14
Alkaline phosphatase	3.22±0.14	3.57±0.16	3.32±0.28	5.45±1.25
Leucine aminopeptidase	1.17±0.22	0.94±0.19	0.89±0.15	0.89±0.16
γ -Glutamyl transpeptidase	35.7±6.7	38.3±6.2	30.7±3.1	36.7±5.9
Cathepsin D	44.8±2.9	52.2±4.0	81.4±14.9	92.6±11.2 ^{b)}
N-Acetyl- β -glucosaminidase	235±19	236±25	463±155	238±34
Urinary output	32.6±1.5	28.4±2.8	32.2±2.7	33.7±3.5
Protein		172±12	138±4.2	126±9

Eight male rats were administered p.o. indomethacin (2 mg/kg) dissolved in 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a), b), c) and d) indicate that the results are significantly different from control results of the same day.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

Table 3. Effects of daily doses of indomethacin (4 mg/kg) on the urinary enzyme activities

	Number of days after commencement of the experiment			
	2	4	6	8
Lactate dehydrogenase	533±78	404±93	550±173	203±62 ^{d)}
Glutamate oxalate transaminase	166±56	94±17	91±19	100±19
Glutamate pyruvate transaminase	97±23	60±17	44±5	46±11
Alkaline phosphatase	4.67±0.72	3.02±0.45	2.28±0.38	2.53±0.27
Leucine aminopeptidase	1.14±0.24	0.75±0.12	0.49±0.10 ^{c)}	0.47±0.07 ^{c)}
γ-Glutamyl transpeptidase	63.2±6.9	33.1±4.2	16.6±2.9 ^{c)}	23.2±2.8 ^{d)}
Cathepsin D	60.1±7.3	61.8±7.8	92.2±19.0	82.1±6.2 ^{a)}
N-Acetyl-β-glucosaminidase	348±108	202±7	370±15	310±41
Urinary output	37.1±3.9	17.6±2.3 ^{d)}	20.3±3.2 ^{c)}	19.8±3.3 ^{c)}
Protein		110±18	118±21	126±11

Eight male rats were administered p.o. indomethacin (4 mg/kg) dissolved in 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–d) indicate the same as in Table 2. a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

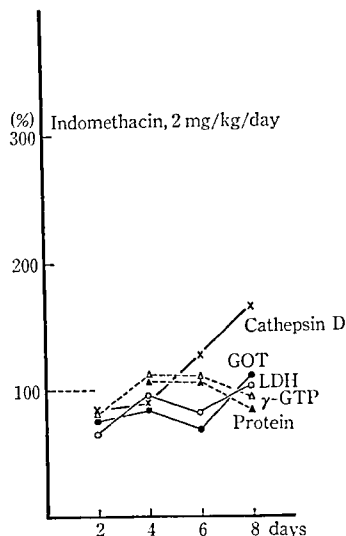


Fig. 1. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the daily administration of indomethacin 2 mg/kg.

Ordinate; released enzyme activity, % of control results of the same day

Abcissa; number of days after commencement of experiment

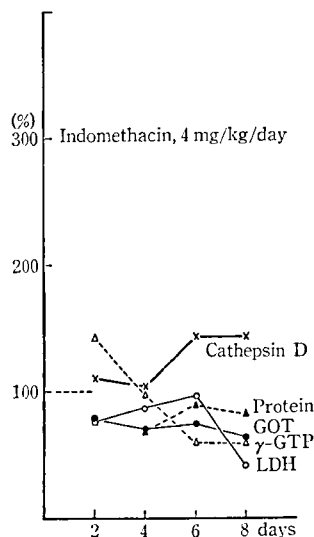


Fig. 2. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the daily administration of indomethacin 4 mg/kg.

Ordinate and abcissa is the same as in Figure 1.

Table 4. Total urinary enzyme activities released from control rats (control for Table 5 and Table 6)

	Number of days after commencement of the experiment				
	2	4	6	8	10
Lactate dehydrogenase	876±122	513±20	417±79	350±55	453±55
Glutamate oxalate transaminase	211±19	147±13	141±23	135±16	151±40
Glutamate pyruvate transaminase	108±15	67±5	71±13	60±3	55±7
Alkaline phosphatase	4.58±0.18	3.30±0.26	3.08±0.61	3.76±0.52	3.35±0.03
Leucine aminopeptidase	1.02±0.28	0.82±0.22	0.85±0.22	0.74±0.13	0.64±0.12
γ -Glutamyl transpeptidase	40.4±6.7	43.5±5.8	53.8±12.7	44.7±7.4	33.8±5.6
Cathepsin D	50.4±3.4	37.6±5.5	51.6±4.6	50.9±4.1	62.7±7.1
N-Acetyl- β -glucosaminidase	347±42	234±30	416±25	400±29	324±33
Urinary output	32.4±2.8	28.9±2.9	30.3±5.7	27.2±1.3	27.2±3.1
Protein	167±17	129±12	120±20	165±8	122±4
Creatinine	46.2±5.4	42.5±3.7	34.9±6.1	36.1±0.3	42.7±4.9

Five male rats were administered p.o. 5 ml/kg of 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

実験 2. インドメタシン 75 mg/kg および 2 mg/kg 1 日 2 回投与の影響

インドメタシン 75 mg/kg 1 回投与によりラットは著明な体重減少を来とし、7 日目までに全例が死亡した。死後剖検によると 4 mg/kg 投与時と同様に強い消化管の癒着、絨毛形成、および腹水貯留が見られた。一方、2 mg/kg を 1 日 2 回投与した場合 8 日目より対照群に比し幾分体重が減少する傾向にあった。尿量は対照群で 10 日間を通じて約 30 ml/kg/day であった。インドメタシン 2 mg/kg 1 日 2 回投与による尿量への影響は少なく、75 mg/kg では投与開始 1 日目で 18.6 ml/kg/day と少なかったが 3 日目で 42.2 ml/kg/day と上昇した (Table 4~6)。

対照群の 1 日尿中の酵素活性の平均値は Table 4 に示した。

インドメタシン 2 mg/kg 1 日 2 回投与群では 2 日目より LDH, GOT, GPT が対照群の 2~3 倍に増加していた。一方、カテプシン D が 8 日目、10 日目で約 2 倍に上昇した。尿中蛋白や γ -GTP, LAP, N-Ac- β -Glu, ALP およびクレアチニンは、10 日間を通じて変化が少なかった (Table 5, Fig. 3)。

インドメタシン 75 mg/kg 1 回投与群ではカテプシン D の上昇が著明であり、一方、LDH, GOT, GPT, 蛋白の変化は少なく、また、 γ -GTP, LAP, ALP で有意な低下が見られた。一方、クレアチニン量も 1 日 3 日、5 日とそれぞれ対照群の 47%, 56%, 38% と低下し、糸球体濾過量の低下が推測された (Table 6, Fig. 4)。

実験 3. フェニルブタゾン 75 mg/kg/day, 150 mg/kg/day および 300 mg/kg/day の作用

フェニルブタゾン 300 mg/kg/day を 10 日間反復経口投与することにより、体重は 75 mg/kg/day 群と 150 mg/kg/day 群で幾分抑制されたが 300 mg/kg 群では対照群とほとんど変らなかった。

対照群の 1 日尿中の酵素活性の平均値は実験 1, 2 の対照群のデータに比し、N-Ac- β -Glu が約 2 倍あった以外、他はすべて約半量の活性しか尿中に現われなかった。

フェニルブタゾン 75 mg/kg/day により尿中酵素活性は全般的に変化が少ないが、対照群の結果が 7 日目、9 日目で低値を示していたため、 γ -GTP では 7 日

Table 5. Effects of daily doses of indomethacin (2 mg/kg, twice a day) on the urinary enzyme activities

	Number of days after commencement of the experiment				
	2	4	6	8	10
Lactate dehydrogenase	1572±261 ^{a)}	1064±164 ^{a)}	664±113	1667±238 ^{a)}	1454±463
Glutamate oxalate transaminase	402±39 ^{b)}	350±25 ^{b)}	288±99	480±130	343±98
Glutamate pyruvate transaminase	285±134	230±75	141±50	163±101	112±48
Alkaline phosphatase	6.43±0.60	3.85±0.26	2.51±0.11	3.58±0.33	3.70±0.35
Leucine aminopeptidase	1.09±0.23	0.81±0.22	0.68±0.18	0.56±0.09	0.38±0.08
γ -Glutamyl transpeptidase	54.0±11.3	44.9±6.6	46.7±7.7	45.6±10.5	31.6±13.4
Cathepsin D	60.7±8.9	52.2±4.8	55.7±5.0	104.4±32.9	140.9±63.3
N-Acetyl- β -glucosaminidase	258±33	248±43	294±36	404±94	319±61
Urinary output	37.7±4.6	29.3±5.6	31.7±6.1	33.5±5.5	40.7±7.9
Protein	173±16	164±14	121±12	157±33	149±28
Creatinine	39.8±3.7	41.6±6.0	30.2±5.6	34.9±5.3	39.0±7.4

Five male rats were administered p.o. indomethacin (2 mg/kg) dissolved in 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution twice daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–d) indicate the same as in Table 2.

a) and b) ; significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d) ; significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

目と9日目に対照群に比較し有意な上昇となった。なお尿中蛋白は1日目、5日目、7日目、9日目で対照群に比較し、それぞれ132%、181%、172%、146%と有意に増加していた (Table 8, Fig. 5)。

フェニルブタゾン 150 mg/kg/day では GOT, LDH, γ -GTP, ALP および LAP の尿中酵素活性量の増加は3日目に最高に達し、それぞれ対照群の356%、253%、234%、303%、208%に達し、以後5日、7日、9日とはほぼ低下の傾向を示した。一方カテプシンD、N-Ac- β -Glu、蛋白の場合は5日目に最高値を示し、それぞれ対照群の395%、207%、306%になった (Table 9, Fig. 6)。

300 mg/kg/day の場合は1日目より尿中酵素活性量の増加がおり、GOT, γ -GTP, LDH、カテプシンDは3日目にピークに達し、それぞれ対照群の436%、413%、393%、284%に達した。これらは5日目に一時低下するが、7日目より再び増加しはじめ、9

日目にはそれぞれ対照群の257%、315%、465%、259%になった。一方、蛋白の排出量は増加しており対照群と比較すると1日目で220%であり、5日目、7日目で391%、384%と最大値を示した (Table 10, Fig. 7)。なおLAPは3日目に最大値288%をとり5日、7日、9日は対照群の約2倍の活性を維持した。N-Ac- β -Gluは蛋白と同様の変化を示し、1日目より179%と上昇し、5日目、7日目でそれぞれ250%、259%となり、9日目に209%に減少した。

尿中へのクレアチニン排出量は75、150、300 mg/kg/day 投与群で3日目で対照群に比し63.1%、85.6%、83.0%であったが、5日、7日、9日では殆んど変化は見られなかった。

10回投与後24時間後に殺したラット血清中 GOT, γ -GTP, N-Ac- β -Glu 活性は150 mg/kg/day 投与群で γ -GTPが56%増加した以外、著明な変化は見られなかった。一方、肝、腎重量は300 mg/kg/day

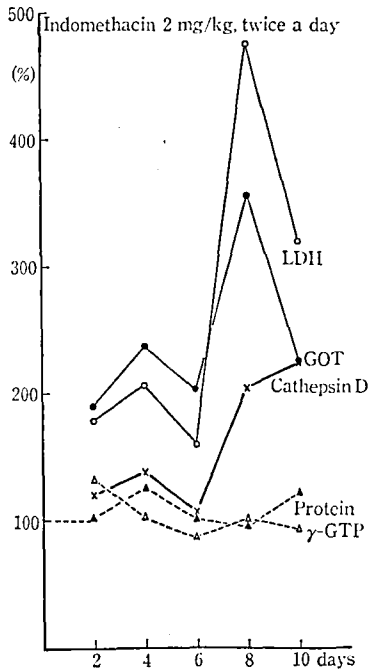


Fig. 3. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the administration of indomethacin 2 mg/kg twice a day.

Ordinate and abscissa is the same as in Figure 1.

群でそれぞれ 127%, 120% に増加した。なお 11 日に殺した個々のラットについて血清中 GOT, γ -GTP, N-Ac- β -Glu 活性をそれぞれ 9 日目の尿中酵素活性と比較したが、相関は見られなかった。

考 察

50 mg/kg 以上の高用量のインドメタシン投与によりラットは腎の退行性変性⁹⁾や乳頭壊死^{4,5)}をおこすことが報告されている。今回の実験では 75 mg/kg 1 回投与でラットは数日のうちに死亡し、このとき尿中への酵素排出は GOT, GPT, LDH の変化は少なくリソゾーム由来の蛋白質分解酵素であるカテプシン D に増加が見られた。また低用量のインドメタシン (2 mg/kg/day, 4 mg/kg/day) ではカテプシン D の 8 日目に有意な上昇が見られたが、その他の酵素では有意な増加は見られなかった。一方, Ellis ら⁹⁾はエチレンイミンで腎乳頭に特異的な壊死をおこした場合、リソゾーム由来の酵素である N-Ac- β -Glu の活性上昇は見られるが LDH や ALP の増加は見られないと報告しており、今回のインドメタシンの結果と比較し興

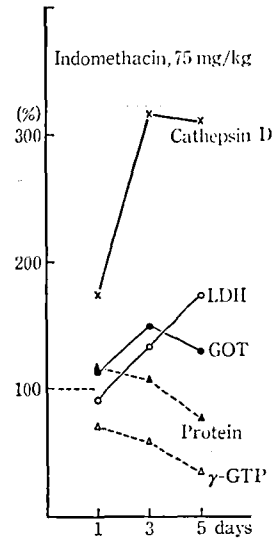


Fig. 4. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the single administration of indomethacin 75 mg/kg.

Ordinate; released enzyme activity, % of control results of the 3 days later (see the legend of Table 6)

Abscissa; number of days after commencement of experiment

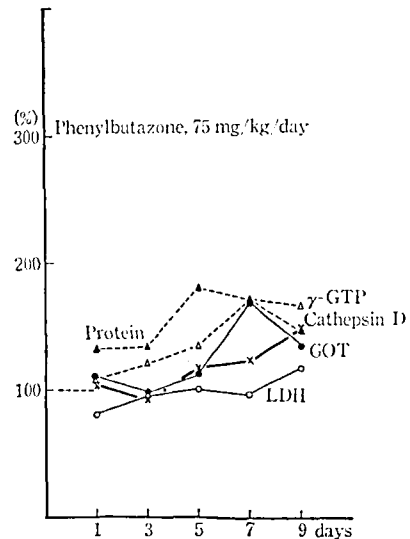


Fig. 5. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the daily administration of phenylbutazone 75 mg/kg.

Ordinate and abscissa is the same as in Figure 1.

Table 6. Effects of single dose of indomethacin (75 mg/kg) on the urinary enzyme activities

	#Number of days after commencement of the experiment		
	1	3	9
Lactate dehydrogenase	496±262	555±150	613±258
Glutamate oxalate transaminase	168±23	212±38	174±65
Glutamate pyruvate transaminase	103±15	100±22	54±22
Alkaline phosphatase	2.14±0.21 ^{d)}	1.96±0.36	1.19±0.49 ^{c)}
Leucine aminopeptidase	0.44±0.11	0.34±0.07	0.23±0.08 ^{c)}
γ -Glutamyl transpeptidase	30.5±7.5	31.7±5.2	15.3±5.2 ^{c)}
Cathepsin D	65.4±14.2	163.3±68.3	158.6±51
N-Acetyl- β -glucosaminidase	271±25	500±76	348±91
Urinary output	18.6±5.7	42.2±14.8	21.8±7.5
Protein	152±18	129±21	128±36
Creatinine	20.0±1.4 ^{d)}	19.5±3.2	13.8±3.4 ^{d)}

Five male rats were administered p.o. indomethacin (75 mg/kg) dissolved in 1% tween 80 in 0.1% CMC aqueous solution.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–d) indicate the same as in Table 2.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

#; This experiment started 3 days after the experiments of Table 4 and Table 5, and so the results are compared with the control data of 3 days later.

Table 7. Total urinary enzyme activities released from control rats (control for Table 8, Table 9 and Table 10)

	Number of days after commencement of the experiment				
	1	3	5	7	9
Lactate dehydrogenase	283±30	233±37	280±45	295±57	230±39
Glutamate oxalate transaminase	59±5	59±5	56±3	56±9	51±4
Alkaline phosphatase	1.88±0.24	1.68±0.19	1.99±0.30	1.70±0.18	2.05±0.30
Leucine aminopeptidase	0.64±0.04	0.29±0.02	0.30±0.04	0.24±0.03	0.20±0.03
γ -Glutamyl transpeptidase	19.4±2.3	19.3±2.6	18.7±2.4	11.6±1.5	11.5±1.6
Cathepsin D	26.9±2.3	26.6±3.8	21.5±2.5	21.3±2.4	21.3±1.3
N-Acetyl- β -glucosaminidase	599±44	531±46	536±80	591±83	589±102
Urinary output	17.3±1.1	17.5±2.0	15.9±2.4	14.4±0.9	19.5±2.6
Protein	80±3	73±6	48±7	48±7	60±5
Creatinine		35.8±5.0	31.2±5.2	29.4±3.2	32.6±2.0

Eight male rats were administered p.o. 5 ml/kg of 2% CMC aqueous solution once daily for ten days. Enzyme activities are expressed as in Table 1.

Table 8. Effects of daily doses of phenylbutazone (75 mg/kg) on the urinary enzyme activities

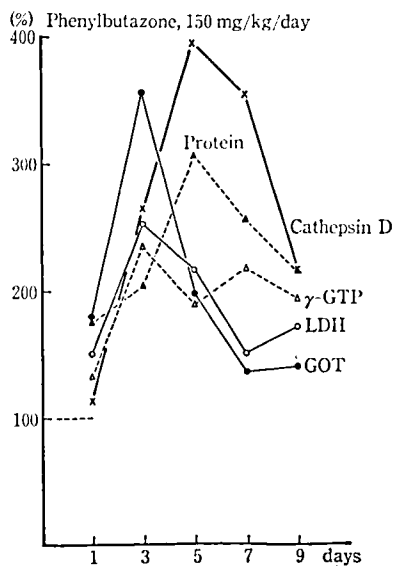
	Number of days after commencement of the experiment				
	1	3	5	7	9
Lactate dehydrogenase	230±44	223±50	285±39	288±47	273±49
Glutamate oxalate transaminase	67±7	58±6	63±9	95±38	69±14
Alkaline phosphatase	1.77±0.28	1.94±0.33	2.99±0.46	3.07±0.70	3.44±0.38 ^{a)}
Leucine aminopeptidase	0.56±0.06	0.30±0.03	0.29±0.03	0.34±0.03	0.24±0.03
γ -Glutamyl transpeptidase	20.8±1.4	23.2±2.5	25.3±2.4	20.1±2.6 ^{a)}	19.3±1.8 ^{b)}
Cathepsin D	28.1±3.4	24.5±3.3	25.5±3.0	26.6±1.8	32.0±3.1 ^{a)}
N-Acetyl- β -glucosaminidase	599±46	523±66	688±111	969±178	735±57
Urinary output	19.0±2.8	18.5±3.7	22.3±4.2	23.6±4.3	26.8±4.3
Protein	106±8 ^{a)}	100±14	87±7 ^{b)}	83±10 ^{a)}	88±8 ^{a)}
Creatinine		22.6±4.0	28.3±2.2	29.8±2.3	29.8±1.5

Eight male rats were administered p.o. phenylbutazone 75 mg/kg dissolved in 2% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–b) indicate the same as in Table 2.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.



味深い。一方、インドメタシンは尿中に排出されやすく投与後短時間のうちに作用が消失する^{10,11)}。そこで低用量 (2 mg/kg) を 1 日 2 回投与した所、尿中に排出される GOT, GPT, LDH の量は 2 日目より上昇した。一方、蛋白や γ -GTP の増加は見られずカテプシン D は 1 日 1 回投与の場合と同様に 8 日目より上昇の傾向が出始めた。

一方、フェニルブタゾンの 50~400 mg/kg 投与によっても腎乳頭壊死がおこることが実験的に雌のラットで示されている^{4,5)} が、今回のわれわれのデータでも、臨床量の約 5 倍の 75 mg/kg/day を雄のラ

Fig. 6. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the daily administration of phenylbutazone 150 mg/kg.

Ordinate and abscissa is the same as in Figure 1.

Table 9. Effects of daily doses of phenylbutazone (150 mg/kg) on the urinary enzyme activities

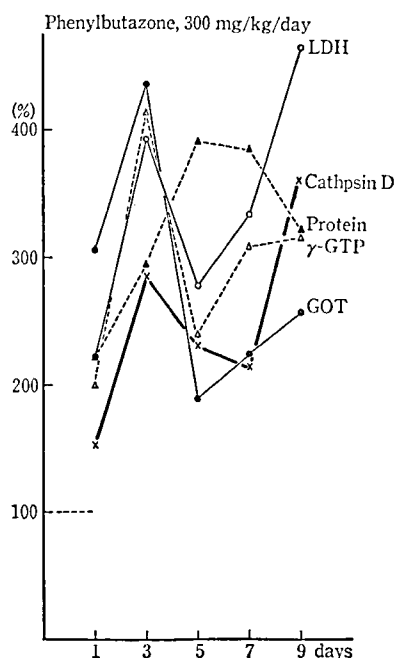
	Number of days after commencement of the experiment				
	1	3	5	7	9
Lactate dehydrogenase	411±26 ^{b)}	592±88 ^{b)}	606±96 ^{a)}	447±98	396±87
Glutamate oxalate transaminase	107±6	211±101	111±32	77±11	70±14
Alkaline phosphatase	2.68±0.26 ^{a)}	5.11±0.87 ^{b)}	4.62±0.47 ^{b)}	3.41±0.35 ^{b)}	4.31±0.22 ^{b)}
Leucine aminopeptidase	0.75±0.11	0.61±0.17	0.56±0.08 ^{a)}	0.43±0.05 ^{a)}	0.32±0.03 ^{a)}
γ-Glutamyl transpeptidase	25.7±2.1	45.3±6.5 ^{b)}	35.5±3.0 ^{b)}	25.3±0.9 ^{b)}	22.3±1.0 ^{b)}
Cathepsin D	30.6±2.7	70.6±12.6 ^{a)}	85.1±33.1	75.6±26.6	46.1±12.1
N-Acetyl-β-glucosaminidase	920±130 ^{a)}	658±73	1114±196 ^{a)}	952±161	829±73
Urinary output	20.5±1.3	34.8±5.3 ^{a)}	30.4±7.7	26.9±3.8 ^{a)}	27.0±5.7
Protein	141±9 ^{b)}	150±10 ^{b)}	147±24 ^{b)}	124±8 ^{b)}	129±17 ^{b)}
Creatinine		30.6±3.2	28.8±4.9	36.8±4.7	29.3±3.3

Eight male rats were administered p.o. phenylbutazone 150 mg/kg dissolved in 2% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–d) indicate the same as in Table 2.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.



ットに反復経口投与したとき対照群と比較し弱いが蛋白や γ -GTP, ALP, Cathepsin D の排出量が有意に増加したことから、腎障害の発生した可能性が示唆される。フェニルブタゾン 150 mg/kg/day では投与3日目に近位尿細管に多く存在し近位尿細管障害のときに上昇の見られる ALP¹²⁾ や LAP¹³⁾ および γ -GTP⁶⁾ の増加が最高に達し近位尿細管障害のおきている可能性が示唆される。なお 300 mg/kg/day のフェニルブタゾン投与群について、その一部を電子顕微鏡下で組織学的に検討した鈴木らの報告¹⁴⁾によれば腎糸球体の変化は弱い、近位尿細管上皮に著しいリソゾームの増殖が見られ、また塩化第2水銀や、メチル水銀投与

Fig. 7. Changes of urinary enzyme activities released in a day by the daily administration of phenylbutazone 300 mg/kg

Ordinate and abscissa is the same as in Figure 1.

Table 10. Effects of daily doses of phenylbutazone (300 mg/kg) on the urinary enzyme activities

	Number of days after commencement of the experiment				
	1	3	5	7	9
Lactate dehydrogenase	630±79 ^{b)}	919±179 ^{b)}	780±217	986±230 ^{b)}	1074±167 ^{b)}
Glutamate oxalate transaminase	183±24 ^{b)}	259±66 ^{a)}	107±16 ^{a)}	126±19 ^{b)}	131±19 ^{b)}
Alkaline phosphatase	1.55±0.39 ^{b)}	9.08±2.16 ^{a)}	6.83±0.84 ^{b)}	5.95±0.43 ^{b)}	5.42±0.25
Leucine aminopeptidase	0.82±0.12	0.84±0.20 ^{a)}	0.55±0.13	0.52±0.09 ^{a)}	0.40±0.06 ^{a)}
γ-Glutamyl transpeptidase	38.6±4.0 ^{a)}	81.0±26.8	44.8±3.6 ^{b)}	35.8±3.5 ^{b)}	36.2±3.1 ^{b)}
Cathepsin D	41.1±3.2 ^{b)}	75.7±17.1 ^{a)}	49.5±7.4 ^{b)}	45.5±6.7 ^{b)}	76.7±22.1 ^{a)}
N-Acetyl-β-glucosaminidase	1058±89 ^{b)}	994±148 ^{a)}	1348±132 ^{b)}	1535±239 ^{b)}	1236±59 ^{b)}
Urinary output	22.4±1.4 ^{a)}	63.6±21.3	42.5±3.7 ^{b)}	44.9±9.1 ^{a)}	52.4±9.6 ^{a)}
Protein	178±15 ^{b)}	216±33 ^{b)}	188±15 ^{b)}	187±6 ^{b)}	192±12 ^{b)}
Creatinine		29.7±0.7	31.0±1.10	35.3±2.9	33.0±1.4

Eight male rats were administered p.o. phenylbutazone 300 mg/kg dissolved in 2% CMC aqueous solution once daily for ten days.

Enzyme activities are expressed as in Table 1.

a)–b) indicate the same as in Table 2.

a) and b); significantly higher than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, c) and d); significantly lower than control at the $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

時に見られるのと同様な滑面小胞体の塊状増生が見られた。一方蛋白排出量の増加が障害の弱い、75 mg/kg のフェニルブタゾン投与群で認められたが、これに対応した他の酵素の増加が認められず特異的に糸球体に作用し、蛋白尿をおこす Puromycin の場合⁶⁾とは異なっていた。また Arnold ら⁵⁾の報告したような腎乳頭壊死による可能性もあるが、同様の報告のなされているインドメタシン⁵⁾やエチレンイミン⁵⁾との間には排出酵素パターンに差があった。これはフェニルブタゾンの作用が腎乳頭にのみ限られているのではないためであると思われ、またフェニルブタゾンの主代謝産物であるオキシフェンブタゾンでは皮質に壊死がおこることが報告されており⁵⁾これと関係しているのかもしれない。

本研究は一部、厚生省特別研究費国庫補助金の援助を受けた。

文 献

- ✓ 1) A. Morales & Steyn : *Arch. Surg.*, 103, 420 (1971)
- 2) 沼尻ら : 第 18 回日本腎臓学会総会 17 (1975)
- ✓ 3) F.P. March *et al.* : *Ann. Rheum. Dis.*, 30, 501 (1971)
- ✓ 4) L. Arnold *et al.* : *Pathology*, 6, 303 (1974)
- ✓ 5) L. Arnold *et al.* : *Pathology*, 8, 135 (1976)
- 6) 大野泰雄, 川西 徹, 高橋 惇, 大森義仁 : 衛生試験 97, 49 (1979)
- ✓ 7) R.C. Cottrell *et al.* : *J. Exp. Med.*, 136, 1117 (1972)
- ✓ 8) B.G. Ellis *et al.* : *Biochem. Soc. Trans.*, 1, 995 (1973)
- ✓ 9) M. Gaetani *et al.* : *Arzneim-Forsch.*, 22, 226 (1972)
- ✓ 10) L.P. Feigen *et al.* : *J. Pharm. Exp. Therp.*, 198, 457 (1976)
- ✓ 11) J.W. Aiken *et al.* : *J. Pharm. Exp. Therp.*, 184, 678 (1973)
- ✓ 12) B.G. Ellis *et al.* : *Chem. Biol. Intr.*, 7, 101

(1973)

13) W.P. Raab: *Clinica Chem. Acta*, 29, 451

(1970)

14) 鈴木ら, 厚生省特別研究, 「薬物性腎障害の発生機序およびその予防, 治療に関する研究」昭和53年度報告書

4種の局所麻酔薬（塩酸塩）の水溶液中における会合体形成

岡田敏史・持田研秀

Aggregation of Four Local Anaesthetics, Salts of Hydrochloride,
in Aqueous Solution

Satoshi OKADA and Kensyu MOCHIDA

To make clear the behavior of four anaesthetics, salts of hydrochloride (A·HCl), as electrolytes in aqueous solution, electric conductivity of their solutions was measured at 25°. At low concentrations all the A·HCl were completely dissociated into each ion and behaved as a strong electrolyte of 1:1 valency type. In a higher concentration up to about 200 mM, a break point was observed on the plot of $\Lambda - \sqrt{c}$ for each A·HCl. This point was appeared to correspond to the critical micelle concentration (cmc) of surface active agents.

From the value of cmc, standard free energy change of the aggregation was calculated. Dibucaine·HCl showed the largest tendency of aggregation, and procaine·HCl did the smallest one. Furthermore, the relationship between the tendency of aggregation and the oil/water partition coefficient was discussed.

(Received May 31, 1979)

多くの薬物のうち適当な疎水性-親水性バランスをもったdiphenylmethane系抗ヒスタミン剤¹⁾, phenothiazine系向精神薬²⁻⁴⁾などの会合体形成がこれまでに報告されている。薬物の会合体形成が直接問題となるのは注射薬製造時であり, この場合浸透圧調節に十分な注意が必要である。例えば神経麻痺, 筋肉拘縮症など注射による医療障害は薬物自身の物理化学的性質とpH, 浸透圧など注射薬の性状とも深い関わりをもつとも考えられており⁵⁾, 薬物の溶存状態を正しく把握しておくことは極めて重要である。さらに, 薬物の会合体形成能を薬物活性の定量的把握のための一つの指標として利用できる可能性もあり, この観点からの追求も必要である⁶⁾。

本報では4種の局所麻酔薬の塩酸塩(A·HCl)が水溶液中で会合体を形成することを導電率測定より明らかにし, 併せてAH⁺イオンの移動度と分子量, 会合体形成機構, cmcと分配係数の関係などにつき考察した。

実験方法

試料 塩酸プロカイン(PC·HCl)は第一製薬より, 塩酸ジブカイン(DBC·HCl)は帝国化学(株)より, 塩

酸テトラカイン(TC·HCl)は田辺製薬より, 塩酸トリカイン(Tolyc·HCl)はバイエル薬品よりそれぞれ供与された。それらの化学構造式をTable 1に示した。

導電率測定 既報⁷⁾に記したと同様に行った。導電率用液はイオン交換水を2回蒸留して用いた。測定温度は25±0.1°である。

結 果

AH⁺イオンの極限当量導電率

10 mM以下の希薄濃度領域におけるPC·HCl, DBC·HCl水溶液の当量導電率 Λ と濃度の平方根 $\sqrt{c}$ の関係をFig. 1に示した。一般に, 1:1型強電解質の希薄溶液では Λ は $\sqrt{c}$ に比例するというOnsagerの極限式(1)が知られている⁷⁾。ここで Λ^0 は無限希

$$\Lambda = \Lambda^0 - (B_1 \Lambda^0 + B_2) \sqrt{c} \quad (1)$$

釈における当量導電率を, B_1 , B_2 は温度および溶媒の誘電率などにより定まる定数であり, 25°の水では $B_1 = 0.2300$ (l/mole)^{1/2}, $B_2 = 60.65$ (cm² ohm⁻¹·equiv⁻¹ (l/mole)^{1/2})である⁸⁾。Fig. 1に $-(B_1 \Lambda^0 + B_2)$ の勾配をもつ実線で示したように Λ の濃度変化は式(1)によりよく表わされPC·HCl, DBC·HClとも

Table 1. Chemical structure of four local anaesthetics

General Name	Molecular Weight	Chemical Structure
Procaine·HCl ^{a)} (PC·HCl)	272.77	
Tetracaine·HCl ^{b)} (TC·HCl)	300.84	
Dibucaine·HCl ^{c)} (DBC·HCl)	379.92	
Tolycaine·HCl ^{d)} (TolyC·HCl)	314.79	

a) Supported by Daiichi Pharm. Co., Ltd.; b) Supported by Tanabe Pharm. Co., Ltd.; c) Supported by Teikokukagaku Co., Ltd., d) Supported by Bayer Pharm. Co., Ltd.
Each local anaesthetic is abbreviated as that in parenthesis.

希薄水溶液中で 1:1 型強電解質として完全解離することが明らかである。これらの直線の濃度→0 への外挿から各 A·HCl の Λ^0 が得られる。TC·HCl, TolyC·HCl についても同様にして Λ^0 が定められた。ここで塩の当量導電率 Λ_{salt} は構成イオンの当量導電率 λ_i の和として表わされ (式 (2)), 25° における $\lambda_{Cl^-} = 76.35^9)$ であるから式 (2) より各麻酔薬イオン

$$\Lambda^0_{A \cdot HCl} = \lambda^0_{AH^+} + \lambda^0_{Cl^-} \quad (2)$$

AH^+ の極限当量導電率 $\lambda^0_{AH^+}$ が求められる。この結果を Table 2 第 2 欄に示した。

AH^+ イオンの会合体形成

AH^+ イオンの会合体形成の有無を検討するため広い濃度範囲 (0–0.2 M) での導電率測定を行った。Fig. 2 に PC·HCl, DBC·HCl 水溶液の $\Lambda - \sqrt{c}$ プロットを示した。Onsager の極限式 (1) は希薄溶液についてしか成立せず、高い濃度領域 (0.05–0.1 M) にまでわたる導電率変化は ion size parameter (a) を導入した式 (3) が用いられる^{3,7)}。B は定数 (0.3291 $\times 10^9 \text{ cm}^{-1} (\text{l/mole})^{1/2}$, 25°)⁸⁾ である。Fig. 2 中の

$$\Lambda = \Lambda^0 - \frac{(B_1 \Lambda^0 + B_2) \sqrt{c}}{1 + B a \sqrt{c}} \quad (3)$$

点線は $a = 4 (\text{\AA})$ として式 (3) より計算した理論線である。屈折点に至るまでの導電率変化はいずれの薬物ともよく理論線にのっており、屈折点以上の濃度で PC·HCl ではゆっくりと、DBC·HCl では急激に理論線から外れてゆく。各 A·HCl の極限当量導電率 Λ^0 に大きな差がないため (Table 2 参照) TC·HCl, TolyC·HCl 水溶液のデータは省略したが、それらの

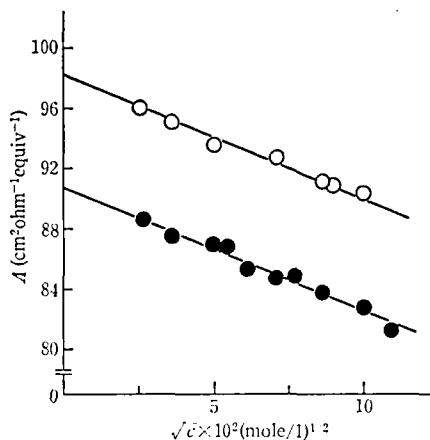


Fig. 1. Equivalent conductivity, Λ , of procaine·HCl and dibucaine·HCl in dilute aqueous solutions

Key : —○—, procaine·HCl; —●—, dibucaine·HCl

Solid line : theoretical line calculated by Eq. (1).

$\Lambda - \sqrt{c}$ プロットは PC·HCl または DBC·HCl のそれと基本的には変わらない。ただ屈折点以上での Λ の変化は TC·HCl, TolyC·HCl のいずれも PC·HCl より急であるが、DBC·HCl にくらべてゆるやかであった。

$\Lambda - \sqrt{c}$ プロットにおける屈折点濃度は界面活性剤溶液における臨界ミセル濃度 (cmc) に相当するものと考えられ、4 種の麻酔薬イオン AH^+ は抗ヒスタミ

Table 2. Estimates of the radii of AH^+ ions from the modified Stokes' law

AH^+	$\lambda_{AH^+}^{a)}$ $cm^2ohm^{-1}\cdot equiv^{-1}$	$r_s^{b)}$ ($\text{\AA}$)	$r_c/r_s^{c)}$	$r^{d)}$ ($\text{\AA}$)	$4/3\pi r^3$ ($\text{\AA}^3$)
PCH ⁺	21.85	4.20	1.11	4.66	420
TCH ⁺	17.65	5.20	1.01	5.25	610
DBCH	14.35	6.39	1.0	6.39	1090
TolyCH ⁺	19.65	4.67	1.05	4.90	490

a) calculated from Eq. (2); b) calculated from Eq. (4); c) correction factor described in the text; d) corrected ionic radii.

AH^+ indicates the protonated form of each local anaesthetic, which is abbreviated as that explained in Table 1.

Table 3. Critical micelle concentration (cmc) and standard free energy change in the aggregation of four local anaesthetics at 25°

Anaesthetics	cmc		$\Delta\bar{G}_m^{a)}$ kcal/mole	$\Delta\bar{G}_m^{b)}$ kcal/mole
	mole/l ($\times 10^2$)	mole fr. ($\times 10^3$)		
Procaine·HCl	10.0	1.80	-3.74	-7.48
Tetracaine·HCl	9.0	1.62	-3.80	-7.61
Dibucaine·HCl	7.3	1.32	-3.93	-7.86
Tolycaine·HCl	8.6	1.55	-3.38	-7.66

a) Calculated from Eq. (8a); b) Calculated from Eq. (8b)

ン剤¹⁾, フェノチアジン系向精神薬²⁻⁴⁾とともに水溶液中で会合体を形成することが明らかとなった。各 A·HCl について得られた cmc をモル濃度およびモル分率単位で Table 3 に示した。

考 察

AH^+ イオンのストークス半径

球形イオンの移動度とイオンの大きさとの間には Stokes 式 (4) の成立することが知られている。ここ

$$\lambda_1^0 = |z_1| F^2 / (6\pi N \eta^0 r) \quad (4)$$

で F は Faraday 定数, N はアボガドロ数, η^0 は媒質の粘度, r はイオン半径, z_1 は荷電数を表わす。前述のように $\lambda_{AH^+}^0$ が得られているので式 (4) より AH^+ イオンの Stokes 半径 r_s が得られる。しかしながら, Stokes 則は大きな粒子あるいはイオンに対して適用されるもので半径 5 $\text{\AA}$ 以下の小さなイオンに対しては補正係数 (r_c/r_s) を掛けてより正しいイオン半径 $r = (r_c/r_s) r_s$ が得られる。ここで r_c は結晶または分子モデルから求めたイオン半径であり tetraalkylammonium 塩をモデル化合物とする (r_c/r_s) $-r_s$ の関

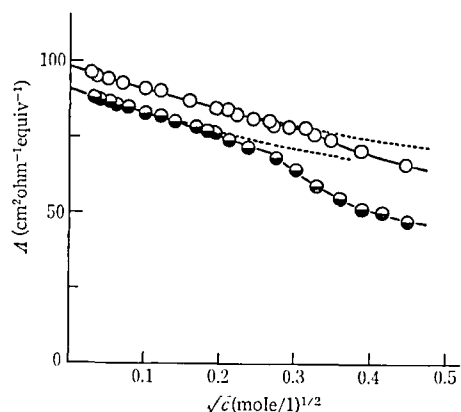


Fig. 2. Equivalent conductivity, Λ , versus square root of molar concentration for procaine·HCl and dibucaine·HCl aqueous solutions

Key: —○—, procaine·HCl; —●—, dibucaine·HCl

Dotted line: theoretical line calculated by Eq. (3), in which ion-size parameter, a , was assumed to be 4 $\text{\AA}$

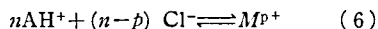
係¹⁰⁾より各 AH^+ の (r_c/r_s) が求められる。こうして得られた r_s , (r_c/r_s) , r およびイオン球の体積 $(4/3 \pi r^3)$ を Table 2 にまとめて示した。一方, Stokes 式 (4) によれば λ_1^0 はイオン半径に反比例するから, イオン球の体積が分子量 MW に比例するものとすれば λ_1^0 は $(MW)^{-1/3}$ に近似的に比例するものと考えられる¹¹⁾。

$$\lambda_1^0 \propto r^{-1} \propto (MW)^{-1/3} \quad (5)$$

AH^+ イオンについてこの関係を Fig. 3 に示した。分子量の小なるイオンほど大きな λ_1^0 をもつという基本的関係は十分満されており, 4 種の AH^+ イオンの構造上の差異 (Table 1 参照) を考慮すれば式 (5) の関係がこれらのイオンの間で成立していると考えられる。Fig. 3 中に記した ■ 印は chlorpromazine ($CPZH^+$; $\lambda_{CPZH^+}^0 = 20.85, 25^\circ$)³⁾ のデータであり AH^+ イオンの $\lambda_{AH^+}^0 - (MW)^{-1/3}$ 関係から大きく外れており, フェノチアジンイオンと AH^+ イオンの構造上の差異が水力学的抵抗の差としてあらわれたものと推測される。なお, diphenylmethane 系抗ヒスタミン剤について式 (5) の関係がよく成立することが別に確認されている¹²⁾。

会合体形成の標準自由エネルギー変化

いま, n 個の AH^+ イオンが $(n-p)$ 個の Cl^- イオンと $(p+)$ の荷電をもつ会合体 M^{p+} を形成するものとすれば, その会合体形成反応は式 (6) によって表わされる。式 (6) の会合体形成反応における標準自由



エネルギー変化 $\Delta \bar{G}_m^0$ は会合数 n の大なる時式 (7) によって表わされる¹³⁾。ここで p/n は会合体からの対

$$\Delta \bar{G}_m^0 = (2-p/n) RT \ln cmc \quad (7)$$

イオンの解離度, R は気体定数, T は絶対温度を表わす。厳密には p/n を定めて $\Delta \bar{G}_m^0$ を求めねばならないが, ここでは $p/n=1$ あるいは $p/n=0$ の両極限をとった時の標準自由エネルギー変化 $\Delta \bar{G}_m^0$, $\Delta \bar{G}_m^{0'}$ を式 (8a, b) より求め Table 3 に示した。各 AH^+

$$\Delta \bar{G}_m^0 = RT \ln cmc \quad (p/n=1) \quad (8a)$$

$$\Delta \bar{G}_m^{0'} = 2RT \ln cmc \quad (p/n=0) \quad (8b)$$

会合体における対イオンの解離度に大きな差がないものとすれば各薬物間で $\Delta \bar{G}_m^0$ または $\Delta \bar{G}_m^{0'}$ に大きな差のないことから会合体構造の類似性が示唆される。しかし $DBCH^+$ の会合性をもっとも大きく, PCH^+ の会合性をもっとも小さいことが $\Delta \bar{G}_m^0$ の大きさから推定される。

Fig. 2 に示した $A-\sqrt{c}$ プロットでは cmc 以上の A の急激な低下が認められない。このような $A-\sqrt{c}$ 曲線は phenothiazine の会合体形成の際にも観察されたことであり³⁾, AH^+ 会合体の会合数が小さく, 対イオンの解離度 p/n が大きいことを意味する。したがって AH^+ 会合体形成の標準自由エネルギー変化は式 (8a) で計算される $\Delta \bar{G}_m^0$ に近い値をもっと推定される。会合体形成機構につきさらに厳密な議論をするためには p/n を定めるとともに標準エンタルピー変化 $\Delta \bar{H}_m^0$, 標準エントロピー変化 $\Delta \bar{S}_m^0$ を求める必要があり, この点についてさらに検討する予定である。

なお, Farhadieh ら¹⁴⁾によれば $DBC \cdot HCl$ 水溶液について凝固点法で求めた cmc は $0.05 M$ と報告しており, 25° における著者らの値 ($0.073 M$) より小さい。すなわち, $0-25^\circ$ における $DBCH^+$ の会合体形成の $\Delta \bar{H}_m^0 < 0$ と考えられ, 式 (6) の反応の右への進行のためにはエントロピー効果だけでなく, エンタルピー的寄与もあるものと推定される。

Cmc と分配係数

ある一連の化合物が同一条件 (温度, 圧力, 溶媒など) の下で会合体形成を行う場合, それらの会合体形成能を近似的に $\log (1/cmc)$ によって表わすことができる。一方, 薬物活性の定量的評価の指標として油/水分分配係数の対数 $\log P$ がしばしば用いられる。自己会合と分配という異なる二つの現象も基本的には対象物質の疎水性-親水性バランスに主として支配されるものと考えられ $\log (1/cmc) - \log P$ の間には一次相関の成立が期待される。

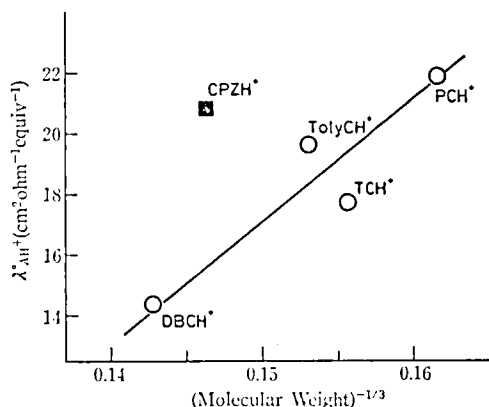


Fig. 3. Relation between limiting equivalent conductivity, $\lambda_{AH^+}^0$, and molecular weight of AH^+ ions

Data of chlorpromazine, $CPZH^+$ (■), was taken from ref. (3).

Abbreviation indicated on each plot was explained in Table 1.

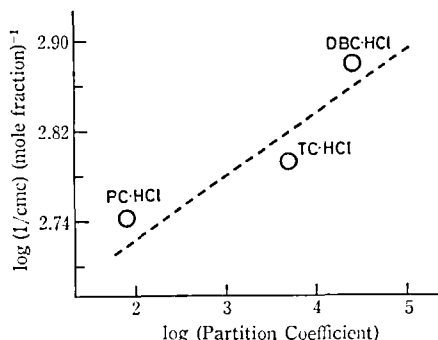


Fig. 4. The plot of $\log (1/\text{cmc})$ versus $\log (\text{Partition Coefficient})$ ^{a)}

a) Between *n*-octanol and water, taken from ref. (15)

Dotted line shows an expected relation.

Abbreviation indicated on each plot was explained in Table 1.

Fig. 4 に PC·HCl, DBC·HCl および TC·HCl のオクタノール/水間の分配係数の対数 $\log P^{15)}$ と $\log (1/\text{cmc})$ の関係を示した。データが十分でなく相関の度合いを議論することはできないが、Fig. 4 に点線で示したように二つの指標の間にパラレルな関係が期待できそうであり、 $\log (1/\text{cmc})$ を $\log P$ と同様に薬物活性の相対的評価のために利用し得る可能性が示唆された。

終りに、本実験の一部に協力していただいた神戸女子薬科大学 村田美千子嬢に感謝いたします。

文 献

- 1) D. Attwood : *J. Pharm. Pharmac.*, **24**, 751 (1972); b) D. Attwood, O.K. Udeala, *ibid*, **26**, 854 (1974); c) *Ibid, idem*, **27**, 395 (1975)
- 2) a) W. Sholtan : *Kolloid-Z.*, **142**, 84 (1955); b) A.T. Florence, R.T. Parfitt : *J. Pharm. Pharmac.*, **22**, Suppl. 121 S (1970); c) *Idem*, *J. Phys. Chem.*, **75**, 3554 (1971); d) D. Attwood, A.T. Florence, J.M.N. Gillan : *J. Pharm. Sci.*, **63**, 986 (1974)
- 3) 中垣正幸, 岡田敏史 : 薬誌, **97**, 495 (1977)
- 4) 中垣正幸, 岡田敏史 : 薬誌, **98**, 82, 744, 1311 (1978)
- 5) 赤石 英, 押田茂実, 高橋由美子, 日本薬学会第 94 年会講演要旨集 (I), p.173 (1974)
- 6) a) P. Mukerjee : *J. Pharm. Sci.*, **63**, 972 (1974); b) 岡田 敏史 : 医薬品研究, **7**, 411 (1976)
- 7) R.A. Robinson, R.H. Stokes : "Electrolyte Solutions", 2nd Ed., Butterworths, London, pp. 133—173 (1959)
- 8) 文献 (7) の p.468
- 9) 電気化学協会編, "電気化学便覧", 丸善, 東京, p.115 (1964)
- 10) 文献 (7) の pp. 118—132
- 11) 岡田敏史, 中垣正幸 : 薬誌, **99**, 677 (1979)
- 12) 岡田敏史, 未発表
- 13) P. Mukerjee : *Adv. Colloid Interface Sci.*, **1**, 241 (1967)
- 14) B. Farhadieh, N.A. Hall, E.R. Hammarlund : *J. Pharm. Sci.*, **56**, 18 (1967)
- 15) A. Leo, C. Hansch, D. Elkins : *Chem. Rev.*, **71**, 525 (1971)

塩酸クロルプロマジン及び塩酸プロメタジンの光分解

橋場茂子・立沢政義・江島 昭

Photodegradation of Chlorpromazine Hydrochloride and Promethazine Hydrochloride

Shigeko HASHIBA, Masayoshi TATSUZAWA and Akira EJIMA

The photodegradation of chlorpromazine hydrochloride and promethazine hydrochloride in water or methanol was studied. After degradation, the products of the isolated compounds with reference compounds, UV, IR and MAS spectral data were compared.

The following compounds identified: chlorpromazine sulfoxide, promazine, promazine sulfoxide, phenothiazine, phenothiazine sulfoxide and 3 H-phenothiazine 3-one.

On an aqueous solution of chlorpromazine hydrochloride under aerobic condition was presented, chlorpromazine sulfoxide was identified.

On an aqueous solution of promethazine hydrochloride under aerobic condition was presented, promethazine sulfoxide, phenothiazine, phenothiazine sulfoxide and 3 H-phenothiazine 3-one was identified.

(Received May 31, 1979)

ま え が き

実 験 方 法

フェノチアジン誘導体は精神安定剤としては用いられ、その種類も数多くある。フェノチアジン環の2位に CF_3 , CN , Cl または SO_2 , CH_3 などの電子吸引基を入れると精神安定作用が強くなり、10位の置換基の種類により、抗ヒスタミン作用が出現することが知られている。したがって側鎖の異った数多くのフェノチアジン誘導体があり一般に光分解を受け易い性質を有している。特に2位に Cl を有するクロルプロマジンには光に対して不安定であり、これの光分解に関する報告が数多くある^{1,3-10)}。また10位の置換基の種類の相異により分解機構が異なり、例えば10位に 2-dialkylaminopropyl 基を有するものは、sulfoxidation または dimerization が主反応となり、3-dialkylaminopropyl 基を有するものは、10位側鎖の分解をともなった反応経路をとることが知られている²⁾。

著者らは、塩酸クロルプロマジン (I) および塩酸プロメタジン (II) の水溶液およびメタノール溶液中における好氣的または嫌氣的条件での光に対する安定性を検討し、さらに分解生成体の確認を行い、これらの分解過程を確めた。

1. 試料

(I) および (II) は局方品を用いた。

2. 装置

光照射は日光精機製薄層クロマトグラフィー用紫外線検出器 (λ_{max} 254 nm および 366 nm の二本のけい光灯) およびうしお電機製光分解装置を使用した。

薄層クロマトグラフィー (TLC) による定量は、pre-coated Kiesel gel 60F₂₅₄ を使い、アセトン-NH₄OH (30:2) を展開溶媒とし、分離したスポットを島津 CS-900 型二波長クロマトスキャナーを用いて測定した。紫外外部吸収スペクトルは日立 EPS 3T 型自記分光光度計、赤外吸収スペクトルは、日立 EPI-G 型赤外分光光度計、また MAS スペクトルは日本電子製 OISG-2 型質量分析計を使用した。

結果及び考察

A. 塩酸クロルプロマジン (I) の光分解

1. 好氣的光分解

(I) の 0.1% 水溶液およびメタノール溶液をガラスセルおよび石英セルに入れ、5~100 分間光照射して経時変化を見た。(I) の残存率は、経時的に各時間における反応液を薄層板にスポットし、二波長クロマ

トスキナーで測定し、それぞれの積分値を求め、未照射体のスポットより得た積分値との比で表した。

照射時間 15 分, 30 分, 70 分および 130 分の各時間における反応液の TLC による分離の結果, 15 分ですでに数々の分解物を認め、スルホキシド (a) に相当するスポットは経変化と共に消失し、プロマジン (b) に相当するスポットの出現を認めた。

(I) の光分解速度は Fig. 1 に示すとおり、水溶液の方がメタノール溶液より早く、メタノール溶液中では石英セルの方が分解が速かであった。水溶液中では分解速度が早い初期に生成したスルホキシドは速かに分解し、紫外吸収スペクトル法 (UV) ではこれに相当する吸収極大 (240, 276, 300, 342 nm) を認めることが出来なかった。

2. 嫌気的光分解

(I) の 0.1% 水溶液およびメタノール溶液をアンブルに入れ窒素置換したのち照射し、経時変化を追跡した。嫌気的分解の場合いづれの溶媒中でも好気的分解に比べて分解が早く、かつ水溶液よりメタノール溶液の方が分解が速であった。

各時間における反応液の TLC による分離、および UV 曲線は好気的分解と異ったパターンを示した。また TLC の結果から本条件ではスルホキサイド (a) のスポットは殆ど認めず、大部分がプロマジン (b) で

あることが確かめられた。

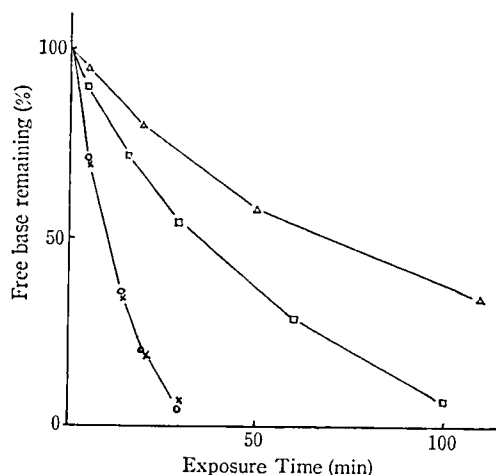


Fig. 1. Photodegradation of chlorpromazine HCl in water or methanol solutions under aerobic condition

(I) $\text{H}_2\text{O} = 2.7 \times 10^{-3} \text{ M}$

(I) $\text{MeOH} = 2.7 \times 10^{-3} \text{ M}$

—○— : in H_2O , glass cell, —×— : in H_2O , quartz cell

—△— : in MeOH, glass cell, —□— : in MeOH, quartz cell

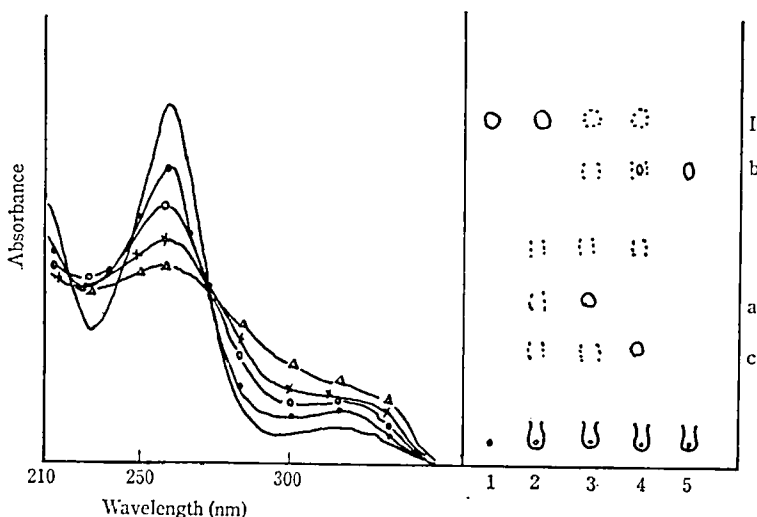


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra and thin-layer chromatograms of irradiated I in water

Irradiation time : — (1) : 0 min, —●— (2) : 15 min, —○— (3) : 30 min, —×— (4) : 70 min, —△— (5) : 130 min

I : Chlorpromazine, a : Chlorpromazine sulfoxide, b : Promazine, c : Unknown

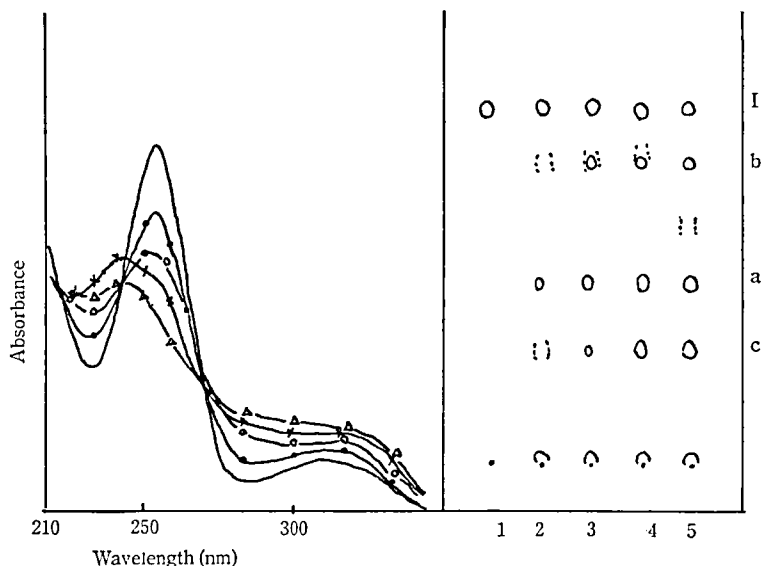


Fig. 3. Ultraviolet absorption spectra and thin-layer chromatograms of irradiated I in methanol

Irradiation time : — (1) : 0 min, —●— (2) : 15 min, —○— (3) : 30 min, —×— (4) : 70 min, —△— (5) : 130 min

I : Chlorpromazine, a : Chlorpromazine sulfoxide, b : Promazine, c : Unknown

各分解条件における反応生成体を確めるため、長時間光分解した溶液を TLC 法で分離し、各分離帯をかき取り、各分解物を単離しそれぞれにつき、IR スペクトルおよび MAS スペクトルを測定した。Table 1 に示すとおり、(I) の分解物 (a) は 239, 277, 302 および 344 nm に $\lambda_{\max}$ を有し、かつ 1010 cm^{-1} に $\nu_{\text{S-O}}$ の吸収を認めることより、(a) はスルホキシド体であると考えられる。また MAS スペクトルで m/e 335 にピークを認めることから分解物 (a) はクロルプロマジンスルホキシドである。分解物 (b) は、UV, IR, および MAS の結果からプロマジンである。分解物 (c) は生成量が少なく、かつ単一のものが得られず確認出来なかったが、塩基性溶媒を用いた TLC の R_f 値が Caude¹³⁾ の報文のクロルプロマジン-N-オキシドに近似の値を示した。

B. 塩酸プロメタジン (II) の光分解

1. 好氣的な光分解

(II) の 0.1% 水溶液およびメタノール溶液につき経時的に分解速度を追跡した結果、いずれの溶媒中でも (I) に比較して分解速度が遅く、かつメタノール溶液の方が分解速度が早い結果を示した。

各時間における反応液をスポットし、TLC で分離した結果、フェノチアジン (b'), 3-H-フェノチアジ

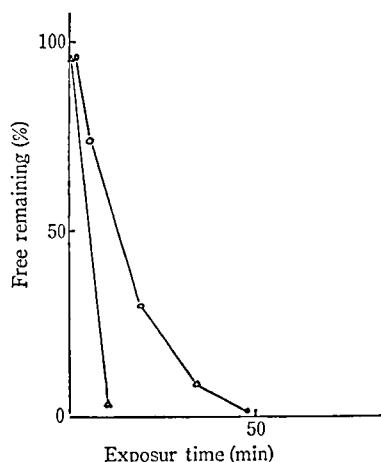


Fig. 4. Photodegradation of I in water or methanol under anaerobic condition

(I) $\text{H}_2\text{O} = 2.6 \times 10^{-3}\text{ M}$

(I) $\text{MeOH} = 2.5 \times 10^{-3}\text{ M}$

—△— : in H_2O , quartz cell

—○— : in MeOH , quartz cell

ン-3-オン (d), フェノチアジンスルホキシド (c') およびプロメタジンスルホキシド (a') に相当するスポットを認めた。

また (I) と同様メタノール溶液の場合、TLC また

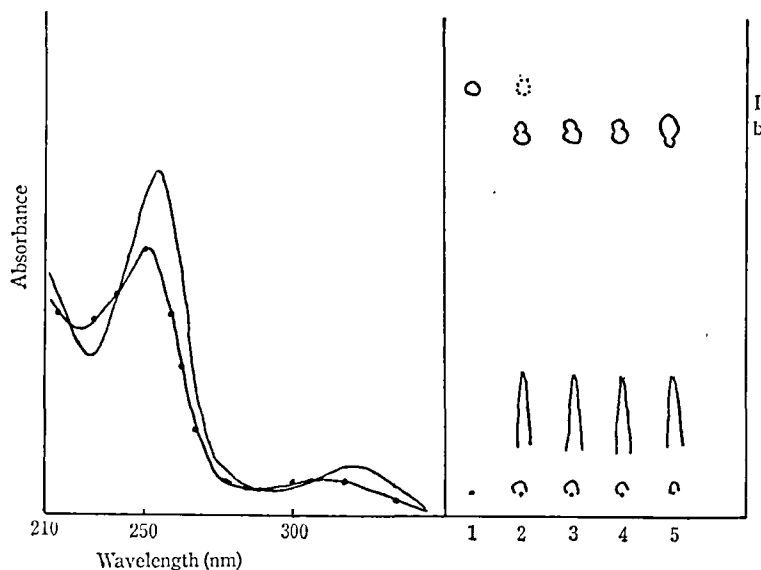


Fig. 5. Ultraviolet absorption spectra and thin-layer chromatograms of I in anaerated methanol

Irradiation time : — (1) : 0 min, (2) : 10 min, (3) : 40 min, (4) : 100 min, —●— (5) : 160 min

I : Chlorpromazine, b : Promazine

は UV いづれも酸化物を明瞭に認めることが出来た。

2. 嫌氣的分解

(II) の 0.1% 水溶液およびメタノール溶液につき (I) と同様に操作して光分解を行ったところ約 6 時間の照射でも着色せず, TLC の結果もフェノチアジン (b') のスポットを認めず, 大部分プロメタジン (II) のスポットであり, 6 時間照射時の (II) の減少率は数%に過ぎなかった。

(II) の分解物を (I) と同様の方法で単離し, それぞれの分解物の UV, IR および MAS スペクトルを測定した。

分解物 (a') はスルホキサイド特有の UV 吸収, および 1020 cm^{-1} に $\nu\text{ S-O}$ の吸収, $m/e\ 300$ に MAS のピークを認めることから, プロメタジンスルホキサイドである^{11,12)}。分解物 (b') は 3320 cm^{-1} に $\nu\text{ N-H}$ の吸収を認めることから N 位の側鎖の脱離したものであり, $m/e\ 215$ に MAS のピークを示すことから, フェノチアジンである。分解物 (c') は UV および IR の結果スルホキサイドであり, $m/e\ 215$ に MAS のピークを示すことからフェノチアジンスルホキサイドである。分解物 (d) は 1620 cm^{-1} に $\nu\text{ C=O}$ のピーク, $m/e\ 213$ に MAS のピークを認めることから, 3H-フェノチアジン-3-オンである。

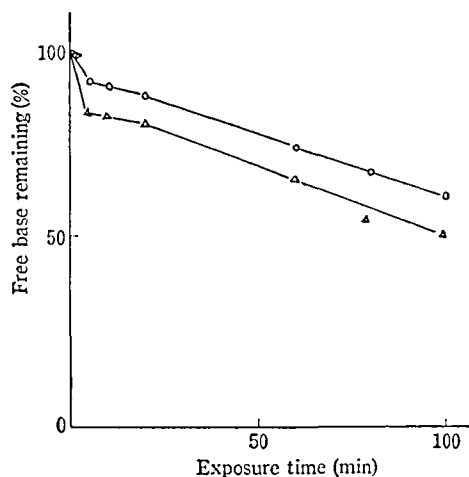


Fig. 6. Photodegradation of II in water or methanol under aerobic condition

(II) $\text{H}_2\text{O}=3.0\times 10^{-3}\text{ M}$

(II) $\text{MeOH}=3.0\times 10^{-3}\text{ M}$

—○— : in H_2O , quartz cell

—△— : in MeOH , quartz cell

結 論

フェノチアジン骨核の 10 位に 3-dimethylamino-

Table 1. Ultraviolet absorption spectra, infra red absorption spectra and mass spectra of I, II and their photodegradation products

Compounds		UV 95% MeOH λ max (nm)	IR KBr ν max (cm ⁻¹)	MAS M ⁺ m/e
Chlorpromazine	(I)	257 310	1460 800 753	319
Chlorpromazine sulfoxide	(a)	239 277 302 344	1580 1010	335
Promazine	(b)	255	1460 750	284
Promethazine	(II)			287
Promethazine sulfoxide	(a')	235 267 292 335	1020	300
Phenothiazine	(b')	254 310	3320 1480	199
Phenothiazine sulfoxide	(c')	228 232 304	1000	215
3 H-phenothiazine 3-one	(d)	238 266 285 289 530	1620	213

propyl 基, 2 位に Cl を有する (I) は光分解により 10 位の側鎖の脱離はなく, (I) のスルホキシド体および 2 位の Cl の脱離したプロマジンを生成する。また嫌気的条件下ではプロマジンの生成が主反応であり, 好気的条件下ではスルホキシド体を生成する。好気的条件下では遮光状態では着色しない事実から, (I) は酸化反応より光分解が優先すると考えられる。(I) を水溶液中で光分解を行った場合, 先づセミキノフリーラジカルを生成し, さらにフェザチオニウムイオンとなり, スルホキシドを生成する⁹⁾ が, また好気的長時間の分解により, N-オキシド体を生成し, 嫌気的条件下ではポリマーを生成する⁸⁾ という報告もある。

10 位に 2-dimethylaminopropyl 基を有する (II) の光分解は (I) と異なり, 10 位の側鎖の脱離をともしない, フェノチアジンを生成し, これが空気酸化によ

りフェノチアジンスルホキシドおよび 3H-フェノチアジン-3-オンを生成すると考えられる。この反応は嫌気的条件下で進行しない事実から, (II) の光分解は空気酸化により促進されると考えられる。

終りに MAS スペクトルの測定並びに御助言いただいた薬品部理化学試験室々長叶田謙蔵技官に深謝します。

文 献

- 1) 中川俊夫, 窪田種一, 宮崎 寛: 塩野義年報, 7, 19 (1957)
- 2) 藤沢正計, 河村光雄, 川端留子: 薬誌, 86, 708 (1966)
- 3) L.J. Ravin, I. Kennon, J.V. Swiutosky: J. Amer. Pharm. Assoc., 47, 760 (1958)
- 4) J.S. Forrest, F.M. Forrest, M. Berger:

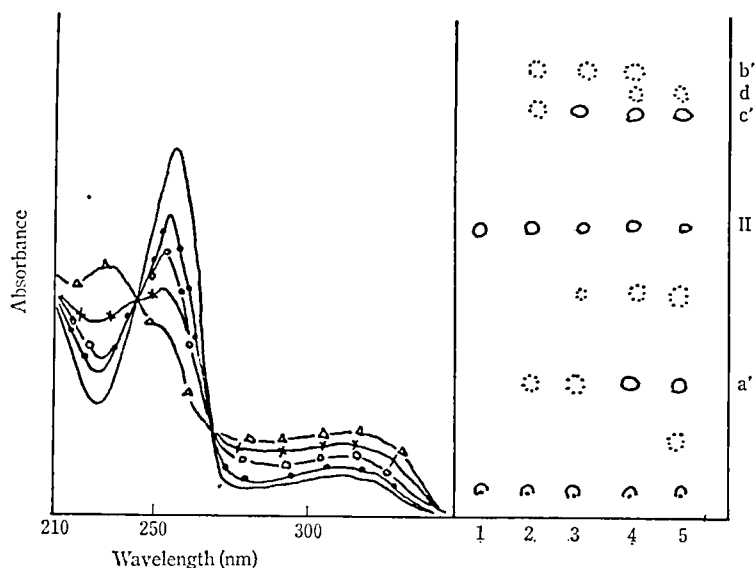


Fig. 7. Ultraviolet absorption spectra and thin-layer chromatograms of II in aerated methanol

Irradiation time : — (1) : 0 min, —●— (2) : 30 min, —○— (3) : 70 min, —×— (4) : 130 min, —△— (5) : 250 min

II : Promethazine, a' : Promethazine sulfoxide, b' : Phenothiazine, c' : Phenothiazine sulfoxide, d : 3 H-Phenothiazine-3-one

Biochem. Biophys. Acta, 29, 441 (1958)

5) I.G. Fels, M. Kaufman : *Nature*, 183, 1392 (1959)

6) T. Iwaoka, M. Kondo : *Bull. Chem. Soci. Japan*, 47, 980 (1974)

7) A. Felmeister, C.A. Discher : *J. Pharm. Sci.*, 53, 756 (1964)

8) C.L. Huang, F.L. Sands : *J. Chromatogra.*, 13, 246 (1964)

9) C.L. Hung, F.L. Sands : *J. Pharm. Sci.*, 56,

259 (1967)

10) W.J.M. Underberg : *J. Pharm. Sci.*, 67, 1128 (1978)

11) H. Roseboom, J.H. Perrin : *J. Pharm. Sci.*, 66, 1392 (1977)

12) R.J. Warren, I.B. Esisdorfer, W.E. Thompson, J.E. Zarembo : *J. Pharm. Sci.*, 55, 144 (1966)

13) M. Caude, L.X. Phan : *J. Chromatogra. Sci.*, 390 (1975)

アヘントコン散中のエメチンの確認試験

高橋一徳・大野昌子

Identification of Emetine in Opium Ipecac Powder

Kazunori TAKAHASHI and Masako ÔNO

The investigations on the identification of emetine, one of the components of ipecac, in Opium Ipecac Powder of JP IX was carried out.

According to the existing chlorinated lime method, an orange color of emetine is affected by the opium extracts and lacks distinctness. The extraction using organic solvents is indispensable to detect the color of the minor amounts of emetine in this preparation.

Thin-layer chromatographic identification of emetine contained in the extracts is preferable to the color test in respect to its characteristics and sensitivity. An other alkaloid of ipecac, cephaeline, is also detectable by this method. The detection limits of emetine is 1 mg by new color test and 0.02 μ g by TLC.

(Received May 31, 1979)

日局ではアヘントコン散とアヘン散とを、加えられたトコン末に基づくエメチン含有の有無で区別し、エメチンの検出はトコン末の確認試験法に準じ、試料の希塩酸抽出物にサラン粉を加えたときの呈色によっているが、アヘントコン散の場合にはこの呈色が、同時に希塩酸に抽出されるアヘンの成分により妨害され、検出が困難であるため、方法の早期改良が必要である。

この目的のため、従来の呈色試験法の改良を試みると同時に、薄層クロマトグラフ法 (TLC) について検討を行った。TLC は日局 9 では 93 品目の確認あるいは純度試験法として用いられているが、麻薬製剤ではアトロピン、スコポラミンを配合したアヘンアルカロイド製剤 4 品目の確認試験法に採用されているだけである。トコン末の確認試験および純度試験について外国薬局方を調査したところ、すでに TLC が採用されていた¹⁻⁵⁾。アヘントコン散への TLC の適用には、簡単な前処理を必要とするが、共存するアヘンアルカロイドの影響なくエメチンと同じくトコンの成分であるセファエリンも確認することができるので、TLC は現行法を改良した呈色試験法とともに、あるいはこれに代るべき方法になり得るものと思われる。

実験方法および結果

試料

塩酸モルヒネ、リン酸コデイン、塩酸ババペリン、ノスカピン、アヘン末、トコン末、アヘン散、アヘントコン散 (以上日局品)

テバイン塩基

塩酸エメチン (Sigma 製)

塩酸セファエリン (K & K 製)

アヘントコン散試験溶液の調製

トコン末 0.3 g に相当する量を取り、100 ml の共せんフラスコに入れ、エーテル 40 ml、ついでアンモニア試液 2 ml を加えて、毎回振り混ぜ、さらに 1 時間振り混ぜたのちろ過する。ろ液を水浴上で蒸発し、得られた残留物に 1% 塩酸 20 ml を加えて、加温して溶かし、分液漏斗中にとろ過する。ろ液をクロロホルム 30 ml ずつで 3 回抽出したのち、水層に水酸化ナトリウム試液 10 ml を加えてアルカリ性にし、クロロホルム 30 ml ずつで 3 回抽出する。全クロロホルム抽出液を合わせ、水で洗ったのちろ過する。水浴上でクロロホルムを蒸発し、得られた残留物にメタノール 3 ml を加えて溶かし、呈色試験および TLC の試験液とする。

I 呈色試験法

現行法 アヘントコン散 3 g に希塩酸 5 ml を加え、しばしば振り混ぜ、1 時間放置したのち、蒸発せらるろ過し、ろ液にサラン粉 5 mg を加えるとき、その周辺はだいたい色を呈する (エメチン)。

トコン末の確認試験では希塩酸の代りに塩酸を用いているので、アヘントコン散についても希塩酸、塩酸を用いてそれぞれ抽出し、呈色を比較した。対照にはトコン末、アヘン散をそれぞれ塩酸、希塩酸で抽出した液を用いた (Table 1)。

直接抽出法ではいずれもエメチンによる呈色が明ら

Table 1. Color tests of Opium Ipecac Powder, Diluted Opium Powder and Powdered Ipecac by chlorinated lime method

color test by	J.P.9 Opium Ipecac Powder			J.P.9 Powdered Ipecac			new method		
sample	A	B	C	A	B	C	A		
extraction	dilute HCl	dilute HCl	dilute HCl	HCl	HCl	HCl	diluted HCl	diluted HCl(1→2)	HCl
coloration of extract	dark brown	dark brown	brown	black brown	black brown	brown	light brown	light brown	light brown
chlorinated lime, added	no bubbles	no bubbles	no bubbles	bubbles	bubbles	bubbles	no bubbles	bubbles	bubbles
coloration	—	—	—	±	—	+	—	+	+

sample A : Opium Ipecac Powder
 B : Diluted Opium Powder
 C : Powdered Ipecac

かでないため、アヘントコン散とアヘン散との区別が困難であった。アヘントコン散中のエメチンを呈色反応によって検出するためには、アヘントコン散試験溶液の調製法で述べたようにアンモニア・エーテルによる抽出法を用いれば、あへんによる影響を除くことができる。

改良法 アヘントコン散試験溶液の調製法にしたがって得たメタノール溶液の一部約 3 ml を蒸発ざらにとり、水浴上で蒸発乾固し、冷後うすめた塩酸(1→2) 1 ml を加えて溶かし、サラン粉 5 mg を加えるとき、発泡して溶け、液はだいたい赤色を呈する。

この改良法による試験結果を現行法の場合と比較し、Table 1 に示した。この改良法による塩酸エメチンの検出限度は 1 mg であった。

II TLC

薄層板 Silica gel 60 F₂₅₄ (けい光剤入り、厚さ 0.25 mm, Merck 製)

発色試液

- (1) 塩化白金ヨウ化カリウム溶液⁹⁾
- (2) 1% ヨウ素・クロロホルム溶液

展開方法および展開溶媒

操作法 試料に扱った各アルカロイドの 0.1% メタノール溶液を調製し、その 1~10 μ l を薄層板の下端から 3 cm の位置に 1.5 cm の間隔でスポットする。風乾後、展開溶媒で飽和した展開用容器中で、薄層板の下端約 1 cm を展開溶媒に浸し、上昇法により、約 10 cm の距離まで展開したのち、薄層板を風乾し、さらに 60° で 10 分間、加熱乾燥し、冷後、発色試液を噴霧する。但し発色試液 (2) を用いた場合は噴霧後

60° で 10 分間加熱し、冷後、スポットの R_f 値、呈色および紫外線 (主波長 365 nm) 照射によるけい光の有無によりアルカロイドの確認を行う。

solvent

S₁ : methanol • 28% ammonia water = 100 : 1.5

S₂ : chloroform • methanol • 28% ammonia water = 90 : 10 : 1

S₃ : chloroform • acetone • methanol • 28% ammonia water = 50 : 40 : 10 : 1

前記試料を展開溶媒 S₁~S₃ で展開し、得られた結果を Table 2 に示す。

試験溶液の調製法にしたがって得たアヘントコン散試験溶液中には、エメチンのほかにセファエリンとコデインが共存するだけであるので、溶媒としてはこの三者の分離に適した S₂ あるいは S₃ を用いることができる。発色試液としては、塩化白金ヨウ化カリウム溶液ではエメチン、セファエリンともあへんアルカロイドと類似の呈色を示すため特異的とはいえない。しかし 1% ヨウ素・クロロホルム溶液を用いるときはエメチンは他のアルカイドと異なり黄色に、セファエリンはかっ色に呈色し、さらに紫外線 (主波長 365 nm) 照射によりエメチンは黄色のけい光を、またセファエリンは青色のけい光を発するため、あへんアルカロイドと明確に区別できる。

以上の結果から、アヘントコン散の TLC による確認試験法は日局記載の形式に従いつぎのようにまとめることができる。

確認試験 アヘントコン散 1 g をとり、100 ml の共せんフラスコに入れ、エーテル 40 ml、ついでアン

Table 2. R_f values ($\times 100$) and coloration with the location reagents of the spots of the alkaloids on the silica gel plate using the solvents $S_1 \sim S_3$

	solvent			location reagent		
	S_1	S_2	S_3	L_1	L_2	
					UV (365 nm)	
emetine	63	77	51	purple* ¹	yellow* ²	yellow* ³
cephaeline	63	58	40	purple	brown	blue
codeine	43	40	24	purple	brown	—
morphine	43	18	13	blue purple	brown	—
thebaine	50	68	43	purple	brown	—
papaverine	78	82	68	purple	brown	—
noscipine	78	83	73	purple	brown	blue

S_1 : methanol • 28% ammonia water=100 : 1.5

S_2 : chloroform • methanol • 28% ammonia water=90 : 10 : 1

S_3 : chloroform • acetone • methanol • 28% ammonia water=50 : 40 : 10 : 1

L_1 : potassium iodoplatinate spray

L_2 : 1% I_2 in chloroform spray

sensitivity *¹: 0.07 μ g *²: 0.02 μ g *³: 0.001 μ g

モニア試液 2 ml を加えて、毎回振り混ぜ、さらに 1 時間振り混ぜたのちろ過する。ろ液を水浴上で蒸発し、得られた残留物に 1% 塩酸 20 ml を加えて、加温して溶かし、分液漏斗中にろ過する。ろ液をクロロホルム 30 ml ずつで 3 回抽出したのち、水層に水酸化ナトリウム試液 10 ml を加えてアルカリ性にし、クロロホルム 30 ml ずつで 3 回抽出する。全クロロホルム抽出液を合わせ、水で洗ったのちろ過する。水浴上でクロロホルムを蒸発し、得られた残留物にメタノール 3 ml を加えて溶かし試料溶液とする。標準溶液には別に塩酸エメチン、塩酸セファエリンの 0.1% メタノール溶液を用いる。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法によって試験を行う。試料溶液および標準溶液 2 μ l ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルで調製された薄層板にスポットする。つぎにクロロホルム・アセトン・メタノール・強アンモニア水混液 (50 : 40 : 10 : 1) を展開溶媒として約 10cm 展開したのち、薄層板を風乾し、さらに 60° で 10 分間加熱乾燥する。冷後、1% ヨウ素・クロロホルム溶液を噴霧し、60° で 10 分間加熱するとき、エメチンおよびセファエリンに相当するスポットはそれぞれ黄色およびかっ色を呈する。さらに紫外線 (主波長 365 nm) を照射するとき、エメチンおよびセファエリンに相当するスポットはそれぞれ黄色および青色のけい光を発する。

考 察

アヘントコン散にトコン末が含まれているか否かの判定には、エメチンの確認が最も普通であり、トコン末に対してはサラシ粉法による呈色反応が簡便である。しかし混合製剤では常に他成分の影響が考慮されなければならない。本品の場合にも現行法、トコン末確認試験準用法のいずれによってもあへんの成分による呈色の妨害が避けられなかった。このためにまず妨害物質の除去法を確立したうえでの検出法を検討しなければならない。実験方法で述べたような有機溶媒による抽出分離操作を必要とした。分離操作は妨害物を除去することはもちろん、トコン成分の溶媒への溶解性により確認するという手段としての意味ももっている。抽出したエメチンのフラクションはトコン末の確認法に従えば明らかな呈色が認められるが、アヘントコン散に記載されている方法では、トコン末についてさえもエメチンが確認できない。これはサラシ粉から有効塩素を生じさせるための塩酸濃度がうすいため、少なくとも塩酸は 1→2 以上の濃度を必要とした (Table 1)。

アヘントコン散はアヘン末とトコン末同量ずつの混合物であり、トコン末には局方の規定でエーテル可溶性アルカロイド 2.0~2.5% (エメチンとして) が含まれている。トコン末は劇薬であり、主成分の検出は鋭敏度の高い方法によらなければならない。エメチン

の呈色反応による検出限界が 1 mg であるのに比べ、TLC では 0.02 μ g で、エメチンのほかセフェリンも検出することができ、また R_f 値、発色試液による呈色や、紫外線下のけい光に特異性があるので (Table 2)、確認試験法としてすぐれており、呈色反応 (改良法) とともに用いるか、または TLC だけでも十分目的に沿うと考えられる。また TLC だけによるならば当然試料採取量を少なくすることができる。

文 献

- 1) EP, I, p. 307 (1969)
- 2) BP, 1973, p. 253
- 3) FP, IX (1976)
- 4) P. Helv., VI (1971)
- 5) DAB, VII (1970)
- 6) 朝比奈晴世, 大野昌子: 衛生試験, 74, 57 (1956)

向精神剤の鑑定法 (第 2 報)

島峯望彦・高橋一徳・大野昌子

Identification of Psychotropic Drugs. II

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI
and Masako ŌNO

For the detection and identification of Δ^9 -THC and its analogs in Schedule I, phencyclidine and methamphetamine in Schedule II of the Act of the Control of Dangerous Substances, and phentermine, an isomer of methamphetamine, color and microcrystal tests, measurements of UV absorption spectra, and thin layer and gas chromatography were carried out on a very small amount.

These analogs and isomers were undistinguishable each other by color test or from their UV absorption spectra, but TLC, GC, HLC and microcrystal test are useful for this purpose.

The data obtained by these tests are shown in Table 1~6.

(Received May 31, 1979)

前報¹⁾に引き続き、「向精神剤に関する条約」の別表 I に掲げられている幻覚剤のうち、大麻成分 Δ^9 -THC およびその類縁体である $\Delta^{6a,10a}$ -THC, DMHP, バラヘキシルと、II に含まれ、鎮痛、麻酔作用を有するフェンサイクリジンおよび乱用により幻覚作用を生ずるといわれているフェンテルミンについて、鑑定法を確立するため微量分析法の研究を行った。

フェンサイクリジンはわが国ではかつて動物用薬品として使用されていた。またフェンテルミンは同じく別表 II に含まれ、わが国の覚せい剤取締法でも取締りの対象となっているメタンフェタミンの異性体であるが、現在わが国の国内法では規制されていないので、メタンフェタミンとは明らかに区別されなければならない。

これらの薬物はいずれも欧米諸国で乱用されはじめしており、国内法整備が行われている。

実 験 方 法

試 料

- 1) DMHP 3-(1',2'-dimethylheptyl) tetrahydrocannabinol
- 2) バラヘキシル 3-*n*-hexyl tetrahydrocannabinol
- 3) Δ^9 -THC Δ^9 -tetrahydrocannabinol (2 mg/ml 無水エタノール溶液) Dhew, Public Health Service, Nida; 研究用調製品
- 4) $\Delta^{6a,10a}$ -THC $\Delta^{6a,10a}$ -tetrahydrocannabinol
- 5) 塩酸フェンサイクリジン 1-(1-phenylcyclohexyl) piperidine hydrochloride
- 6) 塩酸メタンフェタミン N, α -dimethylphenethylamine hydrochloride
- 7) 塩酸フェンテルミン α, α -dimethylphenethylamine hydrochloride

1), 2), 4) および 5) はいずれもわれわれが合成したもので, 7) は厚生省麻薬課から提供されたもので純度等については確認した。

試験

I. 呈色反応

試液

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

方法

試料を滴板上にとり, Δ^9 -THC はエタノール溶液を滴板上にとり, エタノールを蒸発させたのち, 試液の小滴を加え, 呈色を観察する。検出限界は試料のメタノール溶液を調製し, その一定量ずつを滴板上にとり, メタノールを蒸発させたものの呈色で確認する。

II. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

- 1) 試料溶液の調製: 各試料をメタノール溶液 (1→500) にし, Δ^9 -THC は試料そのままを用いる。
- 2) Plate: Silica gel 60 F₂₅₄ (precoated), Merck
- 3) Solvent
 - a) benzene
 - b) *n*-pentane : ether = 9 : 1
 - c) methanol : 28% ammonia water = 100 : 1.5
 - d) chloroform : methanol : 28% ammonia water = 27 : 3 : 0.1
 - e) chloroform : acetone : methanol : 28% ammonia water = 15 : 12 : 3 : 0.1

4) 発色剤

- i) Echtblausalz B 溶液⁶⁾
- ii) 塩化白金酸ヨウ化カリウム溶液¹⁾
- iii) 1% 過マンガン酸カリウム溶液

III. ガスクロマトグラフィー (GC)

- 1) 試料溶液の調製: Δ^9 -THC はエタノールでうすめ, 他の試料はメタノール溶液 (1→1000) とする。

2) Condition

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

Column

- i) SE-30 (GC grade), 3%, Gas-chrom Q, 60~80 mesh
- ii) OV-1, 3%, Gas-chrom Q, 60~80 mesh
- iii) JXR silicone, 3%, Chromosorb GHP, 80~100 mesh

iv) OV-17, 3%, Gas-chrom Q, 60~80 mesh

v) PEG-20M, 2%, Chromosorb G (AW-OMCS) (5%) 80~100 mesh

Glass column I.D. 3 mm L. 2 m; 1 m (column v)

Temp. Column 130~270°, Det. 240~270°

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

Sens. 100 MΩ

Range 0.08 V

Chart speed 10 mm/min

IV. 高速液体クロマトグラフィー (HLC)

- 1) 試料溶液 II-1) と同様に調製した溶液。

2) Condition

Detector UV Detector NS-310 (Nihon Seimitsu)

Recorder Ohkura, Model D1R2M1

Column Porous styrene-divinyl benzene polymer (Iatrobeads 6 CP-2020); glass, I.D. 5 mm, L. 50 cm

Eluent

i) methanol : *n*-hexane = 97 : 3

ii) methanol : *n*-hexane : 28% ammonia water = 96 : 3 : 1

Flow rate 2.0 ml/min

Detector range 8

Wave length 258~274 nm

Recorder range 10 mV

Chart speed 10 mm/min

V. 紫外吸収スペクトル (UV)

Apparatus: HITACHI EPS-3T

試料溶液 III-1) と同じ GC 用試料溶液を適宜の濃度にさらにうすめて使用する。

VI. マイクロクリスタルテスト

結晶形成法¹⁾

試料を 2% 酢酸に溶かし, その小滴をスライドグラス上にとり, 自然乾燥する。残留物に試液の小滴をつけたカバーグラスをかぶせ, 結晶形成後, 偏光顕微鏡を使用して観察する。メタンフェタミン, フェンテルミンを含むものについては, 試料に 10% 水酸化ナトリウム溶液を加え, 揮発性アミン試験法により結晶形成させ, 偏光顕微鏡を用いて観察する。

試液

ライネッケ試液: グリセリン 0.5 ml に水 2 ml を混和し, ライネッケ塩を飽和させる (用時調製)。

0.25% ピクロロン酸溶液

Table 1. Coloration and sensitivity of the drugs by color test

Compound \ Reagent	Formalin-Sulfuric Acid TS		Selenious Acid-Sulfuric Acid TS		Ammonium Molybdate-Sulfuric Acid Solution	
	Color	Sens.	Color	Sens.	Color	Sens.
DMHP	V→BV	1.0 μ g	Br→YBr	0.5 μ g	R→GBr	0.5 μ g
Parahexyl	"	"	"	"	"	"
Δ^9 -THC	"	"	"	"	"	"
$\Delta^{6a,10a}$ -THC	"	"	"	"	"	"
Phencyclidine HCl	Colorless		Colorless		Colorless	
Methamphetamine HCl	Br→dark Br	0.5	pale Y	100	"	"
Phentermine HCl	"	"	"	"	"	"

V : Violet, B : Blue, Br : Brown, Y : Yellow, R : Red, G : Green

Table 2. Thin layer chromatographic data of the drugs tested

Compound \ Solvent	$R_f \times 100$					UV	Location reagent		
	a	b	c	d	e	254 nm	i	ii	iii
DMHP	84	63				+	purple		
Parahexyl	76	51				"	"		
Δ^9 -THC	58	39				—	red		
$\Delta^{6a,10a}$ -THC	71	48				+	purple		
Phencyclidine HCl			50	54	65	"		dark purple	yellow
Methamphetamine HCl			45	26	24	"		"	"
Phentermine HCl			34	23	17	"		—	"

UV + : fluorescence of plate is quenched under 254 nm

— : not quenched

Color — : reaction negative

i) Echtblausalz B solution

ii) Potassium iodoplatinate solution

iii) 1% Potassium permanganate solution

臭化金試液：臭化金 1g に臭化水素酸 (40%) 1.5 ml を加えて溶かし、うすめた硫酸 (2→5) を加えて 30 ml とする。この液をとり、等量の氷酢酸と混和する。

実験結果および考察

I. 呈色反応

各試液による呈色反応の結果を Table 1 に示す。

THC およびその類縁体はそれぞれいずれの試液に対しても類似の呈色と感度を示すため、相互の区別は不可能であるが、THC 類縁体は Fröhde 試液で赤色

を呈し特異的で他の化合物との区別に役立った。

塩酸フェンサイクリジンはいずれの試液で全く呈色しない。また塩酸メタンフェタミンと塩酸フェンテルミンは麻薬をはじめとしてわれわれがこれまでに対象として取扱った向精神剤 44 種の場合と同一の試液に対する呈色反応の異同を比較するため、共通の 3 種の試液を用いた^{1,6,7)}。

II. TLC

前記実験条件における各試料の R_f 値と蛍光および発色剤による呈色を Table 2 に示す。

THC とその類縁体は酸性物質であり、他の塩基性

Table 3. Retention times of the drugs under above-mentioned conditions by GC

Compound	SE-30				OV-1				JXR				OV-17				PEG-20M			
	130°	150°	200°	240°	130°	150°	200°	240°	130°	150°	200°	240°	130°	150°	200°	240°	270°	130°	150°	270°
DMHP				10.6				9.8				14.7				33.1	10.9			
Parahexyl				6.9				6.4				9.5				26.8	7.6			
<i>Δ</i> ⁹ -THC				5.3				4.8				7.2				21.8	6.2			
<i>Δ</i> ^{6a,10a} -THC																				
Phencyclidine HCl			3.6	1.4			2.9	1.4			4.9	1.8			7.9	2.7				
Methamphetamine HCl	2.9	1.8			1.6	1.1			3.6	2.3			3.2	2.0				2.7	1.5	
Phentermine HCl	2.8	1.7			1.3	1.0			3.3	2.0			2.8	1.8				2.6	1.4	

Table 4. Retention times of the drugs under above-mentioned conditions by HLC

Compound	t _R	wave length detd.	eluent
DHMP	13.4 min	274 nm	i
Parahexyl	11.9	"	"
Δ^9 -THC	11.4	"	"
$\Delta^{6a,10a}$ -THC	10.8	"	"
Phencyclidine HCl	21.0	268	ii
Methamphetamine HCl	6.2	258	"
Phentermine HCl	6.7	"	"

Table 5. UV data of the drugs

Compound	$\lambda_{\min}^{\text{MeOH}}$		$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$	
	nm	E _{1%¹cm}	nm	E _{1%¹cm}
DMHP	248	158	228	817
			275	385
Parahexyl	248	158	228	859
			275	379
Δ^9 -THC*	253	24	233	443
	280.5	68	276	69
			283	69
$\Delta^{6a,10a}$ -THC	248	175	228	896
			274	404
Phencyclidine HCl	237	7.6	252	11.0**
	261	12.5	258	13.5
	267.5	9.6	263	14.4
			269.5	11.1
Methamphetamine HCl	230	2.1	243	4.5**
	255	8.1	248	6.5**
	262	7.6	253	8.8
			258	11.1
Phentermine HCl	230	2.1	264	8.5
			243	4.2**
			248	5.9
			253	8.2
			258	10.4
			261	8.3

* in ethanol solution

** inflexion

Table 6. Forms and characteristics of the crystals of phencyclidine, methamphetamine and phentermine by microcrystal test

Compound \ Reagent	Auric bromide	Picrolonic acid	Reineckate
Phencyclidine	immediately yellow sgmented, skeletonized plates are formed, yellowish white, birefringence. CP, no elong. RP	no crystals	rosettes & sheaves of needles, large, yellow-brown CP, positive elong. RP
Methamphetamine	dichroic, red-brown to colorless, blades, large, orange-yellow CP, no elong. RP	rosettes & dendritic crystals, yellow & blue CP, no elong. RP	composite of square cut crystals with needles, whitish CP, neg. elong. RP
Phentermine	dichroic, red-brown to colorless, blades & skeletonized, dendritic crystals, orange CP, no elong. RP	long curved needles, yellow & blue CP, neg. elong. RP	characteristic clusters and dendritic crystals, whitish CP, neg. elong. RP

CP : Polarizers crossed, RP : Red plate, inserted

物質の場合とは異なる展開溶媒を用い相互の分離を容易にすることができた。天然の Δ^9 -THC と合成品の $\Delta^{6a,10a}$ -THC は二重結合の位置が異なる異性体であるが、展開後のスポットは R_f 値も異なるしそれぞれ紫外線照射（主波長 254 nm）によっても、また Echtblausalz B 試液噴霧によっても明らかに異なった性質を示す。またメタンフェタミンと異性体であるフェンテルミンとは R_f 値と発色剤 Potassium iodoplatinate solution による呈色の有無でも区別できる。

III. GC

前記の各条件下で得られた結果を Table 3 に示す。

Table 3 に示すように Δ^9 -THC と $\Delta^{6a,10a}$ -THC とは GC では区別できない。メタンフェタミンとフェンテルミンとの区別には温度 130°, カラムには OV-1, OV-17, JXR が適していた。

IV. HLC

Δ^9 -THC とその類縁体は 274 nm, メタンフェタミンと異性体のフェンテルミンは 258 nm でピークを検出し、それぞれ相互の区別を行うことができた (Table 4)。

V. UV

測定結果を Table 5 に示す。

DMHP, パラヘキシルおよび $\Delta^{6a,10a}$ -THC は吸収極小, 極大ともほぼ同波長で区別できないが Δ^9 -THC はこれらと異なっており, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値もこれらの約 1/6 になる。

塩酸メタンフェタミンと塩酸フェンテルミンは類似の吸収曲線を示すが、後者には 249 nm に吸収極小, 248 nm に明らかに極大が認められる。

VI. マイクロクリスタルテスト

得られた結果は Table 6 に示すとおりである。

THC とその類縁体については現在まで結晶を形成させ得る試液が見いだせない。メタンフェタミンとフェンテルミンとは揮発性アミンとして Volatility test によっても同じ試液で確認できる。またピクロロン酸溶液は両者の区別に役立つ。

本研究は向精神剤に関する条約の別表 I に含まれる THC およびその類縁体, 別表 II に含まれるフェンサイクリジンおよびメタンフェタミンとこの条約に含まれていないがメタンフェタミンの異性体で弱い幻覚作用を有するフェンテルミンについて簡易鑑定法の確立を目的として行った。呈色反応, UV では類縁体, 異性体などは区別しにくい, 他のものとの区別ははっきりつく。また TLC, GC, HLC およびマイクロクリ

タルテストなどによるとこの類縁体、異性体も区別可能であり、十分に鑑定の目的を達することができる。

この研究の一部は厚生省依託研究費によった。

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 95, 38 (1977)
- 2) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 92, 50 (1974)

- 3) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 92, 46 (1974)
- 4) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 92, 44 (1974)
- 5) US Pat. 3,097,136
- 6) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 93, 95 (1975)
- 7) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, 94, 46 (1976)

塩酸チアミンの非水滴定について

太田美矢子・木村俊夫・川村次良

Nonaqueous Titration of Thiamine Hydrochloride

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

Thiamine hydrochloride was determined by nonaqueous titration which based upon the relative basicity of the thiamine moiety. Acetic Anhydride was used for the halogen ion replaced with acetate ion.

The results agreed within 1.5% with those obtained by the total chloride method, the UV absorption method and the thiochrome method when five batches of JP thiamine hydrochloride reference standard were used as samples. Coefficient of variation (%) of the nonaqueous titration method was 0.224%.

(Received May 31, 1979)

塩酸チアミンの化学定量法には、塩酸チアミンを酸化し、チオクロムを生成させ、けい光または吸光度を測定するか、ジアゾ反応により比色定量する方法が主に用いられているが、第九改正日本薬局方(日局九)でも、チオクロム比色法が採用されている。これらの方法はすぐれた定量法であるが、常に標準品を必要とし、また、ブロムシアンを用いるチオクロム法では廃棄物規制等の問題がある。今回、これらの問題を勘案して日局九塩酸チアミン定量法を非水滴定法に変更する改正案が提出されたが、この機会に日局塩酸チアミン標準品につき、非水滴定法による定量の検討を行ったので、その結果を報告する。

試薬および実験方法

1. 試料および試薬: 試料には日本薬局方塩酸チアミン標準品(Control 691, 721, 741, 761, 781)を用いた。0.1 N 過塩素酸は和光純薬製のもの、氷酢酸は日局九の非水滴定用氷酢酸の調製法により調製したもの、フタル酸水素カリウムは富山薬品工業製標準試薬を用い、その他の試薬はすべて特級品を用いた。

2. 測定機器および測定条件: 装置: 平沼滴定制御式記録装置 RAT-1, フルスケール: 180 mV (pH 3), 送り時間: 3, 待ち時間: 10, ビューレット容量: 5 ml, 記録紙速度: 20 目 (50 mm)/ml.

3. 0.1 N 過塩素酸の標定: フタル酸水素カリウムを 105° で 4 時間乾燥後、デンケーターで放冷し、その約 0.2 g を精密に量り、非水滴定用氷酢酸 50 ml を加えて溶かし、0.1 N 過塩素酸で滴定する(電位差滴定法による)。

0.1 N 過塩素酸 1 ml = 20.422 mg $\text{KHC}_8\text{H}_4(\text{COO})_2$

4. 塩酸チアミンの定量: 本品 (105°, 2 時間乾燥したもの) 0.16 g を精密に量り、非水滴定用氷酢酸 40 ml 加え、約 40° に加温して溶かし、冷後、無水酢酸 50 ml を加え、0.1 N 過塩素酸で滴定する。

0.1 N 過塩素酸 1 ml = 16.864 mg

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$

実験結果および考察

塩酸チアミンは塩酸塩のため、氷酢酸中で過塩素酸で滴定することは困難である。Pifer 等¹⁾は酢酸第二

Table 1. Results of Nonaqueous Titration of Thiamine Hydrochloride (Control 781) with Perchloric Acid at different Volume of Solvent

Volume of glacial acetic acid	Mean	n	C.V. (%)*
5 ml	94.5%	5	4.631
20 ml	99.1%	4	0.498
40 ml	99.6%	9	0.224
50 ml	100.2%	2	—

50 ml of acetic anhydride was used.

* Coefficient of variation

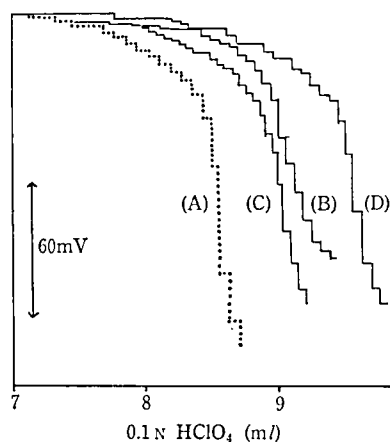


Fig. 1. Nonaqueous Titration of Thiamine Hydrochloride with Perchloric Acid

(A) 20 ml of glacial acetic acid + 50 ml acetic anhydride

(B) 40 ml of glacial acetic acid + 10 ml acetic anhydride

(C) 40 ml of glacial acetic acid + 30 ml acetic anhydride

(D) 40 ml of glacial acetic acid + 50 ml acetic anhydride

水銀を用いて酢酸塩として定量しているが、酢酸第二水銀も廃棄物規制上問題のある試薬であるので、無水酢酸を用いる方法を検討した。塩酸チアミンを秤取したのち、氷酢酸を加え、約40°に加温して溶かし、さらに無水酢酸を加え、0.1 N 過塩素酸で滴定した。

Table 1 に無水酢酸 50 ml を用い、氷酢酸の量を変化させたときの定量値を示した。塩酸チアミン標準品は氷酢酸に溶けにくく、20 ml 以下の量では、0.16 g の塩酸チアミンを溶かすことはできない。したがっ

Table 2. Results of Nonaqueous Titration of Thiamine Hydrochloride (Control 781) with Perchloric Acid at different volume of Acetic Anhydride

	Volume of Acetic Anhydride*	
	30 ml	50 ml
Found	100.4%	100.0%
	99.9%	99.8%
	100.6%	99.8%
	99.4%	99.6%
	100.1%	99.4%
	100.0%	99.5%
		99.5%
		99.5%
		99.3%
Mean	100.1%	99.6%
C.V. (%)	0.418	0.224

* It is added after dissolving in 40 ml of glacial acetic acid

Table 3. Comparison of Results by four Assay Methods

Methods	Mean	n	C.V. (%)
Nonaqueous titration	99.6%	9	0.224
Total chloride	99.4%	5	0.358
UV absorption*	100.2%	6	0.354
Thiochrome*	99.6%	10	0.830

* Against to former standard (Control 761)

て、氷酢酸 5 ml では無水酢酸 5 ml を加えて加熱しても（提案された改正案と同一方法）、0.16 g を溶解させることは困難であったので 0.05~0.06 g の試料を用いたが、不溶物が残った。そのため、定量値は低く、バラツキも大きいと考えられる。氷酢酸 20 ml を用いたときは、ほとんど溶解し、微少の不溶物が残るが滴定中に溶解して透明となり、良い定量値を与えた。また、氷酢酸 40 ml および 50 ml を用いたときは、完全に溶解し、良好な定量値を与えた。電位差は氷酢酸の量が少ないほうが大きいので、氷酢酸 40 ml を用いることにした。

Fig. 1 に、塩酸チアミンを氷酢酸 40 ml に加温して溶かし、無水酢酸 10 ml (B)、30 ml (C)、50 ml (D) をそれぞれ加えたときの滴定曲線を示した。無水

Table 4. Assay Results of five Batches of JP Thiamine Hydrochloride Reference Standard by four Assay Methods

Control Number	Nonaqueous Titration	Total Chloride	UV absorption	Thiochrome
781	99.6%	99.4%	100.0%	100.0%
761	100.2%	100.1%	99.8%	100.5%
741	100.5%	—	99.6%	100.5%
721	100.4%	100.9%	100.3%	100.9%
691	99.4%	100.6%	100.2%	100.8%

酢酸 10 ml では電位差が小さくわかりにくい、無水酢酸 30 ml または 50 ml ではどちらも十分な電位差を示し、定量値も Table 2 に示すように良い結果を与えたので、無水酢酸 30~50 ml を用いるのが良いと考える。本報では無水酢酸 50 ml を用いることにした。Fig. 1 の (A) には、氷酢酸 20 ml、無水酢酸 50 ml 用いたときの滴定曲線を示した。Fig. 1 の (B), (C) または (D) に比べて、大きい電位差を与えるから、無水酢酸の比率が大きい程電位差の大きくなる事が明らかである。したがって、塩酸チアミンを溶かすときに、できるだけ氷酢酸の量を少なくするほうが、滴定誤差を小さくすることができると考える。

Table 3 には、非水滴定法、総塩素法、紫外吸収測定法 (246 nm)、チオクロム法 (368 nm) における定量値の比較を示した。非水滴定法は他の定量法より変動係数が小さく、十分定量法として使用可能である。

Table 4 に、1969 年から現在までに配布した日本

薬局方塩酸チアミン標準品 5 ロットにつき、上記の 4 つの定量法による定量値を示した。この結果から、ここに用いた 4 つの定量法間の差は 1.5% 以内であり、極めて良好な一致を示した。また、塩酸チアミン標準品は粉末状態で、10年間、室温、シリカゲルデシケーター中に保存しても、分解はほとんど起らないことが明らかになった。

以上の結果から、この非水滴定法は他の定量法に比べ、同等以上の精度を有するものと思われる。しかし、多量の無水酢酸を使用するため、滴定中に強い酢酸臭を発することなどの欠点もあり、チオクロム法の塩酸チアミンに対する特異性を考慮するとき、日局塩酸チアミン定量法として採用するためには、今後なお検討を要するものと考えられる。

文 献

- 1) C.W. Pifer, etc : *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 60, 609 (1951)

α線測定のための微量ウランの電着について

亀谷勝昭・河上一美

Electrodeposition of U for Alpha Spectrometric Determination

Katsuaki KAMETANI and Hitomi KAWAKAMI

The electrodeposition of a trace amount of U was studied by use of 20% ammonium sulfate solution and a stainless steel planchet. When 10 μg of Mo was adopted as a carrier, the deposition of U onto an area of 3 cm² of the planchet was quantitative and Mo did not interfere the alpha spectrometric determination of ²³⁴U and ²³⁸U.

(Received May 31, 1979)

緒言

温泉水あるいは鉱物中に含まれるウランの同位体 ²³⁴U および ²³⁸U の存在比は、必ずしも一定の値を示すとは限らない^{1,2)}。本報では、温泉水中のウランを定量する目的および ²³⁴U と ²³⁸U の存在比を求める目的の2つの目的のために、ウランのステンレス板への電着を Mo 担体を用いて検討し、よい結果を得たので報告する。

実験

1. 試薬および測定装置

① ウラン標準溶液： $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 211 mg を 0.1 N・ HNO_3 100 ml に溶解し、さらにその溶液を水で 1000 倍に希釈する。この溶液 1 ml はウラン 1 μg を含む。

② Mo 担体溶液： $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 185 mg を 100 ml の水にとかして Mo 担体原液とし（この溶液 1 ml は Mo 1 mg を含む）、この原液を適宜希釈して使用する。

③ 電解セルおよび電源：ステンレス板（径 23 mm 厚さ 0.5 mm）を陰極、白金線を陽極とした電解槽（内容積約 25 ml）に最大電流 2 Amp、最大電圧 30 V の出力を有する電源を接続して使用する。

④ ガスフロー計数器：Aloka JDC-311 型プロポーションカウンタに PR ガスを用いて使用する。

⑤ α線スペクトロメータ：Si(Li) 検出器（検出面積 600 mm²）に多重波高分析装置（日立製作所製 505 型）を接続して使用する。

2. U の電着

ステンレス板を装着した電解槽に、ウラン標準溶液

1 ml、Mo 担体溶液 1 ml、20% 硫酸アンモニウム溶液 15 ml および硫酸 (1+1) 2 滴を加え (pH 2.5)、電流 0.2 Amp で 1 時間電解する。電解終了後直ちにステンレス板をとりはずし、水洗して赤外線ランプで乾燥する。

結果

I 電着条件の検討

微量ウランを定量的に電着させるため、Mo を担体として電着条件を検討した。即ちウラン 1.0 μg を電解セルにとり、濃度の異なる Mo 担体溶液 1 ml を加えて、2. の方法によりウランを電着させ、ガスフロー計数器でα線を計数し、ウランの電着状態を検討した。その結果、ウランは Fig. 1 のように Mo 担体

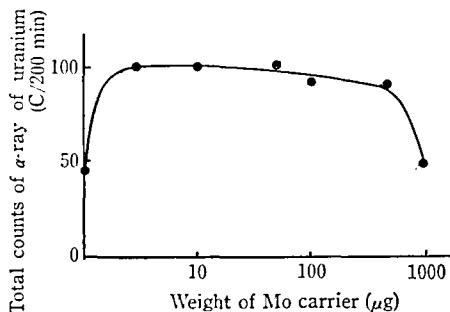


Fig. 1. Total counts of uranium (1.0 μg) deposited with Mo carrier on a stainless steel planchet

Plating current : 0.2 Amp.

Electrolyte : 15 ml of 20% ammonium sulfate adjusted at pH 2.5

Electrolysis time : 1 hr

の存在するときはほぼ定量的に電着されることが明らかとなった。しかし、Mo 担体を増加させると、Mo の自己吸収のため計数値は次第に低下し、Mo 担体 1 mg のときにはウランの定量は不可能であることが明らかとなった。

なお、Mo 担体 10 μ g を使用し、電解時間を変化させて、ウランの電着状態を検討した結果、電解時間は Fig. 2 に示すように、1 時間で充分であることが明らかとなった。

II Mo 担体を用いて電着したウランの α 線スペクトル

Mo 担体の存在でウランが定量的にステンレス板上に電着できることが、I の実験で明らかとなったが、 ^{234}U および ^{238}U のそれぞれの α 線 (^{234}U の α 線のエネルギーは 4.77 MeV と 4.72 MeV であり、 ^{238}U の α 線のエネルギーは 4.18 MeV と 4.13 MeV である。ただし 0.05 MeV のエネルギーの違いを区別して測定することは困難である) を区別して測定するためには、Mo による α 線の自己吸収が少なくなければならない。Fig. 3 に示すスペクトルは、Mo 担体量を変化させて、ウラン 1.0 μ g をステンレス板に電着させ、 ^{234}U と ^{238}U の α 線を α 線スペクトロメータを用いて 10000 秒計測したものであり、この測定結果から明らかのように、ウランを電着させる際に加える Mo 担体量は 10 μ g 以下でなければならないことが明らかとなった。

考 察

アクチナイドの α 線測定の方法として、微酸性の硫酸アンモニウム溶液あるいは塩化アンモニウム溶液からアクチナイドをステンレス板上に電着する方法が検討されている³⁻⁵⁾。本報では、ウランの定量とその同位体比を求める 2 つの目的で、ウランの電着法を硫酸アンモニウム溶液および Mo 担体溶液を用いて検討した。ここで使用した Mo 担体は、ウランの電着状態が Mo の電着状態と類似していることによるもので⁶⁾、微量ウランを定量的にステンレス板に電着させるには、Mo 担体が必要であることが、実験結果 Fig. 1 から明らかとなった。またこの電着されたウランの同位体比を求めるためには、Mo 担体量をなるべく少なくする必要があるが、23 mm ϕ のステンレス板を用いた場合、Mo 担体は 10 μ g 以下にすべきであることが明らかとなった。

結 語

温泉水あるいは鉱泉水中のウランの定量およびその

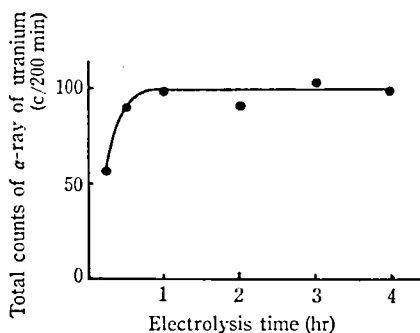


Fig. 2. Total counts of uranium (1.0 μ g) deposited with 10 μ g of Mo carrier on a stainless steel planchet
Plating current : 0.2 Amp.
Electrolyte : 15 ml of 20% ammonium sulfate adjusted at pH 2.5

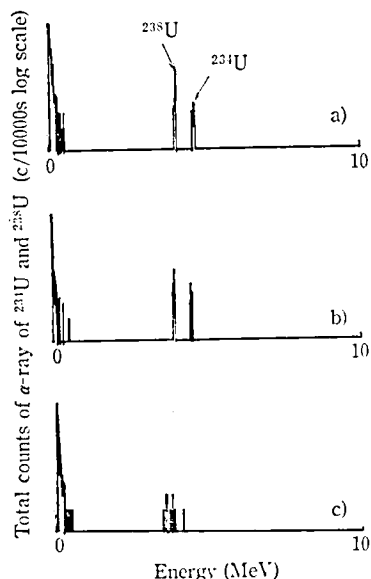


Fig. 3. α -Ray spectrogram of uranium (1.0 μ g) deposited with Mo carrier on a stainless steel planchet

- a) Mo carrier : 3 μ g
- b) Mo carrier : 10 μ g
- c) Mo carrier : 100 μ g

同位体比を求める方法として、ウランのステンレス板への電着を硫酸アンモニウム溶液および Mo 担体溶液を用いて検討した。その結果、微量のウランを 23 mm ϕ のステンレス板に定量的に電着させるには Mo 担体が必要であり、また電着されたウランの同位体比を α 線スペクトロメータによって求めるには、Mo 担

体は 10 μ g 以下にすべきであることが明らかとなった。

文 献

- 1) 阪上正信, 橋本哲夫: 日本化学会誌, 85, 622 (1964)
- 2) 小橋浅哉, 佐藤 純, 斎藤信房: 第 20 回放射

- 化学討論会講演要旨集 28 p (1976)
- 3) R.F. Mitchell: *Anal. Chem.*, 32, 326 (1960)
 - 4) M.Y. Donnan and E.K. Dukes: *Anal. Chem.*, 36, 392 (1934)
 - 5) N.A. Talvitie: *Anal. Chem.*, 44, 280 (1972)
 - 6) 松井元興: 電解分析, 東京裳華房, 112 p (1931)

プラスチックに関する衛生化学的研究（第2報）

ABS 樹脂と AS 樹脂中の残存アクリロニトリルとその水への溶出について

辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄

Hygienic Chemical Studies on Plastics (II).

Residual Acrylonitrile in ABS resin or AS resin and It's Migration into Water

Takashi TATSUNO, Takiko INOUE and Akio TANIMURA

Many kinds of containers, food packages and house hold articles are produced from copolymers derived from acrylonitrile.

Products of acrylonitrile copolymer contains unreacted acrylonitrile monomer physically entrapped in copolymer and migrates slowly into the foods during storage when the copolymer contacts with foods.

Recent experiments in rats in USA have suggested that acrylonitrile might be carcinogenic compound.

These acrylonitrile copolymers are also widely used in Japan, therefore, determination of acrylonitrile in copolymers (acrylonitrile-butadien-styrene resin and acrylonitrile-styrene resin) or extracting solvents using NPD-GC methods was carried on.

NPD-GC method, we used, is time-saving, accurate and sensitive method to determine acrylonitrile.

Results of our experiments are shown in Table 1-2 (acrylonitrile in ABS resin and AS resin) Table 3 (migrated acrylonitrile from ABS resin and AS resin) and Fig. 2 (relation between residual acrylonitrile and it's migration).

ま え が き

最近, アクリロニトリル (acrylonitrile, AN) が米国で催奇形性や発ガン性をもつ物質として注目され¹⁾, 米国では炭酸飲料容器として開発していた AN を 70 %以上原料とするハイアクリロニトリル樹脂の使用禁止, さらに AN を原料とするアクリロニトリル・ブタジエン・スチレン (ABS) 樹脂やアクリロニトリル・スチレン (AS) 樹脂などからの AN の食品への移行量の規制を設けている²⁾.

わが国では, AN を原料とする樹脂の使用は ABS 樹脂, AS 樹脂のみであり, その用途は食卓用品や家庭電気製品の部品として使用されている。

AN の分析については, ガスクロマトグラフ法³⁾, ポーラログラフ法⁴⁾, ガスクロマトグラフ・マススペクトロメトリー⁵⁾などの方法が報告されている。最近では, 樹脂からの微量 AN の溶出ということで, いろいろの操作法が組み合わされて, ppb レベルでの分析が可能になっている⁶⁾。

われわれは数年前に市販の ABS, AS 両樹脂中の

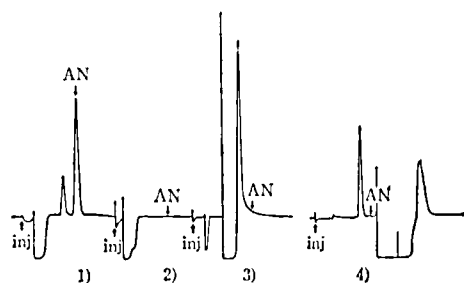


Fig. 1. NPD-Gaschromatogram of Acrylonitrile, Water, Acetone and THF

1) Acrylonitrile (2.7 ng), 2) Water,
3) Acetone, 4) THF

Table 1. Contents of Residual Acrylonitrile in ABS resins

sample No.	contents of Residual AN (ppm)
1	372
2	589
3	1373
4	99
5	99
6	257
7	5
8	110
9	122
10	247
11	384
12	75
13	214
14	148
15	4
16	4
17	3
18	4
19	3
20	20
21	1
22	1

Table 2. Contents of Residual Acrylonitrile in AS resins

sample No.	contents of Residual AN (ppm)
1	752
2	82
3	555
4	44
5	52
6	44
7	63
8	69
9	146
10	383
11	268
12	123
13	146
14	84
15	184
16	223
17	64
18	62
19	25
20	56
21	31
22	39
23	115
24	174
25	123
26	4
27	123
28	5
29	3
30	19
31	22
32	2
33	9

AN を測定したが²⁾、今回は食品に接触するものだけでなく、一般用にも用いられるものもあわせて試料とし、残存モノマーを測定した。また一部の試料については、水による溶出を行い、溶出する AN を測定し

た。測定法は窒素・リン検出器 (NPD)³⁾ を具備したガスクロマトグラフを使用する方法によった。

実験の部

1. 使用機器

ヒューレット・パッカード社製 5710A に NPD

Table 3. Migration of Acrylonitrile from the ABS resin and AS resin into the water

sample No.	contents of Residual AN	migration of acrylonitrile	
		60°, 30 min.	room temp., 24 hr.
(AS resin)	ppm	ppb	ppb
1	752	47	110
2	82	5	7
3	268	16	30
4	123	5	6
5	84	5	5
6	184	5	9
7	223	17	16
8	62	10	24
9	174	21	38
10	123	5	5
11	44	5	5
12	123	17	25
13	5	15*	5
14	3	15*	5
15	19	11*	18
16	22	14*	39
17	21	9*	5
18	9	9*	5
(ABS resin)			
1	372	35	210
2	589	60	110
3	1373	125	250
4	5	5	5
5	3	15**	6
6	20	195*	21
7	4	12*	5
8	3	24*	5
9	4	21*	5
10	1	5*	5

*; 40°, 24 hr., storage

を付属させたもの。

カラムにはクロモソルブ 101 (80~100 mesh) を長さ 1.8 m, 内径 4 mm のガラスカラムに充填したものを使用した。

2. 試 薬

アセトン：試薬特級を用い、AN の定量に妨害しないものを用いる。

AN 標準溶液：東京化成製 (AN 含量 98% 以上)

のものを用い、アセトンまたは水で希釈し、0.01~50 ppm の範囲とした。

3. 試 料

見本品として樹脂製造所から出されているものを試料とした。その内訳は ABS 樹脂 22 試料, AS 樹脂 33 試料, 計 55 試料である。

4. 試験溶液の調製

試料を細切し、その 1 g をとり、20 ml のメスフ

ラスコに入れ、アセトンで溶かして 20 ml とする。

また樹脂からの水溶出によって溶出する AN の量のための試験溶液は、試料の表面積 1 cm² 当り、蒸留水 2 ml の割合でとり、60° または 25° に加温し、その液中に試料を浸漬し、前者は 30 分間、後者は 24 時間放置する。その後、液中から試料を取り除いて試験溶液とする。

5. AN の測定

調整したガスクロマトグラフに試験溶液を注入し、得られる AN のピークの高さを求め、絶対検量線によって、その含量を測定する。

[NPD-ガスクロマトグラフの条件]

検知器：NPD

カラム：クロモソルブ 101 (60~80 mesh) / 180 cm, φ 4 mm, ガラスカラム。

温度：カラム 160°, 注入口 250°, 検出器 250°

気体流量：キャリアガス 窒素

燃料ガス 水素

空気

試験結果および考察

1. NPD-ガスクロマトグラフィーと溶媒について
試料を細切して、アセトンまたはテトラヒドロフラン (THF) に溶解して試験溶液とする報告⁹⁾があるが、THF は精製しても、分解が早く、あまり実用性がないのでアセトンを使用した。Fig. 1 に AN 標準液、水、アセトンおよび THF の NPD-ガスクロマトグラムを示す。THF は AN のピークを示す時点でベースが落ちてしまい、AN 測定用の溶媒には特に精製して、溶解後すぐに測定する必要があると思われる。

2. 市販品中の AN 含有量について

市販されている ABS, AS 両樹脂について、AN の含有量を測定したところ、Table 1 および 2 に示すとおりである。ABS 樹脂では 1 ppm 以下から 1373 ppm と幅が大きく、AS 樹脂は 2~752 ppm の範囲であった。このなかで食品に接触することが予想される材質の AN 含有量はほとんどが 100 ppm 以下であり、ABS 樹脂では 27 ppm, AS 樹脂では 41 ppm という平均値であった。

3. 樹脂からの AN の溶出について

上記の試料から数検体を抜き出して、水による AN の溶出を検討した。その結果は Table 3 に示すとおりである。

樹脂からの AN の溶出は Fig. 2 に見られるように、AN 含有量と溶出する AN との間にある程度の相関性が認められ、また温度依存性があるものと推定

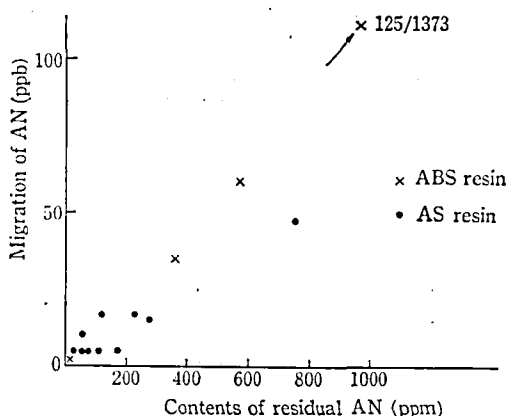


Fig. 2. Relation between Residual acrylonitrile and migrated AN into the water at 60°, 30 min.

された。

材質中の AN の約 0.004~0.022% (平均 0.006%) が 60°, 30 分間の溶出条件で、水中へ溶出しており、室温 24 時間の溶出条件では 0.004~0.039% (平均 0.009%) であった。

オランダのプラスチック試験法¹⁰⁾では水による溶出量は 4% 酢酸、あるいは 8% エタノールと同等であると述べている。

ABS, AS 両樹脂からの AN の溶出量を比較すると ABS 樹脂からの溶出量が大きく、このことはかつての米国での材質規制で、AN 含有量を ABS 樹脂 11 ppm 以下、AS 樹脂 80 ppm 以下としていたことが肯定できる。

現在、AN の規制については溶出条件は異なっているが、米国では 0.05 ppm 以下、ヨーロッパの大半の国では 0.3 ppm 以下という溶出規制となっている。

わが国での ABS, AS 樹脂の使用面から考えて、長期にわたり液体食品と接触することはまずあり得ないと考えられることから、溶出する AN が大量に人体に摂取されるおそれは少ないと推察される。

ま と め

実験によって得られた結果はつぎのとおりである。

1. AN の微量測定には NPD-ガスクロマトグラフは有効な機器であり、水中の AN の測定にはカラム充填剤としてクロモソルブ 101 を用いることによって、直接注入が可能となり、抽出操作などの時間や損失がなく、正確に感度よく実験ができた。

2. 市場にある ABS, AS 両樹脂中の AN の含有量は大きな幅があるが、食品と接触するおそれのある材

料には AN 含有量は少なかった。

3. 材質からの水による AN の溶出率は、最高で 0.03%，平均 0.008% 程度であった。

4. 現在、市場にある ABS, AS 樹脂で食品に接触するおそれのある材料の場合、溶出する AN を考えると、その値は短期間の接触では米国の規制値 0.05 ppm を越えることはないと推定されるが、長期保存用として用いた場合は 0.05 ppm を越えることが予想される。

おわりにこの研究にあたり、終始御協力下さいました山本春美君（元国立衛生試験所研究生、現ビジョン株式会社試験課）に感謝致します。

文 献

- 1) Federal Register 41, 23940 (June 14, 1976)
- 2) ibid. 42, 13546 (March 11, 1977)
- 3) M.E. Broun, C.V. Breder, T.R. McNeil: *J. Assoc. Offic. Analy. Chem.*, 61, 1383 (1978)
- 4) G.W. Daues, W.F. Hamner: *Anal. Chem.*, 29, 1035 (1957)
- 5) T.R. McNeil, W.C. Brumley, J.A. Sphon: *J. AOAC* 62, 41 (1979)
- 6) G.B.M. Gawell: *Analyst*, 104, 106 (1979)
- 7) 辰濃 隆：食品衛生研究, 27, 1053 (1977)
- 8) 渡辺忠一：分析機器, 15, 207 (1976)
- 9) 辰濃 隆：衛生化学, 公衆衛生協議会資料(1978)
- 10) オランダ食品衛生法規, プラスチック試験法 (1975)

プラスチックに関する衛生化学的研究（第3報）

ポリオレフィンからの BHT 溶出について

井上たき子・辰濃 隆・谷村顕雄

Hygienic Chemical Studies on Plastics (III)

Migration Test of BHT from Polyolefine

Takiko INOUE, Takashi TATSUNO and Akio TANIMURA

Dibutyl hydroxy toluene (BHT) has been used in many kinds of plastics as an anti-oxidant and when the plastic is used as food packages, BHT in plastic migrates into the foods during storage. In this report, migration of BHT from three kinds of polyolefine using 4% acetic acid, 20% ethanol and other food simulated solvents is described.

Results of three experiments are shown in Table 3 and Fig. 4-11. BHT was highly migrated from low density polyethylene, but not so high from polypropylene.

(Received May 31, 1979)

ま え が き

最近、プラスチック製やゴム製の容器や包装材などに用いられる酸化防止剤の一つである BHT が突然変異原性物質¹⁾であるという報告から、BHT の食品への移行が問題となっている。

そこでポリオレフィン (PO) に BHT を 0.05% (通常用いられる添加量)、および 0.5% (ポリオレフィン等衛生協議会自主規格²⁾の最大使用量) を添加した高密度ポリエチレン (HDPE)、低密度ポリエチレン (LDPE)、ポリプロピレン (PP) を作製し、室温および 40° の温度条件で食品擬似溶媒 (水, 4% 酢

酸, 20% エタノール, *n*-ヘプタン)³⁾およびオリーブ油を用いて 6 ヶ月間の溶出試験を行った。

BHT の分析法については数多くの報告⁴⁾がなされているが、本報告においてはガスクロマトグラフ法について検討した。また溶出溶媒から BHT を抽出するための条件についても検討したので報告する。

実 験 の 部

1. 試 薬

4% 酢酸, 20% エタノール, 10% 硫酸は試薬特級を用いて調製した。

n-ヘプタン, ヘキサン, *n*-ペンタン, クロロホル

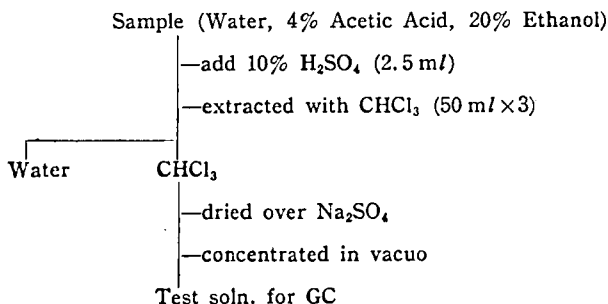


Fig. 1. Preparation of Testing soln. (Distilled Water, 4% Acetic Acid 20% Ethanol)

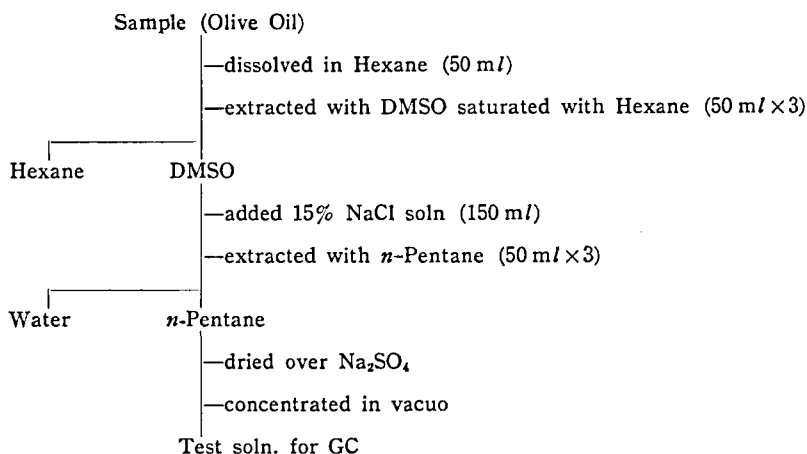


Fig. 2. Preparation of Testing soln (Olive Oil)

Table 1. BHT contents of samples used in the migration test

kinds	BHT contents (%)	
HDPE	0.041	0.41
LDPE	0.051	0.42
PP	0.046	0.47

ム、ジメチルスルフォキシド (DMSO)、硫酸ナトリウム (無水) はいずれも試薬特級を用いた。

オリーブ油は和光純薬工業試薬を用いた。

2. 使用機器

ガスクロマトグラフィー：ヒューレットパッカード製 5710 A, 検出器：水素炎イオン化検出器付を用いた。

3. 試料の調製

HDPE, LDPE, PP を用い、これに酸化防止剤として BHT を 0.05%, 0.5% になるように添加して

作製された試料を用いた。実際に使用した PO シート中の BHT 濃度は Table 1 に示した。

4. 試験溶液の調製

試料の表面積を測定し、その表面積 1 cm² 当り 2 ml の割合になるように、食品擬似溶媒およびオリーブ油をとり、その中に試料を浸漬する。これを室温および 40° で一定期間放置し、試験溶液を調製した。

5. BHT の測定

4 の条件において一定期間溶出を行って得られた試験溶液で、水、4% 酢酸、20% エタノールについては Fig. 1, オリーブ油については Fig. 2 に示した方法により抽出操作を行った。

n-ヘプタンを用いて得られた試験溶液は、直接ガスクロマトグラフに注入した。

[GC 条件]

カラム：Silicon OV 17 (5%)/Chromosorb W (80 ~100 mesh) を 1.5 m×3 mm i.d. のガラスカラムに充てんしたもの、カラム温度：160°, 検出器および

試料注入部温度：250°，キャリアーガス：窒素 30 ml/min，水素 30 ml/min，空気 250 ml/min.

実験結果および考察

1. Fig. 1, 2 の方法による添加回収率を Table 2 に示した。いずれの食品擬似溶媒でも良好な結果が得られた。

オリーブ油からの抽出にはアセトニトリル⁵⁾やジメチルフォルムアミド分配法⁶⁾などを検討したが、いずれも回収率が悪いためにパラフィン中の多環状芳香族の分析法⁷⁾で用いられるジメチルスルフォキシドによる分配抽出法⁸⁾を利用した。Fig. 3 にオリーブ油から抽出した BHT のガスクロマトグラムを示す。

水への BHT の溶出は、Fig. 4, 5 に示すように 0.5% 添加のシートを用いた場合、室温で 90 日、40° では 30 日で平衡に達していると見られ、室温、40° 放置いずれにおいても LDPE は 0.2 ppm HDPE は 0.1 ppm の値を示し、PP では室温で 0.05 ppm、

Table 2. Recovery of BHT from the Solvents

Kind	Added (μ g)	Found (μ g)	Recovery (%)
Dist. Water	10	8.8	88
	100	97.3	97
4% AcOH	10	8.6	86
	100	97.0	97
20% EtOH	10	9.0	90
	100	104.5	105
Olive Oil	10	9.2	92
	100	94.0	94

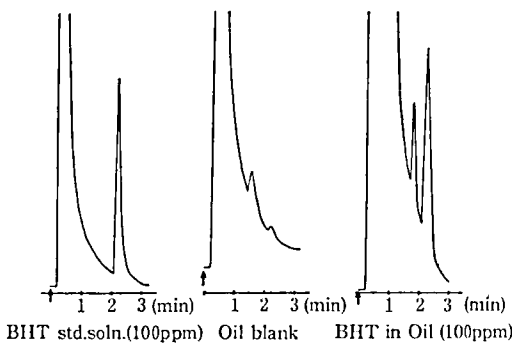


Fig. 3. Gaschromatograms of BHT tested with Silicon OV-17(5%)/Chromosorb W (80~100 mesh)

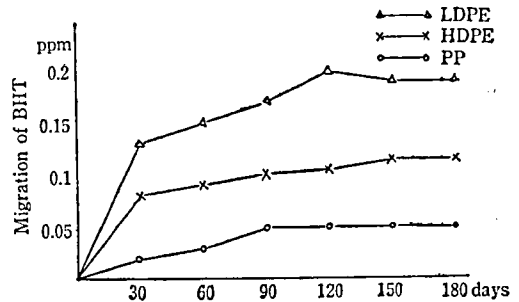


Fig. 4. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in water at room temperature

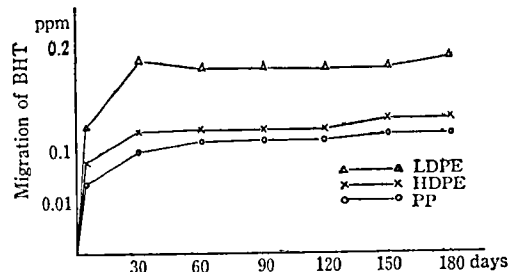


Fig. 5. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in water at 40°

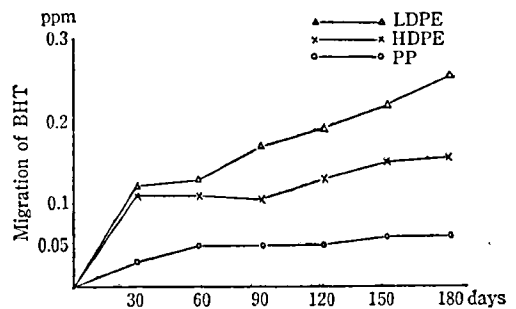


Fig. 6. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in 4% Acetic acid at room temperature

40° で 0.1 ppm と温度による差がみられた。また 0.05% BHT 添加のシートの場合は、40°、180 日で LDPE 0.03 ppm, HDPE, PP で 0.01 ppm であった。

4% 酢酸への BHT の溶出は、Fig. 6, 7 に示すように 0.5% BHT 添加のシートでは、HDPE と PP で温度による差がみられた。また 0.05% BHT 添加

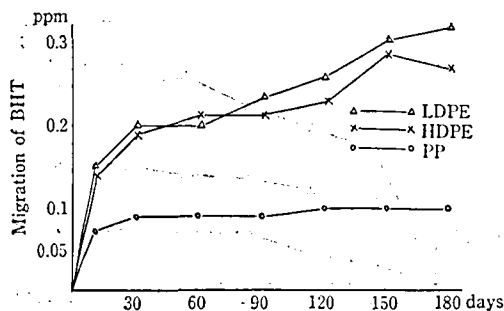


Fig. 7. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in 4% Acetic acid at 40°

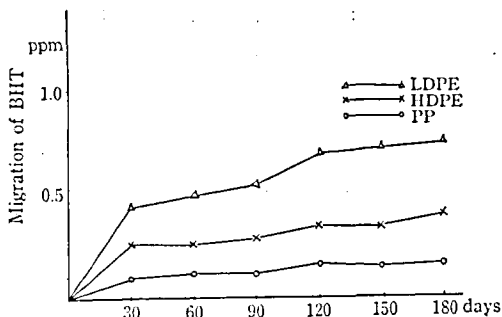


Fig. 10. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in 20% Ethanol at room temperature

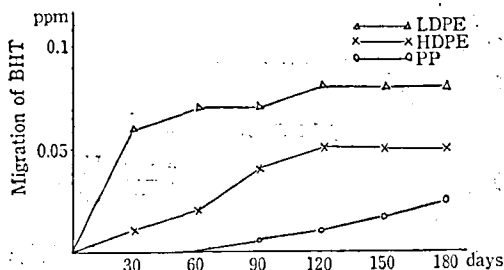


Fig. 8. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.05%) in 20% Ethanol at room temperature

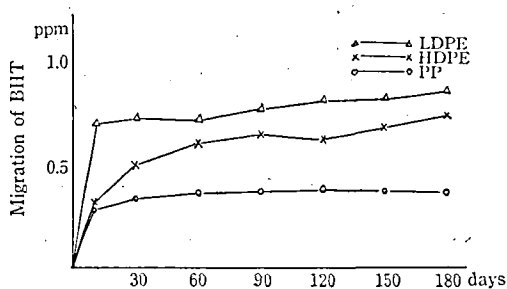


Fig. 11. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.5%) in 20% Ethanol at 40°

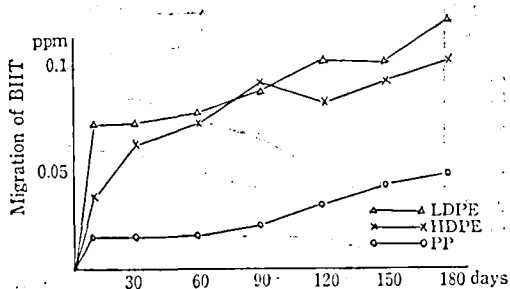


Fig. 9. Migration of BHT from PO sheets (BHT content : 0.05%) in 20% Ethanol at 40°

のシートの場合は水への溶出量と同じであった。

20% エタノールへの BHT の溶出は Fig. 8, 9 に示すように、0.05% BHT 添加の場合、室温 180 日で LDPE は 0.08 ppm, HDPE は 0.05 ppm, PP は 0.02 ppm, 40° では HDPE からの溶出は増加し、LDPE と同じ量で約 0.1 ppm, PP は 0.04 ppm であった。0.5% BHT 添加の場合、Fig. 10, 11 に示

すように、室温、180 日で LDPE は 0.7 ppm, HDPE は 0.3 ppm, PP は 0.2 ppm, 40° では LDPE は変化なく、HDPE, PP は 2 倍の 0.7 ppm, 0.4 ppm であった。0.05% 添加のものと 0.5% 添加のものとでは溶出量に約 10 倍の差がみられた。

Table 3 にオリーブ油と油脂擬似溶媒として用いられる α -ヘプタン中への BHT の溶出量を示した。

シート (表面積 50 cm², 重量 1.5 g) に含まれる BHT の理論溶出量は 0.05% 添加のものでは 6.0~7.5 ppm, 0.5% 添加のものでは 62~71 ppm となる。一方 Table 3 に示したように α -ヘプタンへの BHT の溶出は室温・10 日あるいは 40°・5 日において、0.05% で 5.0~7.0 ppm, 0.5% で 50~73 ppm と、理論溶出量とはほぼ同様の値を示し、添加 BHT のほぼ全量が溶出しているものと考えられる。

オリーブ油を用いての溶出量は室温で 90 日置いたものと、40° で 10 日置いたものとはほとんど同量であった。

以上の結果から、いずれの溶媒でも BHT の溶出量

Table 3. Relation between Migration of BHT and the Solvents

BHT contents (%)	Temperature	days	Migration of BHT (ppm)					
			Olive Oil			<i>n</i> -Heptane		
			HDPE	LDPE	PP	HDPE	LDPE	PP
0.05	Room-temp	10				5.0	6.1	5.6
		90	2.3	2.6	1.2	5.2	6.7	5.7
	40°	5				5.1	7.0	5.8
		10	1.7	3.9	2.5	5.1	7.4	5.8
	Room-temp	10				50	68	56
		90	8.6	38.8	4.7	51	70	58
0.5	40°	5				57	73	57
		10	7.7	40.0	5.9	60	75	57

は LDPE, HDPE, PP の順で少なくなることが示された。

20% エタノールの場合、水、4% 酢酸に比べ BHT の溶出量は多かった。

オリーブ油と *n*-ヘプタンとは BHT の溶出量は異なり、*n*-ヘプタンの場合は材質による違いは見られず、短期間ではほぼ全量が溶出される。オリーブ油では材質によってその溶出量には差が認められ、LDPE からの溶出量は非常に多いことが明らかとなった。

一般に人が摂取する一日の食物のうちプラスチック包装材に接しているものは 1.5 kg 程度といわれ、その表面積は 600 cm² といわれる⁹⁾。通常使用される BHT 含有シート (0.05% 添加) からの溶出は水、4% 酢酸を用いた時 0.05 ppm 以下であり、1 日最大で 60 μg が摂取される計算になる。オリーブ油の場合は溶出最高値 3.9 ppm で、オリーブ油を 52 g (1 日にとる油脂量) 摂ったとすると約 200 μg の BHT が体内に摂取されることになる。FAO/WHO の BHT の一日摂取許容量 (ADI) は 0.5 mg/kg・体重/day としていることから、プラスチックから溶出する BHT は ADI の数十分の一にすぎないと考えられる。

ポリオレフィン系は酸素透過性、耐油性に劣るので、油を長期保存することは少なく、短期的に使用される

ことが多いため、長期間の保存は内面に PO を用いたラミネートフィルムの場合のみであろうと考えられる。

文 献

- 1) 厚生省がん研究助成金による研究報告集 (下) 315 (1975)
- 2) オレフィン系およびスチレン系合成樹脂製食品容器包装等に関する自主規制基準：ポリオレフィン等衛生協議会：第 1 版 (1974)
- 3) 厚生省告示第 98 号、昭和 54 年 5 月 28 日付
- 4) 西本孝男、上田雅彦：食衛誌、5, 287 (1964)
川城 崋、細貝祐太郎：同上 3, 287 (1962), 4, 297 (1963), 6, 44 (1965)
細貝祐太郎：食衛誌、7, 271 (1966), 8, 474 (1967)
- 5) 佐藤洋子ら：同上 13, 47 (1972)
兼松 弘、丸山武紀、木下葉子、新谷 助、今村正男、食衛誌、14, 357 (1973)
- 6) 辰濃 隆：食品衛生研究、27, 1053 (1977)
- 7) 刈米達夫編：第三版食品添加物解説書 13-1003 (1973) 広川書店
- 8) Phipps A.M.: J. Am. Oil Chem. Soc., 50, 21 (1973)
- 9) 技術参考資料：塩ビ食品衛生協議会第 62 号 2 (1973)

しょう油中のエタノール含量の測定法について

吉年美千代・伊藤登志男・慶田雅洋

A Comparison of the Determination Methods of
Ethanol in Soy Sauce

Michiyo YODOSHI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA

Three methods, i.e., oxidation method (official method of the Tax Administration Agency; Standard method for hygienic chemists), gas-liquid chromatography (GLC) and iodometry (method described in the Japan Agricultural Standard), were applied for the determination of ethanol in soy sauce. Determinations were carried out on steam distillate of soy sauce. As for GLC, glass tubes of 1.5 m in length packed with 20% PEG 400/Chromosorb W (60-80 mesh) were attached to an FID gas chromatograph, temperatures of columns and injection port being adjusted to 81 and 180°, respectively. Thirteen kinds of koiguchi, usuguchi, tamari and white soy sauces purchased in Osaka district were used as test samples.

Statistical evaluation of the results revealed that significantly higher values were obtained by both oxidation and JAS methods compared with GLC, and it is presumed that Maillard reaction products present in soy sauce might have participated in the oxidation and JAS methods. From the calculated F_0 values it was concluded that there was no significant difference in the reproducibility of the three methods tested. Recoveries of added ethanol at 1 v/v% level, measured by oxidation and GLC methods, were 92.3 and 95.8%, respectively.

It is prescribed in the Japan Agricultural Standard that alcohol contents of super grade koiguchi soy sauce and usuguchi soy sauce must not be less than 0.8 and 0.7% (w/v), respectively; and from the results, it was confirmed that the samples labelled according to JAS were within the limit of defined alcohol content.

Relative coefficient of sodium chloride content versus ethanol content calculated on 10 samples, labelled not to contain synthetic preservatives, were -0.3638 , showing a weak negative correlation.

(Received May 31, 1979)

しょう油はその熟成行程で酵母による発酵が行われるので、製品は多少なりともエタノールを含むことが知られている。しょう油には保存料として、安息香酸、同ナトリウムおよび5種類のパラオキシ安息香酸エステル類を一定限量の範囲で添加することが認められているが、食品衛生法施行規則別表第5により合成保存料を使用した旨の表示をしなければならない。これに対してエタノールはその取扱については天然添加物と見なされるので、その使用量および表示に関する規制については、日本農林規格において JAS 特級こいくちしょう油および特級うすくちしょう油について、アルコール分がそれぞれ 0.8 および 0.7 w/v% 以上であることと規定しているのみであって、食品衛生法上は特に規制はない。

エタノール含量の測定法としては、衛生試験法¹⁾では比重法および酸化法について規定しており、食品衛生検査指針²⁾もこれを準用している。酸化法は、酸性で重クロム酸塩によりエタノールを酸化して酢酸と

し、残留する重クロム酸塩を滴定する方法であって、留液中の被酸化物をすべてエタノールとして算出する恐れがあり、したがってしょう油のようにかつ変物質などの還元物質を含む製品にあっては実測値が真の値よりも高くなることも考えられる。衛生試験法³⁾においては、メタノール定量にはガスクロマトグラフィー (GLC) を使用しているので、しょう油のような比較的アルコール含量の低い食品のエタノール測定には、GLCの方が適当ではないかと考える。一方、JASではアルコール分の測定は重クロム酸塩で酸化した後、よう素滴定で行うように規定しており、これも同様にすべての被酸化性物質がエタノールとして定量されることになる。

本研究においては、市販こいくち、うすくち、たまりおよびしろしょう油合計 13 検体を試料として 3 法によるエタノールの定量法について比較検討した結果について報告する。

実験方法

1. 試料

大阪府下で購入した市販しょう油 13 検体を試料として使用した。その内訳は、Table 1 に示す通りである。

2. エタノールの定量

2.1 酸化法：衛生試験法¹⁾によって行った。本法は、水蒸気蒸留留出液中のエタノールを重クロム酸塩で酸化した後、残留重クロム酸塩をジフェニルアミン-*p*-スルホン酸バリウムを指示薬として、モール塩で滴定することによって間接的にエタノール含量を求めるものである。本法は、国税庁所定分析法²⁾として採用されている。

2.2 GLC：酸化法における水蒸気蒸留留出液の一定量を取り、直接ガスクロマトグラフ (GC) に注入した。GC は柳本製作所製 Yanaco G-80 (水素炎イオン化検出器付き) を使用した。カラムはガラス製 1.5 m のものを用い、20% PEG 400/Chromosorb W (60-80 メッシュ) を充填した。注入口温度 180°, カラム温度 81°, キャリヤガス (窒素) 25ml/min. 別に、特級 99.5 v/v% エタノールを用いて作製した検量線を用いてピーク高さ法によりエタノール含量を算定した。

2.3 JAS 法：試料 10 ml をとり、しょう油の日本農林規格の試験法³⁾に基いて測定した。本法は水蒸気蒸留留出液を重クロム酸塩で酸化した後、残留する重クロム酸塩をよう素滴定することによって、間接的にエタノール含量を求めるものである。

2.4 結果の表示：酒税法にしたがって、アルコール含量は v/v% で表わした。ただし JAS では w/v% で規制しているので、JAS 法の結果のみは、v/v% と w/v% の両方で示した。

3. 食塩含量：モール法⁴⁾によって測定した。

実験結果並びに考察

市販しょう油 13 検体についての 3 法によるエタノールの測定結果は、Table 2 に示す通りである。

一般に 3 法とも反復測定による再現性はきわめて良好であった。GLC にくらべて、酸化法および JAS 法はそれぞれ測定値が高い傾向が認められ、その差は酸化法で最高 0.35%, JAS 法で 0.62% に達した。常法により統計処理した結果を Table 3 に示した。

† 検定の結果、酸化法と JAS 法はともに GLC と比較して有意の差で高い値を示すこと、並びに JAS 法と酸化法の間には有意の差がないことが認められ

た。衛生試験法¹⁾では、その注解において、“一般にアルコール飲料の場合には、GLC と酸化法の間には問題視されるような誤差を生ずることはほとんどない”と解説しているが、しょう油の場合に有意の差を生じた理由は、その中に含まれるかつ変物質などの還元性化合物の関与によるものと推定される。また、試料 No. 2 のこいくちしょう油にエタノールを 1 v/v% 添加して、回収率を調べたところ、酸化法、GLC 法の回収率は、それぞれ 92.3 および 95.8% であって、GLC の方が真のアルコール含量に近い値が得られることが示された。以上の結果から、しょう油中のエタノール含量は GLC で測定するのが適当であると結論される。また、F 検定の結果は 3 者の方法とも再現性は優れており、相互間に優劣の差は認められなかった。

JAS では、特級こいくちしょう油 (試料 No. 4, No. 5 がこれに相当) および特級うすくちしょう油 (試料 No. 7 No. 8 がこれに相当) のアルコール分は、それぞれ 0.8% (容重) および 0.7% (容重) 以上であることと規定しているが、当該試料の JAS 法による測定値はいずれもこの範囲内に入っており、問題はなかった。

食塩含量とエタノール含量の測定結果について Table 4 にまとめて比較した。特殊栄養食品の表示のあったこいくちしょう油の試料 No. 4, No. 5 では、塩化ナトリウム含量は約 9% と低いレベルにあることが認められた。これとは逆にエタノール含量はそれぞれ 3.88, 6.59% と 13 検体中上位第 2 位および第 1 位の高い値を示した。アルコール含量の高いことが、ダイエットフードとしての効果を示すとは考えられないので、減塩による腐敗防止力の低下を補うためにアルコールを添加すると考えるのが妥当である。

合成保存料添加の表示のあったのは、こいくちしょう油 1 検体 (No. 1), しろしょう油 2 検体 (No. 12, No. 13) であって、これらの製品ではアルコール含量は比較的低いレベルにあったが、塩化ナトリウム含量は 16.3~18.5 w/v% と高いレベルにあった。現在、しょう油の合成保存料としては、パラオキシ安息香酸エステル類および安息香酸ならびにそのナトリウム塩が認められているが、合成保存料添加の表示のあったものについて、使用した防腐剤の種類並びに含量についての追跡はとくに行わなかった。合成保存料使用表示のあった 3 検体を除いた 10 検体についての、食塩含量とエタノール含量についての相関係数は、 $r = -0.3638$ であって弱い負の相関が認められた。

Table 1. List of the soy sauce samples

Sample	No.	Raw material	Date of manufacture	Place of manufacture	Grade in JAS	Synthetic preservative	Remark
Koiguchi soy sauce	1	defatted processed soybean, wheat, salt, soybean amino acid solution, sugar, dextrose, caramel	July 3, 1975	Hyogo	—	added	—
	2	processed soybean, wheat, alcohol, purified salt, good quality amino acid	August 28, 1977	Osaka	—	—	—
	3	defatted processed soybean, soybean, wheat, salt, alcohol	June 17, 1978	Tokushima	—	—	—
	4	defatted processed soybean, soybean, wheat, salt, alcohol	July 5, 1978	Chiba	Super grade	—	special enriched food
	5	defatted processed soybean, wheat, salt, alcohol	April 21, 1978	Gunma	Super grade	—	special enriched food
Usuguchi soy sauce	6	processed soybean, wheat, alcohol, purified salt, good quality amino acid	August 28, 1977	Osaka	—	—	—
	7	defatted processed soybean, soybean, wheat, rice, salt, alcohol	September 12, 1978	Chiba	Super grade	—	—
	8	defatted processed soybean, soybean, wheat, salt, rice, dextrose, sugar	August 26, 1978	Hyogo	Super grade	—	—
	9	soybean, salt, alcohol	June 1, 1978	Aichi	—	—	—
Tamari soy sauce	10	soybean, wheat, salt, mirin	October 27, 1977	Wakayama	—	—	—
	11	defatted processed soybean, soybean, wheat, salt, caramel, sugar, alcohol	August 11, 1978	Aichi	Super grade	—	—
White soy sauce	12	wheat, defatted processed-soybean, salt	April 13, 1978	Chiba	Super grade	added	—
	13	wheat, soybean, amino acid, salt	April 12, 1976	Aichi	High grade	added	—

Table 2. Ethanol content of commercial soy sauce

(expressed as v/v%)

Classification	No.	Oxidation method		GLC		JAS method	
		Found	Average	Found	Average	Found	Average*
Koiguchi soy sauce	1	0.26	0.27	0.21	0.22	0.29	0.30
		0.28		0.23		0.31	
	2	0.49	0.49	0.43	0.43	0.39	0.40
		0.49		0.43		0.41	
	3	2.53	2.54	2.22	2.23	2.31	2.32
		2.55		2.23		2.33	
	4	3.91	3.92	3.87	3.88	4.48	4.50
		3.93		3.89		4.52	
	5	6.59	6.60	6.59	6.59	6.78	6.81
		6.61		6.59		6.83	
Usuguchi say sauce	6	0.49	0.50	0.44	0.45	0.46	0.47
		0.50		0.45		0.48	
	7	3.18	3.18	3.14	3.14	3.52	3.51
		3.17		3.14		3.50	
	8	3.60	3.63	3.24	3.28	3.79	3.82
		3.65		3.31		3.84	
Tamari soy sauce	9	0.61	0.61	0.61	0.61	0.67	0.67
		0.60		0.61		0.67	
	10	1.67	1.68	1.67	1.67	1.90	1.91
		1.68		1.67		1.92	
	11	1.76	1.78	1.71	1.73	1.94	1.96
		1.79		1.75		1.97	
White soy sauce	12	0.34	0.35	0.30	0.30	0.26	0.27
		0.35		0.30		0.28	
	13	2.52	2.52	2.20	2.21	2.38	2.40
		2.51		2.22		2.41	
Variance (%)			5.85		7.60		11.66

* Figures in parentheses indicate w/v%

要 約

1. しょう油のエタノール含量の測定法について、市販こいくちしょう油 5, うすくちしょう油 3, たまりしょう油 3 およびしろしょう油 2, 合計 13 検体を試料として、酸化法 (国税庁訓令法, 衛生試験法), GLC および JAS 法 (よう素法) の 3 法を比較した。

3 法とも再現性においては優れており、相互に差は認められなかった。測定値については酸化法および

JAS 法が GLC にくらべて有意の差で高い値を与えることを知った。酸化法と JAS 法の測定値には有意の差は認められなかった。GLC に比較して他の 2 法が高い値を示すのは、2 法においてしょう油中のかつ変物質などの還元性物質が、測定に関与するためであると考えられる。

2. JAS 特級表示のこいくちしょう油, うすくちしょう油のエタノール含量は、いずれも規定の範囲内であった

- E-168 : 1-(2-Chloroethyl)-1-nitroso-3-(2-pyridyl-ethyl)urea N-oxide, dp 130°
 E-181 : 1-Methyl-1-nitroso-3-(2-pyridylethyl) urea N-oxide, dp 125°
 E-188 : 1-(2-Chloroethyl)-3-morpholinourea, mp 135°
 E-194 : 1-Anilino-3-(2-chloroethyl)urea, mp 159°
 E-195 : 1-Anilino-1-nitroso-3-(2-chloroethyl) urea, mp 79-80°

(3) 複素環アジド誘導体

- E-164 : 4-Azidocinnoline, dp 143°
 E-171 : 4-Azidoquinaldine 1-oxide, dp 133°
 E-172 : 4-Azido-2-carbamoylquinoline, dp 207-208°
 E-173 : 4-Azido-2-carbamoyl-7-chloroquinoline, dp 202-203°
 E-174 : 4-Azidocinnoline 1-oxide, dp 129°
 E-175 : 4-Azidocinnoline 2-oxide, dp 186.5°
 E-176 : 2-Azidopyridine 1-oxide, dp 83.5-84.5°
 E-177 : 4-Azidoacetophenone, dp 42.5-43.5°
 E-198 : 4-Azido-7-trifluoromethylquinoline, mp 118°
 E-199 : 4-Azido-7-trifluoromethylquinoline 1-oxide, dp 149°

(4) ヒドラジンおよびヒドラゾン誘導体

- E-163 : 2,4,6-Trimethoxybenzaldehyde 4-(1-oxidoquinolyl) hydrazone, dp 236°
 E-187 : p-Ethylsulfonylbenzaldehyde 1,1-dimethylhydrazone, mp 48-50°
 E-189 : p-Dimethylaminobenzaldehyde 1,1-dimethylhydrazone, mp 69-70°
 E-190 : 2-(1,1-Dimethylhydrazinomethyl)-benzimidazole hydrochloride, dp 224°
 E-191 : 2,3-Bis(2,2-dimethylhydrazinomethyl)-quinoxaline dihydrochloride, dp 195°
 E-192 : 5-Nitro-2-furaldehyde 1,1-dimethylhydrazone, dp 110°
 E-193 : p-Ethylsulfonylbenzaldehyde 4-(1-oxidoquinolyl) hydrazone, dp 236°

(5) その他の化合物

- E-169 : 2,4-Dimethyl-1-azanthracene hydrochloride, mp>260°
 E-170 : 2,2'-Biquinolyl hydrochloride, dp>250°
 E-178 : 4-(3-Thiocarbamoyl-1-triazeno)pyridine 1-oxide, dp 145-146°
 E-179 : 4-(3-Cyano-1-triazeno)toluene potassium salt, mp>300°

- E-180 : 4-(3-Cyano-1-triazeno)cyanobenzene potassium salt, mp>300°
 E-185 : 2-Pyridylethyl N-(2-chloroethyl)-carbamate, mp 90-92°
 E-196 : 1-Piperino-2-imidazolidinone hydrochloride, mp 240°
 E-197 : 3-Nitroso-2-oxazolidinone, mp 41°
 E-200 : 2-Dodecylaminomethyl-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone, mp 144-145°

Results

Compound number	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
(1) Semicarbazide Derivatives		
E-165	—	
E-182	—	
E-183	—	
E-184	—	
E-186	—	
(2) Urea Derivatives		
E-166	—	122
E-167	+	>365
E-168	+	>344
E-181	—	122
E-188	—	
E-194	—	
E-195	—	
(3) Azido Derivatives		
E-164	—	
E-171	—	
E-172	—	
E-173	—	
E-174	—	
E-175	—	
E-176	—	
E-177	—	
E-198	—	
E-199	—	
(4) Hydrazine and Hydrazone Derivatives		
E-163	—	
E-187	—	
E-189	—*	
E-190	—	
E-191	—	
E-192	—	

Table 3. Statistical evaluations in this study

Methods	t ₀	t. 95 (24)	Evaluation	F ₀	F. 95 (13, 13)	Evaluation
Oxidation method and GLC	6.91	2.06	significant	1.30	2.58	not significant
GLC and JAS method	7.38	2.06	significant	1.53	2.58	not significant
JAS method and Oxidation method	0.15	2.06	not significant	2.00	2.58	not significant

Table 4. Sodium chloride content of soy sauce

Classification	No.	NaCl (w/v%)*1	Ethanol (v/v%)*2	Remark
Koiguchi soy sauce	1	18.46	0.22	synthetic preservative added
	2	8.29	0.43	—
	3	15.34	2.23	—
	4	9.16	3.88	—
	5	8.88	6.59	—
Usuguchi soy sauce	6	8.46	0.45	—
	7	20.06	3.14	—
	8	19.19	3.28	—
Tamari soy sauce	9	19.60	0.61	—
	10	17.14	1.67	—
	11	17.50	1.73	—
White soy sauce	12	18.29	0.30	synthetic preservative added
	13	16.34	2.21	//

*1 Determined by use of Mohr's method

*2 Determined by GLC (cf. Table 2)

3. 合成保存料添加表示のない試料の、食塩含量とエタノール含量の間には、弱い負の相関が認められた。

文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法注解，P.472 (1973) 金原出版
- 2) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針Ⅱ，P.79 (1978) 日本食品衛生協会
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法注解，P.478 (1973) 金原出版
- 4) 昭和 36 年 1 月 11 日，国税庁訓令第 1 号
- 5) 昭和 45 年 7 月 15 日，農林省告示第 974 号
- 6) 日本薬学会編：衛生試験法注解，P.663 (1973) 金原出版

合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍効果 (Ⅲ)

宮原美知子・神谷庄造・中舘正弘・末吉祥子・丹野雅幸

宮原 誠・前川昭彦・小田嶋成和

Antitumor Effect of Compounds Synthesized in the
Division of Synthetic Chemistry. (III)

Michiko MIYAHARA, Shozo KAMIYA, Masahiro NAKADATE,

Shoko SUEYOSHI, Masayuki TANNO, Makoto MIYAHARA

Akihiko MAEKAWA and Shigeyoshi ODASHIMA

As an extension of this series the antitumor activity of 162 compounds synthesized in the Division of Synthetic Chemistry was tested with Donryu rats bearing AH-13 cells and also with CDF₁ mice bearing L-1210 cells. These compounds were divided into five groups of semicarbazide, urea, azido, hydrazine and hydrazone, and miscellaneous compounds.

Some of the urea derivatives (nitrosoureas) were highly effective against AH-13 and L-1210 cells.

(Received May 31, 1979)

病理部の協力を得て、昭和 47 年 11 月から始めた抗腫瘍性化合物のスクリーニングは、現在迄に 200 種の化合物について終了した。162 種 (E-1~E-162) についてはすでに報告した^{1),2)}。今回は新しく合成された 38 種 (E-162~E-200) のスクリーニング結果を報告する。

1. スクリーニング方法

[1] AH-13 スクリーニングシステム

10⁶ ケ AH-13 細胞を Donryu rat の腹腔内に移植し、3 日後に腹水を採取し、培養状態を確かめた上でテストに使う動物を決めた。1 群 6 匹とし、処置群は 2~3 群とした。移植後 3 日目より毎日 1 回計 5 回腹腔内投与により、効力を検討した。投与量は 1 回腹腔内投与の最大耐量の 1/5 とした。効力の評価は移植後 30 日、60 日での生存率によった。判定基準は次のように定めた。

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
—	No Survivors	No Survivors
±*	0/6~6/6	0/6~1/6
++	2/6~6/6	2/6~3/6
+++	4/6~6/6	4/6~6/6

* 但し、±には 30 日生存動物がないものでも、30 日以内での現存延長のみられたものを含めた。

[2] L-1210 スクリーニングシステム

10⁶ の L-1210 細胞を CDF₁ mouse の腹腔内に移植し、2 日と 6 日目に腹腔内に化合物を投与した。1 群 3 匹で 3~4 群の処置群を使った。効果は最高 T/C (処置群の平均生存日数/対照群の平均生存日数) % により表わした。T/C ≥ 125% を有効の目安とした。

2. 化合物

今回スクリーニングを行った化合物を 5 系統に分類し、その分類、化学名および融点または分解点はつぎの通りである。

(1) セミカルバジド誘導体

E-165: 1,1-Dimethyl-3-(2-chloroethyl)semicarbazide, mp 111°

E-182: 1-Indanone thiosemicarbazone, mp 180°

E-183: 1-Tetralone thiosemicarbazone, mp 200°

E-184: 6-Methoxy-2-tetralone thiosemicarbazone, mp 201°

E-186: 9-Fluorenone thiosemicarbazone, dp 224°

(2) 尿素誘導体

E-166: 1-Methyl-1-nitroso-3-(2-pyridylmethyl)urea N-oxide, dp 125°

E-167: 1-(2-Chloroethyl)-1-nitroso-3-(2-pyridylmethyl)urea N-oxide tosylate, dp 128°

Compound number	AH-13 screening	L-1210 screening Max. T/C
E-193	—	
(5) Others		
E-169	—	
E-170	—	
E-178	—	
E-179	+	106
E-180	—	
E-185	—	
E-196	—	
E-197	++	**
E-200	—*	

* Anti-AH-13 effect was evaluated by MED (minimum effective dose) test.³⁾

** under testing

3. スクリーニング結果のまとめ

以上の結果を集計すると次のようになる。

	AH-13 スクリーニング $\geq$ ±
(1)セミカルバジド誘導体	0/5
(2)尿素誘導体	2/7
(3)複素環アジド誘導体	0/10
(4)ヒドラジンおよびヒドラゾン誘導体	0/7
(5)その他の化合物	2/9

今回スクリーニングを終了した 38 種の中で、AH-13 に対して効果を示したものは 4 種と少なかった。尿素誘導体の構造活性相関については、目下 Gann に投稿中である。本誌前報²⁾に報告したように 1-(2-クロロエチル)基を有するニトロソ尿素類は AH-13 と L-1210 の両方に効力を示し、1-メチル基を有するニトロソ尿素誘導体は L-1210 のみに弱い効力を示した。

セミカルバジド、アジド、ヒドラジン、ヒドラゾンなどの中には効力を示すものはみられなかった。トリアツェン誘導体は前報告のものを含めると既に 13 種のをスクリーニングにかけた。E-179 が AH-13 に+という結果がでて期待されたが、L-1210 には無効であった。既知のトリアツェン制癌剤 DTIC と比してアルキル化する基が不足していることが効力のない原因となっていると思われ、更にメチルトリアツェンの検討を行う予定である。

現在迄の状況は以上であるが、今までにない抗腫瘍性官能基を求めて、更に実験を重ね、より良い抗腫瘍剤の開発をめざしている。

文 献

- 1) 安斉美知子ら：衛生試験, 94, 148 (1976)
- 2) 宮原美知子ら：衛生試験, 96, 91 (1978)
- 3) Michiko Miyahara *et al.* : *Gann*, 68, 573 (1977)

国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品)

“脳下垂体後葉標準品 (第 9 回, Control 771)” について

福田秀男・谷本 剛・木村俊夫・川村次良

On the Japanese Pharmacopoeia Standard

“Posterior Pituitary Standard (9th, Control 771)”

Hideo FUKUDA, Tsuyoshi TANIMOTO, Toshio KIMURA
and Jiro KAWAMURA

The Japanese Pharmacopoeia Standard, Posterior Pituitary Standard (9th, Control 771) was prepared and its oxytocin and vasopressin potencies were assayed against 3rd International Standard by the fowl blood pressure method and the spinal rat blood pressure method, respectively, in collaboration with four laboratories. The potency of the new standard thus obtained was defined as 1.65 International Units per milligram.

(Received May 31, 1979)

脳下垂体後葉標準品は第 6 改正日本薬局方¹⁾の標準品として採用されて以来、現在に至るまでオキシトシンおよびバソプレシン製剤の力価決定やこれらに関連した研究のために広く用いられて来た。昭和 46 年に作られた現在のこの標準品 (Control 701~704) は残り少くなり新しいロットに切り換えなければならなくなった。現行ロットを含めて過去 8 回のロットについては、当部において各時点における国際標準品 (現在は第 3 回, 1957 年製) を対照として単位を決定して来たが、単位の正確さを期すためには、実験室間の差をできるだけ少くし、また検定の回数も多くすることが必要である。そこで今回、下記の 3 社に新脳下垂体後葉標準品原料の共同検定を依頼し、当部のデータを加え計 4 ケ所のデータを集計して統計学的検討を加え、新標準品の力価を 1.65 国際単位/mg と決定することができた。なお、今回各試験機関で得られた測定平均値の中には、明らかに有意の差が認められるものもあり、このことは同一の標準溶液を使用した場合でも各試験機関で特有の測定値が得られる可能性の大きいことを示唆しており、このような生物検定法の場合のいくつかの機関による共同検定の意義を示したものとえよう。

試験機関名 (順不同) : 三共株式会社, 帝國臓器製薬株式会社, 持田製薬株式会社。

試験方法および材料

1. 標準品 : 第 3 回国際標準品 (1957) [ウシ脳下垂

体後葉粉末約 30 mg 入りアンプル, 2 オキシトシン・バソプレシン単位/mg] を日局オキシトシン注射液の定量法の項に従がい調製した標準原液を約 1 ml/ ずつ小分けしたアンプルを各試験機関に 10 本ずつ配布した。

2. 試料 (標準品原料) : 本原料はウシ脳下垂体後葉のアセトン乾燥粉末で、帝國臓器製薬株式会社から購入したものである。同社による自家試験成績によれば力価は 1.70 単位/mg である。この原料粉末をアンプルに入れ、融封する際はすべて減圧下に五酸化リン上で 3.5 日間乾燥したのちに行った。本原料約 20 mg 入りアンプルを各試験機関に 10 本ずつ配布した。各検定にはその都度必ず 1 本を開封してオキシトシン注射液の標準原液の調製法を準用して試料溶液を調製すること、アンプルの開封に際してはガラス管にヤスリできずをつけ、そのきず付近に赤熱したガラス球を押し当ててそのきずを大きくし、ガラス片の混入に注意することなどを定め、各試験機関での条件が出来るだけ同一となるようにした。

3. 定量法 : 日局オキシトシン注射液²⁾ および日局バソプレシン注射液³⁾の定量法によった。

試験結果

1. オキシトシンの力価

各試験機関の結果を Table 1 にまとめた。A, B, C, D 各機関で得られた単純平均力価はそれぞれ 1.55, 1.77, 1.62 および 1.75 単位/mg であった。

Table 1. Combined of the assays for oxytocin potency of posterior pituitary standard material

Exp no.	Lab	Found potency (units/mg)	L-value	w'
1	A	1.49	0.117	1197.6
2	A	1.54	0.048	1905.1
3	A	1.51	0.107	1282.1
4	A	1.63	0.057	1733.1
5	A	1.59	0.117	1197.6
6	B	1.78	0.026	1904.8
7	B	1.79	0.062	1519.8
8	B	1.73	0.076	1355.0
9	B	1.76	0.030	1869.2
10	B	1.79	0.049	1675.4
11	C	1.59	0.045	1897.5
12	C	1.59	0.048	1686.3
13	C	1.62	0.041	1763.7
14	C	1.66	0.044	1730.1
15	C	1.62	0.029	1879.7
16	D	1.75	0.028	1938.0
17	D	1.60	0.113	1231.5
18	D	1.72	0.056	1742.2
19	D	1.66	0.174	803.2
20	D	1.63	0.136	1048.2
21	D	1.75	0.069	1626.0
22	D	1.82	0.049	1798.6

Semi-weighted mean potency = $\text{antilog } \sum (w'M) / \sum w'$
= 1.668 units/mg

$Lc'^2 = 4 t^2 / \sum w' = 0.0004567$

$Lc' = 0.0214$ (1.628 ~ 1.710 units, $P = 0.95$)

個々の検定は1例を除き日局の規定（ $L = 0.15$, $P = 0.95$ ）以上の信頼度を有しており，したがって全データを採用して重みつき平均力価を算出しても差支えないと考えられた。しかしながら，各検定機関での測定力価がそれぞれに狭い信頼限界を持っているために，力価の重なり合う部分が少なく，例えばAとBで得られた平均値間には明らかに有意な差が認められている（ $P < 0.001$ ）。したがって各検定の一致性の検査（ χ^2 検査）において限界値より大きい値が得られたので，重み $w = 4 t^2 / L^2$ の代わりに $w' = 1 / (V + v)$ （但し， $V = 1/w$ ）を用いて重みつき平均力価を算出⁴⁾した結果，1.668 単位/mg の値を得，その信頼限界（ $P = 0.95$ ）は 1.628 ~ 1.710 単位（97.6 ~ 102.5%）であった。

2. バソプレシンの力価

各試験機関の結果を Table 2 に示す。A, B, C, D の各機関で得られた単純平均力価はそれぞれ 1.64, 1.75, 1.56 および 1.72 単位/mg で，B と C で得られた単純平均力価間に明らかな有意差が認められる（ $P < 0.001$ ）など，オキシトシンの場合とほぼ同様の傾向が見られ，したがって重みとして w' を用いて重みつき平均力価を算出⁴⁾し，1.664 単位/mg の値を得た。この平均力価の信頼限界（ $P = 0.95$ ）は 1.622 ~ 1.708 単位（97.5 ~ 102.6%）であった。

3. 新標準品の単位および含有水分

オキシトシンおよびバソプレシンの両方の力価が 1 mg 当りそれぞれ 1.668 単位および 1.664 単位と極めてよく一致する値が得られたので，新標準品の両ホルモンの単位は 1.60 と 1.70 の間に置くのが適当と

Table 2. Combined of the assays for vasopressin potency of posterior pituitary. standard material

Exp no.	Lab	Found potency (units/mg)	L-value	w'
1	A	1.74	0.148	1030.6
2	A	1.60	0.120	1273.4
3	A	1.57	0.075	1759.6
4	B	1.75	0.019	2250.7
5	B	1.77	0.036	2069.1
6	B	1.76	0.048	1903.7
7	B	1.71	0.059	1741.3
8	B	1.74	0.146	758.0
9	C	1.50	0.054	1813.9
10	C	1.63	0.067	1622.6
11	C	1.54	0.028	2163.1
12	C	1.56	0.042	1986.9
13	C	1.59	0.097	1512.2
14	D	1.74	0.018	2286.8
15	D	1.70	0.019	2281.5
16	D	1.70	0.063	1896.5
17	D	1.83	0.096	1512.4
18	D	1.60	0.098	1500.8

Semi-weighted mean potency=antilog $\sum (w'M)$
 $=1.654$ units/mg

$Lc'^2=4 t^2/\sum w'=0.00051$

$Lc'=0.0226$ (1.622~1.708 units, $P=0.95$)

考えられた。従来のこの標準品は 2 桁の数字に留めていたが今回の検定の精度を考慮して 3 桁まで採用することとし、その数値は 1.65 が最も妥当と考えられた。このようにして、新脳下垂体後葉標準品 (Control 771) の力価を 1.65 国際単位/mg と決定した。なお、本標準品はアンプル当り約 10 mg を含むものであるが、これらのアンプルから 5 本を任意に抜き取り、平沼 AQ-1 微量水分測定装置により水分を測定したところ、 $1.30\% \pm 0.20$ (SD, $n=5$) であった。

終りに共同検定に御協力戴いた三共株式会社、帝國

臓器製薬株式会社ならびに持田製薬株式会社に深く感謝いたします。また国際標準品を分与された WHO に感謝いたします。

文 献

- 1) 第 6 改正日本薬局方 P.442 (1951) 厚生省版
- 2) 第 9 改正日本薬局方 P.230 (1976) 厚生省版
- 3) 第 9 改正日本薬局方 P.450 (1976) 厚生省版
- 4) C.I. Bliss : *Drug Standard*, 24, 33 (1956)

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）

“デスラノシド標準品”について

徳永裕司・木村俊夫・川村次良

The National Institute of Hygienic Sciences Reference
Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard)
“Deslanoside Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

A material of deslanoside was tested for the preparation of the Deslanoside Reference Standard by the thin-layer chromatography, the infrared spectroscopy, optical rotation, loss on drying, melting point, and assay. Following results were obtained: optical rotation; $[\alpha]_D^{20} = +7.5^\circ$ ($c=2\%$ in pyridine), loss on drying; 3.0%, melting point; 226.9° (decomposition), thin-layer chromatography; two contaminants noted, related substance; 0.8%, assay; against USP Standard; 103.3% (picric acid method), 98.7% (acidic ferric chloride method).

In accordance with the analytical data, the material was authorized as the National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard).

(Received May 31, 1979)

第九改正日本薬局方 (J.P. IX) デスラノシドの純度試験, 定量法, および同注射液の確認試験, 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) デスラノシド標準品 (control No. 781) 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 米国薬局方標準品 (USP 標準品, control F), 英国薬局方標準品 (BP 標準品, batch No. 587), および JP 標準品 (control No. 711)。

3. 試験方法

1) 乾燥減量, 旋光度は, J.P. IX デスラノシドの試験法を準用し, 融点 (分解点) は, J.P. IX 一般試験法を準用した。

2) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法を用いて測定した。

3) 薄層クロマトグラフ法: メルク社製プレコーチング薄層板 (厚さ 0.25 mm) を 110° で 1 時間活性化したのち, 標準品原料, JP 標準品, BP 標準品, および USP 標準品のメタノール溶液 (1 mg/ml) のそれぞれ 50 μ l を 1 cm の幅にスポットする。シクロロメタン・メタノール・ホルムアミド (80:19:1) を展開溶媒として約 13 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, 105° で 10 分間加熱したのち, 長波長紫外線 (366 nm) の照射下におけるけい光部分の観察を行う。

4) 発けい光性類縁物質: J.P. IX ジゴキシンの純度試験を準用する。

5) 定量法

i) ピクリン酸法: J.P. IX デスラノシドの定量法を準用する。ただし, 標準品には, USP 標準品を使用する。

ii) 酸性塩化第二鉄法: 標準品原料および USP 標準品をそれぞれ五酸化リンを乾燥剤として 60° で 4 時間, 減圧乾燥し, その約 10 mg を精密に量り, メタノールを加えて溶かし, 正確に 20 ml とし, その液 5 ml ずつを正確に量り, メタノールを加えて正確に 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, 水浴上で空気を送りながら蒸発乾固する。これに酸性塩化第二鉄試液 5 ml ずつを加えて溶かし, しばしばかき混ぜ, 20° で 20 分間放置する。ここに得た液につき, 酸性塩化第二鉄試液を対照とし, 波長 590 nm における吸光度 A_T および A_S を測定する。

$$\text{デスラノシドの量 (mg)} = \text{USP}$$
$$\text{標準品の量 (mg)} \times A_T / A_S$$

4. 試験成績

1) 性状: 白色の粉末でにおいはない。

2) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す。USP 標準品と同一のスペクトルを与えた。

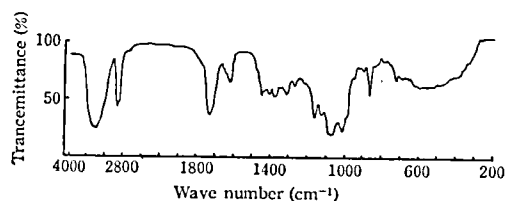


Fig. 1. Infrared spectrum of Deslanoside

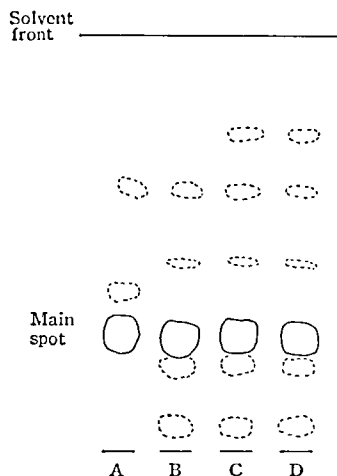


Fig. 2. Thin-layer chromatograms of Deslanoside

A : material, 50 μ g, B : USP standard, 50 μ g, C : BP standard, 50 μ g, D : JP standard 50 μ g

3) 旋光度 : $[\alpha]_D^{20} = +7.5^\circ$ (0.2 g, ピリジン, 10 ml, 100 mm).

4) 乾燥減量 : 3.0% (0.2 g, 減圧, 五酸化リン, 60°, 4 時間)

5) 融点 (分解点) : 226.9°.

6) 薄層クロマトグラフ法 : Fig. 2 に示す. Fig. 2 から, 標準品原料では, 2 個, USP 標準品では, 4 個, BP 標準品では, 5 個, JP 標準品では, 5 個の不

Table 1. Amounts of deslanoside in material, JP Standard, and BP Standard against USP Standard obtained by the picric acid method (PA) and the acidic ferric chloride method (FC)

	(%)	
	PA	FC
material	103.3	98.7
JP Standard	102.2	99.8
BP Standard	101.2	101.6

純物スポットが観察された.

7) 発けい光性類縁物質 : 0.79%. USP 標準品, BP 標準品, JP 標準品中には, それぞれ, 2.54, 1.50, 1.54% の発けい光性類縁物質の混在が確認された.

8) 定量法 : ピクリン酸法, 酸性塩化第二鉄法にて得られた標準品原料, JP 標準品, BP 標準品の定量値を, USP 標準品を 100% として Table 1 に示す.

結 論

標準品原料として入手したデスラノンドを米国薬局方標準品, 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.

定量法において, 米国薬局方標準品を 100% としたとき, ピクリン酸法, 酸性塩化第二鉄法では, それぞれ, 103.3, 98.7% の値が得られた. 薄層クロマトグラフ法により, 原料中には, 2 個の不純物のスポットが観察され, 発けい光性類縁物質として, 0.79% の不純物が検出された.

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.

終わりに, 標準品の製造にあたり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に感謝します.

国立衛生試験所標準品第8回“リゾチーム標準品”について

谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard
8th “Lysozyme Standard”Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Toshio KIMURA
and Jiro KAWAMURA

The eighth “Lysozyme Standard” (Control : 781) of the National Institute of Hygienic Sciences was prepared. On the basis of results of the test of its potency, amino acid composition, loss on drying and polyacrylamide gel electrophoresis, the “Lysozyme Standard” (Control : 781) containing 1 mg (potency) of lysozyme per 1 mg was authorized.

(Received May 31, 1979)

国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control : 781) を製造したので、その結果を報告する。

I 力価測定

リゾチーム標準品原料 (生化学工業社製) の力価をリゾチーム標準品 (Control : 771) を対照として、次に示す定量法—1 および定量法—2 によって測定した。

I—1 試薬：

(1) リン酸塩緩衝液 (pH 6.2)

規格試験法¹⁾に記載された方法にしたがって調製した。

(2) 基質液

Micrococcus lysodeikticus の乾燥菌体 (生化学工業社製) を用いて、規格試験法¹⁾に記載された方法で調製した。

I—2 定量法—1：前報²⁾に記載した方法にしたがって行った。

I—3 定量法—2：規格試験法¹⁾に記載された定量法を準用した。

I—4 定量結果：定量法—1 および定量法—2 で求めた試料 1 mg のリゾチーム量 [mg (力価)] を Table 1 に示した。いずれの定量法においてもリゾチーム 1 mg は 1 mg (力価) を含有することが示された。

II アミノ酸組成

リゾチーム標準品原料のアミノ酸分析を行い、リゾチーム標準品 (Control : 771) と比較した。アミノ酸分析は Spackman ら³⁾の方法にしたがって行った。すなわち、リゾチーム標準品原料約 3 mg を硬質試験管にとり、6 N 塩酸 1.5 ml を加えて減圧下で封管し、これを 110° で 24 時間加水分解した。加水分解

Table 1. Activities of the lysozyme preparation (Control : 781)

Exp. No.	Activity, [mg (potency)]/mg	
	Method-1	Method-2
1	1.014	1.102
2	0.964	0.987
3	0.975	1.049
4	0.967	1.013
5	1.026	0.951
6	1.055	1.042
7	1.057	0.972
8	0.959	0.937
9	1.062	1.001
10	1.076	0.952
Mean ± S.D.	1.016 ± 0.0460	1.001 ± 0.0520

後、内容物を水浴上で蒸発乾固し、残留物について日立 KLA-3B 型アミノ酸分析計で分析した。リゾチーム標準品原料のアミノ酸組成は文献値⁴⁾およびリゾチーム標準品 (Control : 771) の組成²⁾とよく一致した (Table 2)。

III 乾燥減量

リゾチーム標準品原料約 0.5 g を精密に量り、デシケーター (シリカゲル) に入れ、恒量になるまで減圧乾燥した。8 時間で恒量となり、その時の乾燥減量は 4.09% であった (Table 3)。

IV ポリアクリルアミドゲル電気泳動

IV—1 ゲルの調製：Reisfeld ら⁵⁾の方法にしたが

Table 2. Amino acid composition of the lysozyme preparation (Control : 781)

Amino acid	Preparation (Control : 781)	Lysozyme standard (Control : 771)	Theoretical ⁽⁴⁾
Lys	6.02	6.05	6
His	0.88	0.93	1
Arg	11.29	11.3	11
Asp	21.75	21.3	21
Thr	6.85*	6.85*	7
Ser	9.62*	8.72*	10
Glu	5.13	4.94	5
Pro	2.16	2.04	2
Gly	12.56	12.3	12
Ala	12.53	12.3	12
Cys	2.45	1.68	4
Val	5.87	5.80	6
Met	2.01	1.90	2
Ile	5.91	5.75	6
Leu	8.19	8.07	8
Tyr	3.00	3.00	3
Phe	3.03	3.01	3

* Uncorrected

Table 3. Loss on drying of the lysozyme preparation (Control : 781)

Exp. No.	Loss on drying (%)
1	3.64
2	4.41
3	4.23
Mean±S.D.	4.09±0.327

って、pH 4.0 用ゲルを調整した。分離用ゲルはゲル濃度 10.5%、長さ 5 cm とし、濃縮用ゲルはゲル濃度 2.5%、長さ 1 cm とした。試料用ゲルは作製しなかった。

IV-2 試料溶液の調製：リゾチーム標準品原料を 30% しょう糖水溶液に溶解して、1 ml 当り 0.104, 0.208, 0.416, 0.624, 0.832, 1.040, および 1.56 mg を含む液を調製し、これを試料溶液とした。

IV-3 電気泳動：各ゲルの上端に各試料溶液 0.05 ml ずつを積層し、上部緩衝液槽を陽極に、下部緩衝液槽を陰極に接続し、ゲル管 1 本当り 3 mA の電流を通じて 130 分間泳動した。

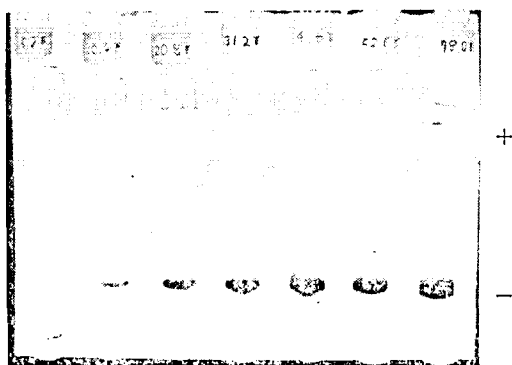


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of the lysozyme preparation (Control : 781)

Electrophoresis was carried out in 10.5% polyacrylamide gel at pH 4.0.

IV-4 染色と脱色：電気泳動終了後、ゲルをガラス管から取り出し、1% アミドブラック 10B 溶液に 2 時間浸して染色し、次いでゲルを 7% 酢酸に浸すことによって過剰の色素を除いた。

IV-5 泳動結果：Fig. 1 に示すように、高濃度の試料溶液を用いても単一の染色帯しか認められず、リ

ゾチームの標準品原料は電気泳動的に均一なものであった。

ま と め

第8回リゾチーム標準品を製造するにあたり、原料の力価を前回標準品（Control：771）を対照として測定したところ、定量法—1 および定量法—2 で測定した力価は 1.016 ± 0.0460 および 1.001 ± 0.0520 mg（力価）であり、両法の値はよく一致した。原料の乾燥減量は 4.09% であった。原料のアミノ酸分析の結果は標準品（Control：771）の分析値と差はなく、理論値ともよく一致した。また原料の純度をポリアクリルアミドゲル電気泳動法でしらべてみたが、電気泳動的には均一なものであり、不純物の存在は認められなかった。以上の結果から、本原料をリゾチーム標準品

（Control：781）とし、その 1 mg はリゾチーム 1 mg（力価）を含むものと認定した。

訂正 前報²⁾における第6回“リゾチーム標準品”を第7回“リゾチーム標準品”に訂正する。

文 献

- 1) 医薬品の規格および試験法, P.17 (1967), 厚生省薬務局製薬課
- 2) 谷本 剛ら：衛生試報, 96, 98 (1978)
- 3) D.H. Spackman, W.H. Stein, S. Moore : *Anal. Chem.*, 30, 1190 (1958)
- 4) R.E. Canfield, A.K. Liu : *J. Biol. Chem.*, 240, 1997 (1965)
- 5) R.A. Reisfeld, U.J. Lewis, D.E. Williams : *Nature*, 195, 281 (1962)

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

徳永裕司・木村俊夫・川村良次

The National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Lanatoside C Reference Standard”

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

A material of lanatoside C was tested for the preparation of the Lanatoside C Reference Standard by the thin-layer chromatography, the infrared spectroscopy, optical rotation, loss on drying, melting point and assay. Following results were obtained: optical rotation; $[\alpha]_D^{20} = +33.6^\circ$ ($c=1\%$ in methanol), loss on drying; 3.64%, melting point; 259.9° (decomposition), thin-layer chromatography; three contaminants, related substance; 1.78%, assay against International Chemical Reference Substance; 99.3% (picric acid method), 100.9% (acidic ferric chloride method), 100.3% (fluorometric determination¹⁾).

In accordance with the analytical data, the material was authorized as the National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard).

(Received May 31, 1979)

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、同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” (control No. 781) 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 (ICRS, control No.

167022), 英国薬局方標準品 (BP 標準品, batch No 590), および JP 標準品 (control No. 741)。

3) 試験方法

i) 乾燥減量, 旋光度は, J.P. IX ラナトシドCの試験法を準用し, 融点 (分解点) は, J.P. IX 一般試験法を準用して測定した。

ii) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法を用

いた。

iii) 薄層クロマトグラフ法: メルク社製プレコーチング薄層板 (厚さ 0.25 mm) を 110° で 1 時間活性化し、標準品原料, JP 標準品, BP 標準品, および ICRS のメタノール溶液 (1 mg/ml) のそれぞれ 50 μ l を 1 cm の幅にスポットする。次に、シクロロメタン・メタノール・水 (84:15:1) を展開溶媒として約 13 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、105° で 10 分間加熱したのち、長波長紫外線 (366 nm) の照射下における光部分の観察を行う。

iv) 発けい光性類縁物質: J.P. IX ジゴキシンの純度試験を準用する。

v) 定量法

i) ビクリン酸法: 標準品原料および ICRS をそれぞれ五酸化リンを乾燥剤として 60° で 4 時間、減圧乾燥し、その約 25 mg を精密に量り、メタノールを加えて溶かし、正確に 25 ml とし、その液 5 ml ずつを正確に量り、メタノールを加えて正確に 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 25 ml のメスフラスコに入れ、それぞれにアルカリ性ビクリン酸試液 15 ml を加えてよく振り混ぜたのち、メタノールを加えて 25 ml とし、20° で 25 分間放置したのち、別にメタノール 5 ml を正確に量り、同様に操作した液を対照とし、波長 485 nm におけるそれぞれの吸光度 A_T および A_S を測定する。

ラナトシド C の量 (mg) = ICRS の量 (mg) $\times A_T / A_S$
 ロ) 酸性塩化第二鉄法: ビクリン酸法に従い、試料溶液および標準溶液を調製する。試料溶液および標準溶液 4 ml 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蒸発乾固する。これに酸性塩化第二鉄試液 5 ml ずつを加えて溶かし、しばしばき混ぜ、20° で 20 分間放置する。ここに得た液につき、酸性塩化第二鉄試液を対照とし、波長 590 nm における吸光度 A_T および A_S を測定する。

ラナトシド C の量 (mg) = ICRS の量 (mg) $\times A_T / A_S$
 ハ) けい光法¹⁾: 標準品原料および ICRS を五酸化リンを乾燥剤として 60° で 4 時間乾燥し、その約 5 mg を精密に量り、メタノールを加えて溶かし、正確に 100 ml とする。この液 5 ml を正確に量り、メタノールを加えて正確に 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、対照としてメタノール 2 ml ずつを正確に量り、別々の共せん試験管に入れ、アスコルビン酸溶液 10 ml および過酸

化水素水 1 ml を正確に加えて激しく混和したのち、ときどきき混ぜながら 40° で 20 分間放置する。励起波長 357 nm およびけい光波長 485 nm を用いたときの試料溶液、標準溶液および対照から得たけい光強度 F_T , F_S および F_0 を測定する。

ラナトシド C の量 (mg) = ICRS の量 (mg)

$$\times (F_T - F_0) / (F_S - F_0)$$

アスコルビン酸溶液: アスコルビン酸 17.5 mg をメタノール 25 ml に溶解し、更に塩酸 100 ml を加えて混和する。

過酸化水素水: 強過酸化水素水 (30%) 1 ml に水を加えて 500 ml とする。この液 5 ml に水を加えて 100 ml とする。

4) 試験成績

i) 性状: 白色の粉末ではない。

ii) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す。国際化学参照物質と同一のスペクトルを与えた。

iii) 旋光度: $[\alpha]_D^{20} = +33.6^\circ$ (乾燥後, 0.2 g, メタノール, 20 ml, 100 mm)。

iv) 乾燥減量: 3.64% (0.2 g, 減圧, 五酸化リン,

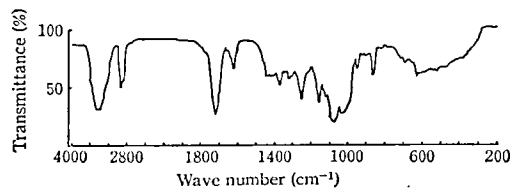


Fig. 1. Infrared spectrum of Lanatoside C

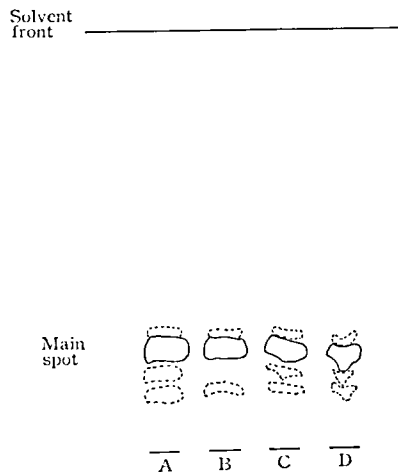


Fig. 2. Thin-layer chromatograms of Lanatoside C

A: material, 50 μ g, B: ICRS, 50 μ g, C: BP Standard, 50 μ g, D: JP Standard, 50 μ g

Table 1. Amounts of lanatoside C in material, BP Standard, and JP Standard against International Chemical Reference Substance obtained by the picric acid method (PA), the acidic ferric chloride method (FC), and the fluorometric determination (FD)

	PA	FC	FD
material	99.3	100.9	100.3
BP Standard	100.6	100.5	99.2
JP Standard	101.4	100.0	100.6

(%)

60°, 4時間).

v) 融点 (分解点) : 259.9°.

vi) 薄層クロマトグラフ法 : Fig. 2 に示す. Fig. 2 から, 標準品原料では 3 個, ICRS では 2 個, JP 標準品では 3 個, BP 標準品では 3 個の不純物スポットが観察された.

vii) 発けい光性類縁物質 : 1.78%. ICRS, JP 標準品, BP 標準品中には, それぞれ, 0.80, 1.18, 1.13% の発けい光性類縁物質の混在が確認された.

viii) 定量法 : ピクリン酸法, 酸性塩化第二鉄法,

およびけい光法にて得られた標準品原料, JP 標準品, BP 標準品の定量値を, ICRS を 100% として Table 1 に示す.

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, 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.

定量法において, 国際化学参照物質を 100% としたとき, ピクリン酸法, 酸性塩化第二鉄法, けい光法では, それぞれ, 99.3, 100.9, 100.3% の値が得られた. 薄層クロマトグラフ法により, 原料中には, 3 個の不純物のスポットが観察され, 発けい光性類縁物質試験では, 1.78% の不純物が検出された.

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.

終わりに, 標準品の製造にあたり協力いただいたサント薬品株式会社, WHO 化学参照物質センター, および英国薬局方コミッションに感謝します.

文 献

- 1) 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良 : 医薬品研究, 8, 39 (1977)

Present Status of Biomedical Application of Fibers in Japan

Takuma ŌBA

The surgical dressings manufactured mainly from absorbent cotton, gauze including the dressings made those materials as main component are used. Recently, the dressings made from non-woven fabrics and cotton-paper are also used.

There are several official standards for Absorbent Cotton, Gauze and Purified Cotton were published in the JP and the standards for tampon and sanitary napkin are stipulated in the ordinance issued by the Ministry of Health and Welfare.

Silk sutures has the longest history in Japan and the standard for silk sutures has been published in the JIS together with catgut sutures. Silk sutures are supplied in both twisted and braided forms, but about 60% of silk sutures in Japan are twisted silk sutures. The standard for non-absorbable plastic sutures is stipulated in the ordinance of the Ministry of Health and Welfare, but new absorbable synthetic sutures made from regenerated collagen fibers and/or polyglycolic acid fibers have been introduced recently in addition to catgut sutures.

(Received May, 1979)

Table 1. Comparison of standards in JP-9 and USP-19 for Purified Cotton

	JP-9	USP-19
Alkalinity or Acidity	neutral	same as JP
Water-soluble Substances	not more than 0.25%	not more than 0.35%
Alcohol-soluble Dyes	extracts show a yellowish, but neither a blue nor a green tint	
Absorbency	not less than 20 times its weight of water	30 times
Submersion Time	within 5 seconds	within 10 seconds
Fluorescent Brightening	not perceptible all over the surface	—
Other Filaments (Iodine solution test)	no colored filament is found	—
Neps	not contain a remarkable number of neps	—
Fiber-length		
6.0 (6.25) mm or less	not more than 10%	not more than 10%
12.5 mm or greater	—	not less than 60%
Fatty Matter	—	not exceed 0.7%
Residue on Ignition	not more than 0.25% for oxide	not more than 0.2% for sulfate

The application of fibers to medical field has originally been directed to surgical dressings, such as absorbent cotton, gauze and bandages and surgical sutures. Today, fibers including synthetic fibers plays a very important role in medical profession and their biomedical application has been expanded into various areas. I would like to explain about the Japanese official standards and test methods, comparison thereof against United States Pharmacopeia (USP) and also the current status in Japan of each application.

1. Surgical Dressings

The natural fibers are most commonly used in surgical dressings, such as absorbent cotton and gauze. However, recently, various secondary products were also develop with paper cotton and/or non-woven fabrics. In the 9th edition of the Japanese Pharmacopoeia (JP) under the Pharmaceutical Affairs Law (PAL) of Japan, quality standards and test methods has been listed for absorbent cotton, purified cotton, absorbent gauze and adhesive tape. The standards for purified cotton as stipulated in JP-9 and USP-19 are

shown in Table 1.

Those two standards are very similar. The standards for Alkalinity or Acidity, Alcohol-soluble Dyes are exactly the same. However, JP demands for more tighter standard than USP in respect of Water-soluble Substances, Absorbency and Submersion.

The test requirements for Fluorescent brightening and Neps are provided in JP only. The items stipulated in USP but not listed in JP are observed in two areas; namely, fiber length and the contents of fatty matter. The material must contain more than 60% of fibers having length over 12.5 mm or more and Fatty Matter content is restricted as less than 0.7%. This difference is considered due to the fact that JP does not demand for fiber length because of that Japan depends upon supply of raw cotton mainly from India and Pakistan and also that the requirement for Fatty Matter is screened by Sedimentation Rate instead. The importing quantity and countries of raw cotton are shown in Fig. 1.

Absorbent Cotton as stipulated in JP is a little

Table 2. Comparison of specification between in JP-9 and USP-19 for Absorbent Gauze

JP-9		USP-19
Acid or Alkali		neutral
Water-soluble substances		not more than 0.25%
Dextrin or starch		no red, violet or blue color develops by iodine solution
Alcohol-soluble Dyes		extracts show a yellowish, but neither a blue nor a green tint
Fluorescent Brightening		not perceptible all over the surface
Submersion time (Absorbency)	not more than 8 sec. using 10g	not more than 30 sec. using 90×10 cm
Other filaments (Iodine solution test)	no colored filament is found	—
Fatty matter	—	not more than 0.7%
Residue on ignition	not more than 0.25% for oxide	not more than 0.15% for sulfate
Texture (thread counts, width, length, weight)	4 types	8 types

low grade of Purified Cotton, but the specification for Absorbent Cotton is the same as those for Purified Cotton except for Water-soluble Substance which must be of 0.28% and Submersion of 8 seconds.

A comparison of the specifications between JP and USP for Absorbent Gauze are shown in Table 2.

While the test requirements for Acid or Alkali, Dextrin or Starch, Alcohol-soluble Dyes and Water-soluble Substances are the same. Absorbency (Submersion Time) is incomparable as the quantity of test material is different, the restrictions for Residue on Ignition and Dying by iodine solution for chemical fiber and Fluorescent Brightening test are stipulated only in JP. Fatty matter is restricted in USP to be less than 0.7%. Texture (threads, width, weight) are classified into four types in JP but they are classified into eight types in USP. While JP uses metric system; i.e. threads per 1 cm, USP uses yard measurement; namely, threads per 2.54 cm (threads per 1 inch).

The major differences in JP and USP standards for Adhesive Tape is found adhesive strength.

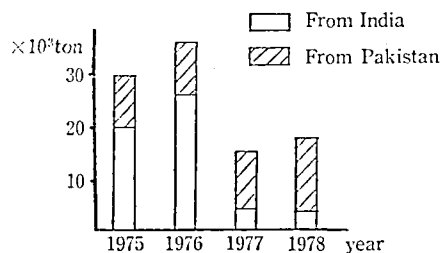


Fig. 1. Importing quantity and countries of raw cotton

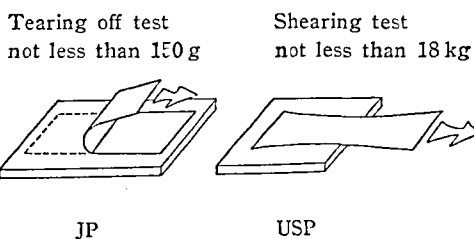


Fig. 2. Comparison of the test method JP vs. USP for adhesive strength for adhesive tape

The JP has employed the same test method as USP-19 up to the 7th edition, but the test method has been revised to the existing method since the 8th edition. As in Fig. 2, USP employs shearing

Table 3. The standards for sanitary napkin and tampon as restricted by the PAL

Sanitary Napkin		Tampon
Water-soluble Dyes		extracts have no color
Acid or Alkali		neutral
Fluorescent Brightening		slightly
Absorption Speed	—	5 ml rodamine sol. within 14 seconds
Absorbency	10 times water	6 times water
Falling-off Fibers	—	not more than 25 mg per one piece
Lubricant Coating	—	not more than 190 mg per one piece

test for adhesive strength which we consider is inadequate. The JP has accordingly employed tearing-off test, consequently, the restricted value in JP is 150 g while USP is 18 kg.

Fig. 3 presents the current production quantity of Absorbent Cotton, Purified Cotton and Absorbent Gauze; and the number of manufacturers in Japan.

Bandage is not restricted under the PAL. Bandage is treated as "daily necessities" in Japan. On the other hands, sanitary napkin and tampon are controlled by the PAL.

Table 3 shows the standards for sanitary napkin and tampon. The Absorbency for sanitary napkin is over 10 times and 6 times for tampon. Sedimentation rate is specified for tampon and also the amount of falling-off fibers is restricted to be less than 190 mg when the materials are treated with lubricant, such as polyethylene glycol or silicone oil. While usable material for tampon is restricted as Absorbent Cotton which meets JP, various materials, such as absorbent cotton, rayon staple cotton, carboxymethylcellulose sodium, cotton pulp, absorbent gauze, non-woven fabrics, absorbent paper and repellent tissues are used for sanitary napkin. Recently, starch-sodium polyacrylate-graft polymer has been approved as a new absorbent agent which made it possible to introduce smaller napkin since it has more than 30 times absorbency. Fig. 4 shows the consumption of sanitary napkin and tampon in Japan.

The usage of tampon is relatively small as compared to the United States and Europe but the usage is increasing year by year since 1970 when

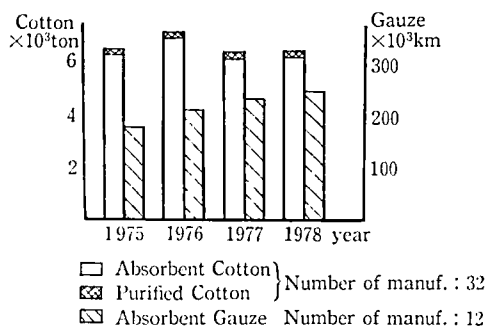


Fig. 3. Production quantity of Absorbent Cotton, Purified Cotton and Absorbent Gauze; and the number of manufacturers in Japan

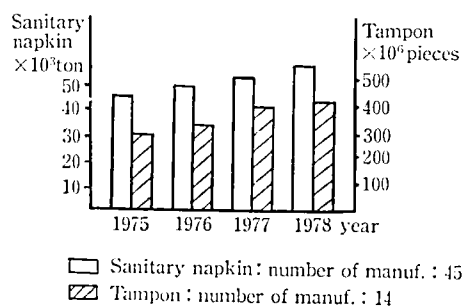


Fig. 4. Consumption of sanitary napkin and tampon; and the number of manufacturers in Japan

tampon was approved in Japan.

Oxycellulose has hemostatic application and is listed in USP-19. The oxycellulose was also listed in JP until the 7th edition but is not listed in the current edition since the amount of usage in Japan is very small. The application of non-woven fabrics to medical field is being watched with

Table 4. Example of difference in the standard

Suture (Size 2-0)	Diameter (mm)	Metric Size
USP Absorbable Collagen	0.35—0.399	3.5
USP Absorbable Synthetic	0.30—0.339	3
USP Nonabsorbable	0.30—0.339	3
JIS Catgut	0.25—0.33	—
JIS Silk No. 4	0.27—0.34	—

keen interest but there is not established legal standard.

The Manufacturer's Association has produced a voluntary standard for non-woven fabric to be directly applied to wound surface. The irritation of adhesive used as binder for non-woven fabric is problem, therefore, Acute Toxicity Test, Absorbency, Falling-off fiber Test are also included in this voluntary standard.

2. Sutures

1) Surgical Silk Suture

The break down of total sutures usage in Japan and USA are shown in Fig. 5. In Japan, surgical silk sutures are most popularly used and have two types; namely, twisted and braided silk sutures. The specifications appeared in the Japanese Industrial Standard (JIS) are for twisted silk sutures, but the sutures stipulated in USP is braided silk sutures. It is estimated that twisted silk takes approximately 60% of total sutures used in Japan. The sutures listed in USP-14 as Class 1 sutures under Non-absorbable Surgical Sutures are equivalent to Silk and Synthetic Plastic Sutures in Japan. Silk sutures in the USA and the United Kingdom are refined silk after taking sericin off and braided with soft type silk consists from fibroin. On the other hand, hard type twisted silk has been used in Japan without taking sericin off.

Fig. 6 presents the current production quantity of silk sutures and consumption of sterilized sutures in Japan.

2) Plastic Suture

The standard for plastic suture has incorporated into the PAL in 1970. Various sizes stipulated in USP-18 at that time for non-absorbable sutures

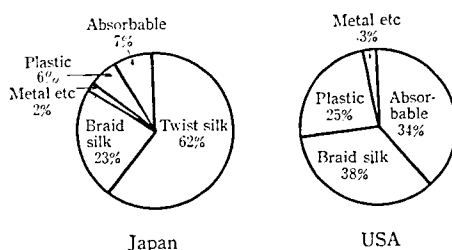


Fig. 5. Break down of total sutures usage in Japan and USA

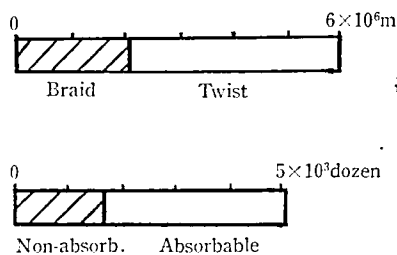


Fig. 6. Production quantity of silk sutures (upper), and consumption of sterilized sutures (lower) in Japan at 1978

were introduced into Japan, the current sizes in Japanese Standard do not correspond to that of the current USP-19 due to the revision in USP-19. Recently, the use of polyurethane suture has been introduced as a new material which has good elasticity as specific feature.

3) Absorbable Surgical Suture

In Japan, cutgut suture is only listed under the JIS since 1960 with sizes 4-0 to 6. In view of recent introduction of regenerated collagen suture and/or polyglycolic acid sutures, the revision of absorbable sutures standards are scheduled in the near future. The USP standard will be used as reference. Collagen sutures are listed as absorb-

able surgical sutures up to USP-18 but two more materials are added in USP-19; namely, collagen derived from healthy mammals and synthetic polymer. When comparing tensile strength of synthetic sutures and collagen sutures with equal diameters, synthetic sutures will show two times stronger than collagen sutures. It is desirable that an uniform standard is developed for all sutures across JP-JIS-USP. Therefore, I wish to

see that when the next reversion of specifications for sutures in Japan is made, common specifications for both the united States and Japan should be developed. For example, as in Table 4, diameter and sizes and metric sizes between Japan and the United States are different. I wonder if such differences can be uniformarized through mutual discussions.

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 (1978 年 1 月～12 月)

樋口英二・松村年郎・谷村顕雄

Summary of Air Pollutants Levels at the Three Locations of the National Autoexhaust Monitoring Station in Tokyo from January to December 1978

Eiji HIGUCHI, Toshiro MATSUMURA and Akio TANIMURA

This report presents the summarized data of air pollutants levels at three national autoexhaust monitoring stations (Kasumigaseki, Itabashi and Shinjuku) in Tokyo from January to December 1978.

The data were shown in Table 1 and Fig. 1～Fig. 9.

(Received May 31, 1979)

前報¹⁾に引き続き 1978 年 1 月から 12 月までの測定結果の概要について報告する。

測定方法

1. 測定地点

前報¹⁾に同じ。

2. 自動計測器の種類

ホルムアルデヒド自動計測器 (吸光光度法, 測定日盛範囲 0～0.2 ppm) を新規に板橋測定所に設置し 1978 年 6 月から測定を始めている。その他の自動計測器については前報に同じ。なお、霞ヶ関、新宿測定所の不飽和炭化水素は測定を中止した。

測定結果及び考察

1978 年 1 月から 12 月に得られた 1 時間単位の全測定データは、各汚染物質および交通量について、測定時間数、測定日数、1 時間値、時刻別平均値、日平均値、月平均値、年平均値ごとにまとめ、それらを一括

して Table 1 に示した。また、各汚染物質および交通量の経年的状況を知るため 1964 年から 1978 年にいたる 15 年間の各年平均値を Fig. 1～Fig. 9 に示した。

なお、前年度との比較において前年度と 5% 以内の差を横ばい、15% 以内をやや増加またはやや減少、16% 以上を増加または減少として評価した。

1. 二酸化硫黄

78 年における二酸化硫黄の 1 時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.024 ppm, 板橋測定所 0.023 ppm, 新宿測定所 0.022 ppm である。二酸化硫黄濃度は、77 年に比して霞ヶ関、新宿の両測定所は減少、板橋測定所は横ばい傾向を示している (Fig. 1)。

78 年の測定値を環境基準の条件、① 1 時間値の 1 日平均値が 0.04 ppm 以下であること、② 1 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 14 日、4.1%、板橋測定所 4 日、1.1%、新宿測定所 2 日

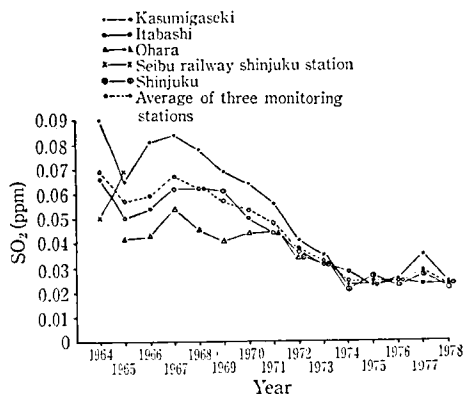


Fig. 1. Yearly variation of sulfur dioxide concentration in Tokyo (1963~1978)

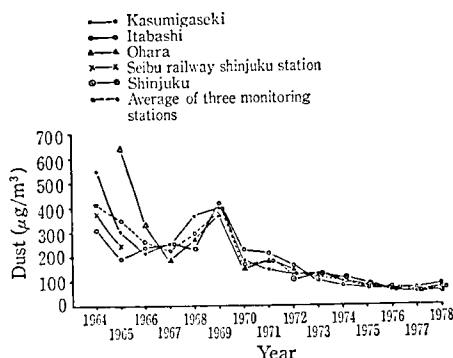


Fig. 2. Yearly variation of dust concentration in Tokyo (1964~1978)

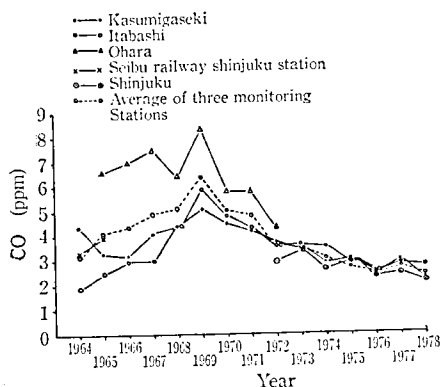


Fig. 3. Yearly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1978)

0.7%, 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 0 時間、0%, 板橋測定所 1 時間、0.01%, 新宿測定所 0 時間、0% であり、3 測定所とも環

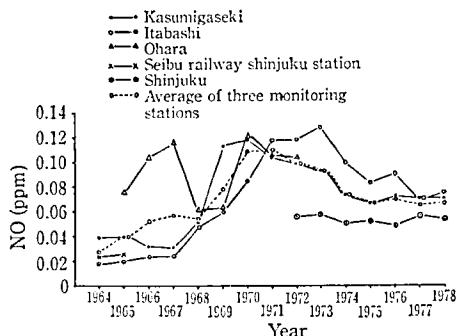


Fig. 4. Yearly variation of nitrogen monoxide concentration in Tokyo (1964~1978)

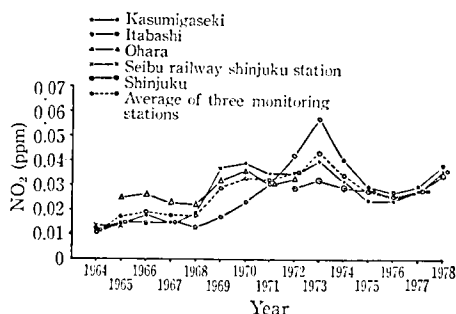


Fig. 5. Yearly variation of nitrogen dioxide concentration in Tokyo (1964~1978)

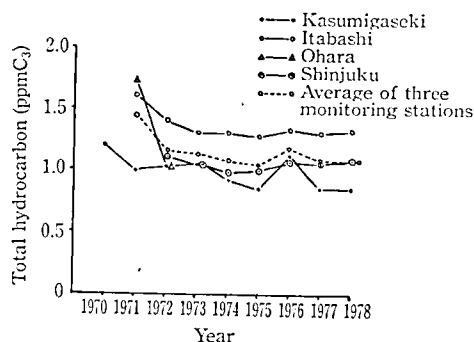


Fig. 6. Yearly variation of total hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1978)

境基準に不適合であった。

2. 浮遊粒子状物質

78年における浮遊粒子状物質の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 板橋測定所 77 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 新宿測定所 58 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ である。浮遊粒子状物質濃度は、77年に比して霞ヶ関、板橋の両測定所は増加、新宿測定所は横ばい傾向を示している (Fig. 2)。

Table 1. Summary of air pollutants levels

Pollutants	Monitoring station	Number of hours	Number of days
Sulfur dioxide (ppm)	Kasumigaseki	8222	346
	Itabashi	8332	350
	Shinjuku	7065	295
Dust ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Kasumigaseki	8687	362
	Itabashi	8727	364
	Shinjuku	8490	354
Carbon monoxide (ppm)	Kasumigaseki	6204	259
	Itabashi	8020	335
	Shinjuku	6716	281
Nitrogen monoxide* (ppm)	Kasumigaseki	7727	324
	Itabashi	8418	353
	Shinjuku	7439	312
Nitrogen dioxide** (ppm)	Kasumigaseki	7617	322
	Itabashi	8414	353
	Shinjuku	7385	309
Formaldehyde (ppm)	Kasumigaseki	6400	270
	Itabashi	4596	195
Oxidants (ppm)	Kasumigaseki	7688	325
Ozone (ppm)	Itabashi	5468	228
	Shinjuku	6392	267
Total hydrocarbon (ppmC ₃)	Kasumigaseki	8118	339
	Itabashi	7302	305
	Shinjuku	7463	312
Unsaturated hydrocarbon (ppmC ₃)	Itabashi	6962	291
Traffic volume (cars/hour)	Kasumigaseki	7706	331

* Saltzman factor : 0.84, Oxidizing efficiency for nitrogen monoxide by 2.5% $\text{KMnO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$: 70%

78年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と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 54日、14.9%、板橋測定所 78日、21.4%、新宿測定所 37日、10.5%、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 236時間、2.7%、板橋測定所 524時間、6.0%、新宿測定所 217時間、2.6%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

78年における一酸化炭素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 2.2 ppm、板橋測定所 2.7 ppm、新宿測定所 2.1 ppm である。一酸化炭素濃度は、77年に比して霞ヶ関測定所は減少、板橋測定所は横ばい、新宿測定所はやや減少傾向を示している (Fig. 3)。

78年の測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が 10ppm 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

in Tokyo (Jan.~Dec., 1978)

Hour value		Hourly-average		Day-average		Month average		Annual average
min.	max.	min.	max.	min.	max.	min.	max.	
0.01	0.09	0.012	0.044	0.010	0.058	0.017	0.034	0.024
0.01	0.10	0.011	0.047	0.010	0.051	0.019	0.028	0.023
0.01	0.08	0.012	0.034	0.010	0.041	0.015	0.028	0.022
2	460	44	147	8	286	54	97	70
5	642	32	212	14	280	50	131	77
2	2297	28	171	10	364	39	106	58
1	21	1.1	4.2	1.0	7.2	1.9	2.6	2.2
1	19	1.4	5.9	1.0	6.8	2.0	3.4	2.7
1	21	1.1	4.1	1.0	6.0	1.7	2.9	2.1
0.003	0.50<	0.016	0.192	0.011	0.337	0.038	0.127	0.070
0.003	0.50<	0.028	0.198	0.018	0.223	0.045	0.124	0.075
0.004	0.50<	0.028	0.137	0.009	0.337	0.034	0.100	0.053
0.003	0.160	0.015	0.067	0.013	0.088	0.028	0.050	0.036
0.005	0.218	0.017	0.081	0.007	0.122	0.025	0.064	0.038
0.004	0.135	0.017	0.054	0.007	0.083	0.021	0.045	0.034
0.001	0.035	0.0014	0.0120	0.0015	0.0180	0.0032	0.0086	0.0051
0.001	0.048	0.0023	0.0176	0.0015	0.0238	0.0046	0.0119	0.0070
0.001	0.202	0.007	0.059	0.008	0.080	0.017	0.035	0.029
<0.005	0.130	<0.005	0.036	<0.005	0.033	0.006	0.014	0.010
<0.005	0.090	<0.005	0.031	<0.005	0.030	0.006	0.013	0.009
0.4	2.9	0.65	1.31	0.52	1.47	0.76	0.96	0.85
0.6	6.2	1.03	2.51	0.67	2.80	1.12	1.77	1.32
0.6	3.4	0.85	1.56	0.70	1.89	0.93	1.38	1.07
<0.05	2.2	0.12	0.64	<0.05	0.71	0.17	0.37	0.21
40	2480	57	1817	263	1280	850	1030	972

** Saltzman factor : 0.84

ると3測定所とも①の条件を超えた日数および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大気汚染の原因物質として注目されている汚染物質である。

測定は、ザルツマン試薬を用いる吸光光度法で行っている。なお、78年7月、二酸化窒素の環境基準が改定（環境庁告示第38号）され、これにともない、従

来用いられていたザルツマン係数 0.72 および一酸化窒素の酸化率 100% が 0.84 および 70% にそれぞれ変更された。したがって、本報告においては新しい係数に基づいて測定値の評価を行った。

78年における一酸化窒素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.070 ppm、板橋測定所 0.075 ppm、新宿測定所 0.053 ppm、また、二酸化窒素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.036 ppm、板橋測定所 0.038 ppm、新宿測定所 0.034 ppm である。一酸化

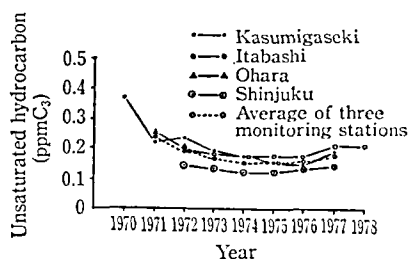


Fig. 7. Yearly variation of unsaturated hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1978)

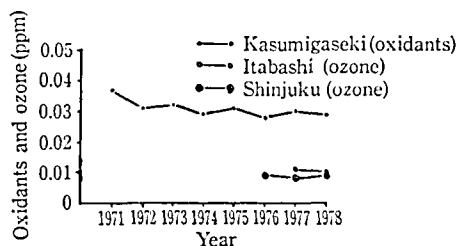


Fig. 9. Yearly variation of oxidants and ozone concentration in Tokyo (1971~1978)

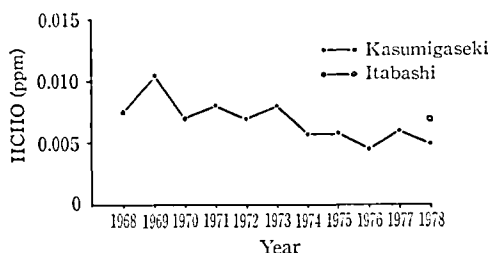


Fig. 8. Yearly variation of formaldehyde concentration in Tokyo (1968~1978)

窒素および二酸化窒素の各濃度は、77年に比して一酸化窒素は板橋測定所はやや増加、霞ヶ関、新宿の両測定所は横ばい傾向、二酸化窒素は3測定所とも増加傾向を示している (Fig. 4, Fig. 5)。

78年の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0.04 ppmから0.06 ppmのゾーン内またはそれ以下であること”に対比すると、この基準値を超えた日数と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所18日、5.6%、板橋測定所29日、8.2%、新宿測定所14日、4.5%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、光化学反応による大気汚染の主要な原因物質であるが、特に不飽和炭化水素は、光化学反応性が高い点で注目されている。

78年における全炭化水素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所0.85 ppmC₃ (ppmC₃はプロパンを基準にして表わした ppm 値)、板橋測定所1.32 ppmC₃、新宿測定所1.07 ppmC₃、また、不飽和炭化水素の1時間値の年平均値は、板橋測定所0.21 ppmC₃である。77年に比して全炭化水素および不飽和炭化水素濃度は、いずれの測定所でも横ばい傾向を示している (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ある。

78年におけるホルムアルデヒドの1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所0.0051 ppm、板橋測定所0.0070 ppmであり、77年に比して霞ヶ関測定所ではやや減少傾向を示している (Fig. 8)。

7. オキシダント及びオゾン

オキシダントは全オキシダント、光化学オキシダント、オゾン等の総称である。全オキシダントはオゾン、二酸化窒素、PAN (パーオキシアセチルナイトレート) およびその同族体、過酸化水素等の酸化性物質であって中性より化カリウム溶液から陽イオンを遊離する物質である。全オキシダントから二酸化窒素を除いた物質が光化学オキシダントであり、光化学オキシダントの大部分はオゾンと見なされている。

78年における全オキシダントの1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所0.029 ppm、オゾンの1時間値の年平均値は、板橋測定所0.010 ppm、新宿測定所0.009 ppmである。77年に比して霞ヶ関測定所の全オキシダント濃度は横ばい、オゾン濃度は板橋測定所はやや減少、新宿測定所はやや増加傾向を示している (Fig. 9)。

8. 交通量

78年における霞ヶ関測定所の年平均交通量は、972台/時であり、77年に比して横ばい傾向を示している。

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1978年における平均交通量は、2038台/時であり77年に比して横ばい傾向を示している。

文 献

- 1) 山手 昇, 松村年郎, 井上哲男, 樋口英二: 衛生試験, 96, 119 (1978)

食品中の残留農薬分析に関する研究（第 29 報）

脂肪含有食品中のヘキサクロルベンゼン（HCB）の残留分析法

関田 寛・武田明治・内山 充

Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XXIX)

Analytical Method for Hexachlorobenzene (HCB) in Fat-containing Foods

Hiroshi SEKITA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

Gas chromatography with electron capture detector (ECD-GC), clean-up using column chromatography on Florisil and partitioning between *n*-hexane and acetonitrile were applied for the analysis hexachlorobenzene (HCB) residues in the fat-containing food samples as dairy products, meat and fish. 1.5% QF-1 and 5% OV-17 were the most suitable packing materials of ECD-GC. In column chromatography on Florisil (20 g, 2.2 cm i.d.) HCB could be almost completely eluted into the first half fraction of the eluate of 200 ml of *n*-hexane-ether (94:9) as well as organochlorine pesticides, BHC isomers and DDT analogues. In the partitioning with acetonitrile more than 95% of HCB added to the fatty sample were recovered in the acetonitrile layer. Overall recoveries in the case of milk, meat (chicken) and fish (sardine) were up to about 90%. It was found that the minimum detectable limit of HCB was 0.002 ppm on a fat basis.

(Received May 31, 1979)

Hexachlorobenzene (HCB) は欧米諸国では小麦の種子殺菌剤として使用されたことがあり、また quintozene (pentachloronitrobenzene), technazine (tetrachloronitrobenzene) および chlorothal-methyl (dimethyl tetrachloroterephthalate) などの有機塩素系殺菌剤中に副成分として存在していること、さらに pentachloroethane などの塩素系有機溶剤や pentachlorophenol などの合成中間体中に副成分として存在していることがすでに知られている¹⁾。

一方、HCB はすでに野生生物や土壌中にしばしば見出されている環境汚染物であり、乳製品や食肉類にも微量ではあるが残留していることが報告されている²⁾。

HCB は PCB, DDT ならびに BHC などの有機塩素化合物と類似した物理化学的性状を有しており、HCB が自然環境中へ放出された場合、それらの有機塩素化合物と同様の挙動を示すことが予想され、また食物連鎖を通じて生物濃縮され、最終的には人体汚染につながる懸念がある。

このような HCB について、環境汚染の面での問題が提起されて以来、わが国においても HCB を「化学物質の審査および製造等の規制に関する法律」（化審

法）に規定する「特定化学物質」として指定し、法的に規制するかどうかについて目下審議されている。

HCB は DDT などの有機塩素農薬と同様に脂肪含有率の高い部分に相対的に蓄積し易いことが予想されるので、今回、著者らは乳製品、食肉類および魚類などの比較的脂肪含有の多い食品を分析対象として、それらに残留する HCB および有機塩素農薬の一斉分析法を確立する目的で種々検討した結果、実用的な分析法を考案することができたので報告する。

実験方法

1. 試薬

n-ヘキサン、石油エーテル、エーテル、エタノール、アセトンおよびアセトニトリルなどの溶媒ならびに無水硫酸ナトリウム、シュウ酸カリウム、塩化ナトリウムおよびフロリジールなどの試薬ならびに水（蒸留水）は前報^{3,4)}に記載するものを使用した。

2. 標準品および標準溶液

標準有機塩素農薬：前報^{3,4)}に記載するものを使用した。

HCB：BDH 社製のガスクロマトグラフィー用標準

品を購入して使用した。

HCB 標準溶液：HCB の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度の *n*-ヘキサン溶液を調製し、これを保存溶液とした。保存溶液をさらに *n*-ヘキサンで希釈して 10~100 ng/ml の各種濃度の溶液を調製し、これをガスクロマトグラフィー用標準溶液とした。なお、脂肪含有食品試料における HCB の添加回収実験用には、保存溶液をアセトンで希釈して調製した溶液を一定量添加した。

3. 装置および器具

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 型，電子捕獲型検出器 (ECD, ^{63}Ni) 付きのものを使用した。

ミキサー（防爆型），振とう機，クロマト管およびクデルナー-ダニッシュ型 (K.D.) 濃縮器は前報⁴⁾に記載のものを使用した。

4. 脂肪の抽出

牛乳：前報³⁾の方法に従った。

食肉・魚類：細切した試料 25 g を採取して 300 ml のミキサー用容器に入れ，ガラス棒で攪拌しながらほとんど脱水状態になるまで無水硫酸ナトリウムを加えた。次いで，*n*-ヘキサン 100 ml を加えて容器をミキサーに装着し，最高速度で 2 分間攪拌した。ミキサー容器を静置し，得られた抽出液を 300 ml の三角フラスコに移した。ミキサー容器に再び *n*-ヘキサン 100 ml を加え，同様の操作を繰返し，抽出液を合わせたのち，適量の無水硫酸ナトリウムを加えて脱水したのち，K.D. 濃縮器を用いて減圧下溶媒を留去して脂肪を得た。

5. *n*-ヘキサン-アセトニトリル分配

前項で得られた脂肪 2.5 g（それ以下の場合には全量）を取り，これについて FDA の “Pesticide Analytical Manual”⁵⁾ を一部変更した前報^{3,4)} の方法にしたがって *n*-ヘキサン-アセトニトリル分配を行った。

6. フロリジールカラムクロマトグラフィー

前報^{3,4)} にしたがってフロリジールカラムを調製し，クリーンナップを行った。HCB ならびにディルドリンおよびエンドリン以外の有機塩素農薬の溶出には *n*-ヘキサン-エーテル (94:6) の混液を用い，溶出液 200 ml を取って K.D. 濃縮器にて減圧下 5 ml に濃縮した。ディルドリンおよびエンドリンの溶出には *n*-ヘキサン-エーテル (70:30) の混液を用い，溶出液 150 ml を取って同様に濃縮した。なお，カラムからの回収実験においては，溶出液を 50 ml ずつ分取し，各分画を同様の操作で濃縮した。

得られた濃縮液はそのままあるいは *n*-ヘキサンにて適宜希釈してガスクロマトグラフィー用試験溶液とした。

7. ガスクロマトグラフィー

前項で得られたガスクロマトグラフィー用試験溶液から 2 μl を取り，ガスクロマトグラフに注入した。測定条件は Table 1 に示した。

結果および考察

1. HCB のガスクロマトグラフィー

HCB はその化学構造式から推定して，一般の有機塩素農薬の抽出・クリーンナップの操作において行動を共にすることは確実であると予想されたので，有機

Table 1. Operating condition in gas chromatography and retention time and minimum detectable limit of HCB

Liquid phase of column packings	Column temp. (°C)	Retention time (min)	Minimum detectable limit ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Minimum detectable limit ($\text{ng}/2 \mu\text{l}$)
1.5% QF-1	170	1.0	0.0007	0.0014
5% OV-17	210	1.5	0.001	0.002
5% OV-17+2% QF-1	220	1.5	0.001	0.002
2% DEGS+0.5% H_3PO_4	180	0.5	0.0007	0.0014

Apparatus : Shimadzu GC-4BM Detector : ECD (^{63}Ni)

Column : 3 mm i.d., 1.5 m long (glass)

Column support : Gas-chrom Q (80-100 mesh)

Det. and Inj. temp. : 250°

Carrier gas : high purity N_2

Gas flow was controlled at the rate which the last peak of examined organochlorine pesticides appeared at about 15 min.

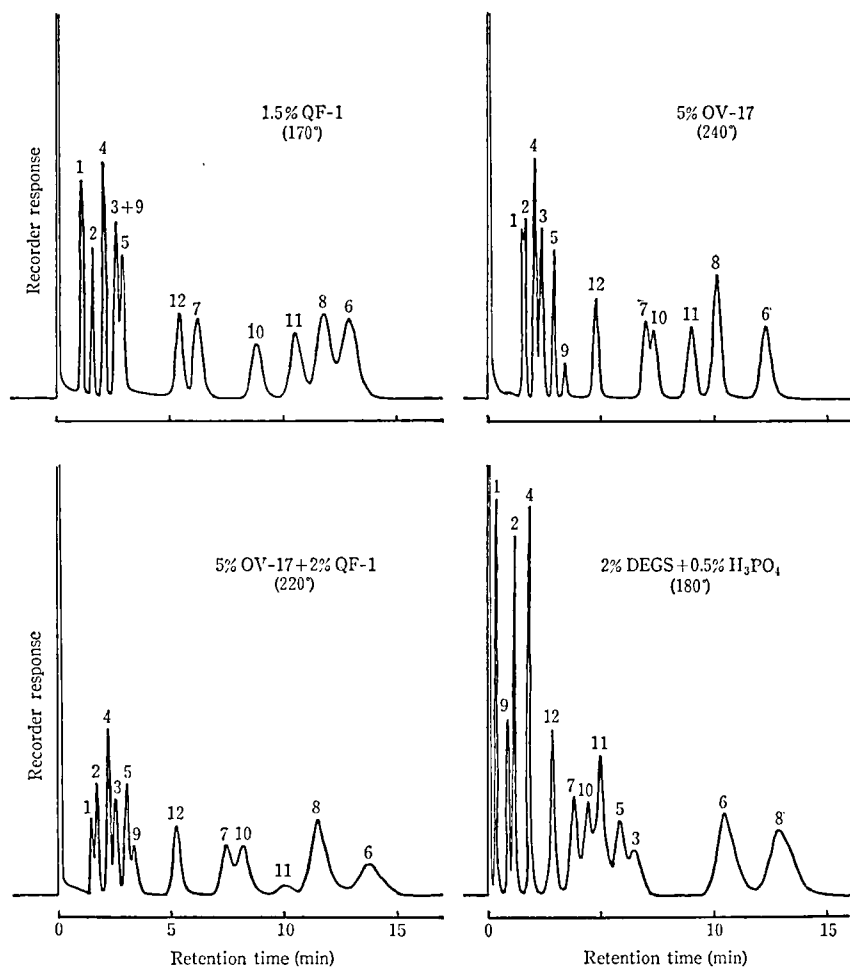


Fig. 1. Gas chromatograms of HCB and organochlorine pesticides

1: HCB, 2: α -BHC, 3: β -BHC, 4: γ -BHC, 5: δ -BHC, 6: p, p' -DDT, 7: p, p' -DDE, 8: p, p' -DDD, 9: aldrin, 10: dieldrin, 11: endrin, 12: heptachlor epoxide

塩素農薬の残留分析に通常用いられている電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフィー (ECD-GC) により HCB を他の有機塩素農薬と分離し、定性・定量を行うこととし、その測定条件を種々検討した。

ECD-GC による有機塩素農薬の残留分析に通常用いられているカラム充填剤としては QF-1, OV-17, OV-17+QF-1 および DEGS+ H_3PO_4 などがあるが、これら 4 種のカラム充填剤を用いた場合の HCB および 11 種の有機塩素農薬の分離状態を示すガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。また、その測定条件下での HCB の保持時間および最小検出量を Table 1 に掲げた。

Fig. 1 に示される HCB の分離状態と Table 1 に

示される HCB の最小検出量とを考慮すると、HCB および有機塩素農薬の同時分析においては 1.5% QF-1 および 5% OV-17 が実用的なカラム充填剤として適当であると判断した。1.5% QF-1 においては β -BHC とアルドリンのピークが重なるが、実際の脂肪含有食品試料からは現在ではアルドリンはまったく検出されないで、実的にはまったく問題はない。5% OV-17+2% QF-1 の場合には HCB と有機塩素農薬相互の分離は良好であるが、全般的に有機塩素農薬の検出感度、特にエンドリンに対する感度が低いという難点が見受けられた。また、2% DEGS+0.5% H_3PO_4 の場合には、HCB に対する感度が今回検討した 4 種のカラム充填剤のうちでは最高であったが、HCB の

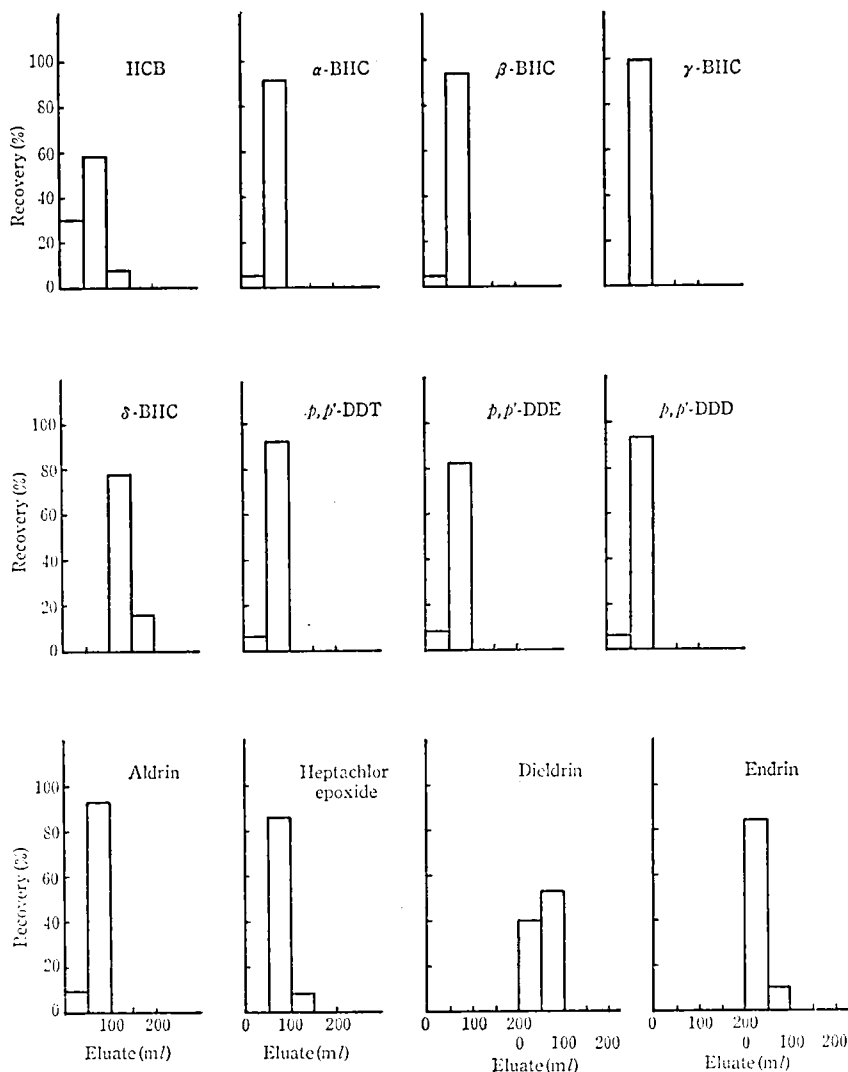


Fig. 2. Elution patterns of HCB and organochlorine pesticides from Florisil-column. Organochlorine compounds added to column were eluted by every 50 ml of *n*-hexane-ether (94 : 6) and dieldrin and endrin were eluted by every 50 ml of *n*-hexane-ether (70 : 30) after elution of 200 ml of the former effluent.

保持時間が0.5分とあまりにも早過ぎるため、実際の試料を分析した場合には HCB のピークが溶媒ピークにかくれてしまうことが確実であると考えられたので、実用的なカラム充填剤としては適当ではないと判断した。

2. HCB のカラムクロマトグラフィー

有機塩素農薬の残留分析においてカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップにはフロリジルが採用されている。このフロリジールカラムを用いた場合、HCB がどの分画に溶出されてくるかを検討し

た。

脂肪含有試料のクリーンアップの際に採用されている内径 2.2 cm のクロマト管にフロリジル 20 g を充填して調製したカラムにおいて、HCB および 11 種の有機塩素農薬の溶出パターンを検討したところ Fig. 2 に示すような結果が得られた。

HCB はディルドリンおよびエンドリンを除く他の 9 種の有機塩素農薬 (BHC, DDT, アルドリン, ヘプタクロルエポキシド) と同様に *n*-ヘキサン-エーテル (94 : 6) の溶出液 200 ml 中の前半の分画中には

Table 2. Recovery of HCB and organochlorine pesticides from Florisil-column

Organochlorine compounds	Amount of addition (μ g)	Recovery (%)
HCB	0.08	96.0 (1.41)
α -BHC	0.16	95.2 (0.83)
β -BHC	0.64	97.0 (1.00)
γ -BHC	0.32	97.2 (0.45)
δ -BHC	0.32	96.0 (1.41)
<i>p, p'</i> -DDT	0.80	98.8 (2.59)
<i>p, p'</i> -DDE	0.32	93.6 (2.97)
<i>p, p'</i> -DDD	0.96	99.8 (1.48)
Aldrin	0.096	93.6 (1.67)
Dieldrin	0.32	90.2 (4.15)
Endrin	0.64	96.0 (1.41)
Heptachlor epoxide	0.32	96.0 (2.74)

HCB and organochlorine pesticides except dieldrin and endrin were eluted into the eluate of the initial 200 ml of *n*-hexane-ether (94 : 6) and later, dieldrin and endrin were eluted into the eluate of the following 150 ml of *n*-hexane-ether (70 : 30).

Each value of recovery is shown as the mean of 5 samples and standard deviation in the parenthesis.

 Table 3. Recovery of HCB and organochlorine pesticides in partitioning with *n*-hexane and acetonitrile

Organochlorine compounds	Amount of addition (μ g)	Recovery (%)
HCB	0.08	94.6 (2.30)
α -BHC	0.16	94.2 (2.28)
β -BHC	0.64	93.4 (1.14)
γ -BHC	0.32	96.6 (0.54)
δ -BHC	0.32	96.0 (1.41)
<i>p, p'</i> -DDT	0.80	93.2 (3.49)
<i>p, p'</i> -DDE	0.32	91.2 (1.10)
<i>p, p'</i> -DDD	0.96	96.8 (4.66)
Aldrin	0.096	63.4 (2.19)
Dieldrin	0.32	85.6 (3.51)
Endrin	0.64	94.0 (3.08)
Heptachlor epoxide	0.32	90.4 (1.34)

Lard was used as the fatty sample.

Each value of recovery is obtained after the partitioning followed by column chromatography on Florisil and is shown as the mean of 5 samples and standard deviation in the parenthesis.

ほぼ定量的に溶出されてくることが見出された。

また、Table 2 から明らかなように、HCB のフロリジールカラムからの溶出の再現性も良好であった。

3. HCB のヘキサン-アセトニトリル分配

n-ヘキサン-アセトニトリル分配法は、脂肪含有試料から有機塩素農薬を選択的に抽出する方法として通常用いられている方法の一つである。

Table 4. Overall recovery of HCB and organochlorine pesticides from fat-containing food samples

Organochlorine compounds	Amount of addition (μ g)	Recovery (%)		
		Milk	Meat (Chicken)	Fish (Sardine)
HCB	0.08	90.4 (2.07)	89.4 (2.30)	93.4 (0.89)
α -BHC	0.16	91.6 (3.65)	88.8 (1.10)	91.8 (2.68)
β -BHC	0.64	89.2 (2.17)	87.6 (2.30)	88.0 (2.12)
γ -BHC	0.32	91.6 (1.67)	93.8 (3.56)	91.6 (1.14)
δ -BHC	0.32	95.0 (1.22)	90.4 (2.07)	89.0 (3.08)
<i>p, p'</i> -DDT	0.80	91.0 (4.00)	91.6 (2.07)	91.4 (2.30)
<i>p, p'</i> -DDE	0.32	87.0 (2.83)	87.6 (3.65)	89.0 (2.74)
<i>p, p'</i> -DDD	0.96	93.6 (1.14)	92.8 (3.27)	88.8 (3.90)
Aldrin	0.096	52.6 (4.82)	56.6 (2.19)	60.8 (2.17)
Dieldrin	0.32	81.8 (1.30)	82.8 (2.05)	84.6 (2.88)
Endrin	0.64	89.4 (4.77)	87.0 (2.12)	89.2 (3.11)
Heptachlor epoxide	0.32	89.2 (2.39)	94.2 (2.17)	87.6 (1.82)

Extraction to each sample was initiated at 1 hr after addition of the standard solution of organochlorine pesticides.

Each value of recovery is shown as the mean of 5 samples and standard deviation in the parenthesis.

このアセトニトリル分配法が HCB の抽出にも応用できるかどうかの知見を得るために、油脂試料としてラードを用いて HCB の添加回収実験を行ったところ、Table 3 に示すように回収率、再現性とも良好な値が得られた (平均回収率 94.6%)。

また、アセトニトリル分配法におけるアルドリンの回収率は他の有機塩素農薬のそれと比較してかなり低い値 (約 60%) を示していたが、前述のように実際の脂肪含有食品試料からアルドリンが検出される例はないことから、実用上は何ら支障はないと考えられる。

4. 脂肪含有食品試料における HCB の添加回収実験

前述のように、HCB は一般的な有機塩素農薬分析の操作を行うことにより抽出・分離および定性・定量が可能ながわかったので脂肪含有食品試料として牛乳、鶏肉およびイワシの 3 品目を選び、HCB および 11 種の有機塩素農薬について残留分析操作全体を通じての添加回収実験を行った。

結果は Table 4 に示されるように、HCB については平均 93.4%、有機塩素農薬については、アセトニトリル分配において回収率の良くなかったアルドリンを除いては 85% 以上のほぼ良好な回収率が得られ、

また再現性もほぼ良好なものであった。

本法は牛乳、食肉類および魚類を分析対象試料とした場合に直接適用し得る HCB および有機塩素農薬の一斉残留分析法であるが、抽出法に有機塩素農薬分析法を応用することにより、他の乳製品、卵などのほか比較的脂肪含有の高い穀類 (玄米など) や豆類 (大豆など) にも適用することができると考えられる。

なお、本法における HCB の検出限界は脂肪当り 0.002 ppm である。

ま と め

乳製品、食肉および魚類等の脂肪含有食品試料中の HCB の残留分析法を確立するために、ECD-GC、フロリジールカラムクロマトグラフィーおよびアセトニトリル分配法について検討した。

ECD-GC においては、カラム充填剤として 1.5% QF-1 および 5% OV-17 を用いると、HCB は良好に定性・定量分析が可能であった。

フロリジールカラムクロマトグラフィー (内径 2.2 cm, 充填剤 20 g) においては、HCB はディルドリンおよびエンドリンを除く他の有機塩素農薬と同様に、ヘキサノン-エーテル (94:6) の第 1 溶出分画 (200 ml) 中にほとんど溶出した。

油脂試料に添加した HCB のアセトニトリル分配における回収率は約 95% と良好であった。

脂肪含有食品試料として牛乳、鶏肉およびイワシを用いて HCB の添加回収実験を行った結果、平均約 90% 以上の良好な回収率を得ることができた。

本法は、牛乳および畜鳥魚肉について直接適用できる HCB (および有機塩素農薬) の一斉残留分析法であるが、抽出法を適宜変更することにより、他の乳製品、卵ならびに穀類、豆類などにも応用することができる。

なお、本法における HCB の検出限界は、脂肪当り 0.002 ppm である。

文 献

- 1) "1973 Evaluations Some Pesticide Residues in Food", WHO Pesticide Residues Series, No. 3, p. 291 (1974) WHO, Geneva
- 2) "1974 Evaluations Some Pesticide Residues in Food", WHO Pesticide Residues Series, No. 4 p. 397 (1975) WHO, Geneva
- 3) 厚生省乳肉食品農薬汚染研究班 (武田明治ら 12 名): 食衛誌, 13, 299 (1972)
- 4) 大槻久美子, 関田 寛, 武田明治, 田辺弘也: 食衛誌, 13, 338 (1972)
- 5) "Pesticide Analytical Manual", Vol. 1, (1968) U.S. Department of Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration

鶏肉中の残留フラゾリドンの分析

神蔵美枝子・江口浩子

Analysis of Furazolidone Residue in Chicken Tissue

Mieko KAMIKURA and Hiroko EGUCHI

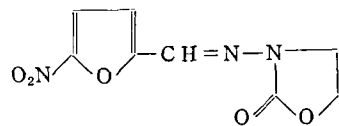
Furazolidone is hydrolyzed to 5-nitrofurfural, hydrolysis product is measured by electron capture GLC. Determination of Furazolidone obtained from chicken tissue was performed according to the assay procedure. Recovery of 5-nitrofurfural from Florisil column was 87.9%. Response of 5-nitrofurfural on ECD-GLC decreased at temperature of column $>160^{\circ}$ and 150° . The data were shown in Table 1 and Figure 1-7. Detection limit in chicken tissue was 2 ppb.

(Received May 31, 1979)

フラゾリドンは現在、動物用医薬品¹⁾として指定されており、鶏、豚の有害な腸内細菌を抑える薬剤として、治療の目的で家畜に使用することができる。

本物質は、かつては飼料添加物として指定されていたが、昭和 51 年 3 月、米国 FDA で本物質を含む 4 種のニトロフラン系飼料添加物が安全性の面で種々論議され使用禁止となったところから、わが国においても農林大臣の諮問機関である農業資材審議会において毒性試験の結果を評価し、その結果、飼料添加物として指定することが好ましくないと判断されたため、昭和 51 年 7 月の法改正において合成抗菌剤として本物質は指定されなかった。

なお、フラゾリドンは、つぎのような化学構造を有する。



著者ら²⁾はさきに、畜肉中に残留する飼料添加物の分析について報告した。今回は引続き、フラゾリドンの分析について検討を行ったので、それらの結果について報告する。

実 験 の 部

1. 使用機器

ECD-ガスクロマトグラフ: 抑本 G80 型 (^{63}Ni 線源)

ホモジナイザー：超高速ホモジナイザー（スイス，
バイオトラ社製バイオロン（Biotron）

2. 試薬および試液

n-ヘキサン，酢酸エチル，ベンゼン，ヘプタクロル
はいずれも残留農薬分析用。

イソプロパノール：試薬特級品を蒸留したもの。

ジブチルヒドロキシトルエン（BHT）：試薬特級

フロリジルカラム：フロリジル PR 60~100 メッシュ
を 130° で 15 時間活性化したもの 1 g をベンゼ
ンにけん濁させ，あらかじめ硫酸ナトリウム（無
水）を少量つめた内径 8 mm×30 cm のクロマト
管に充てんする。さらに硫酸ナトリウム（無水）
を少量のせ，酢酸エチル・ベンゼン（1：1）混液
20 ml を流してカラムを洗浄し，さらに，ベンゼ
ン 20 ml を用いてカラム内をベンゼンで置換す
る。

5-ニトロフルフラール：含量 99.2%（ガスクロマ
トグラフ法），東京化成

5-ニトロフルフラール標準溶液：5-ニトロフルフラ
ール 62.7 mg（フラゾリドン 100 mg 相当量）を
ベンゼン 100 ml に溶かし，順次希釈してフラゾ
リドンとして 2.5 ng/ml~40 ng/ml の各濃度溶
液に，内部標準物質としてヘプタクロール 10 ng
/ml を含む様に調製する。

3. 分析法³⁾

鶏肉 10 g をとり，細切後，塩化ナトリウム 8 g，
2% メタリン酸溶液 15 ml を加え，ホモジナイズす
る。これを 50 ml の遠心管にとり，*n*-ヘキサン 10
ml を加え，2 分間振とうする。次に，3000 r.p.m.
で 5 分間遠心分離し，上層の *n*-ヘキサンを除去し，
再び *n*-ヘキサン 10 ml を加えて，同様に操作する。
酢酸エチル 10 ml を加え，同様に振とうして，遠心
分離を行い，酢酸エチル層を分取し，50 ml のナス型
フラスコにとる。これをさらに 2 回くり返し酢酸エチ
ル層を合し，ロータリーエバポレーターで濃縮しほと
んど乾固させる。次に残渣をイソプロパノール 10 ml
に溶かし，これに 1 N 塩酸 20 ml を加えたのち，
70° の水浴中で 25 分間加水分解する。加水分解後た
だちに冷却したのち，分液漏斗に移し，0.5 ng/ml の
BHT を含むベンゼン 15 ml で 3 回振とう抽出する。
抽出液を合し，ロータリーエバポレーターで約 2 ml
まで濃縮し，フロリジルカラムに注入する。カラムに 4
ml のベンゼンを注入して洗浄し，酢酸エチル・ベン
ゼン（0.5：95.5）混液 30 ml で溶出する。得られた
溶出液をエバポレーターで濃縮し，内部標準物質ヘ
プタクロールのベンゼン溶液（10 ng/ml）1.0 ml を加

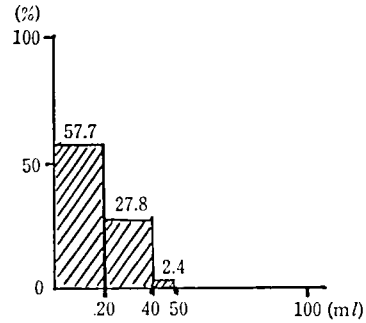


Fig. 1. Recoveries of 5-nitrofurfural from
Florisil column
5-Nitrofurfural : 70 ng
Eluant : Ethyl acetate+benzene (0.5 : 95.5)

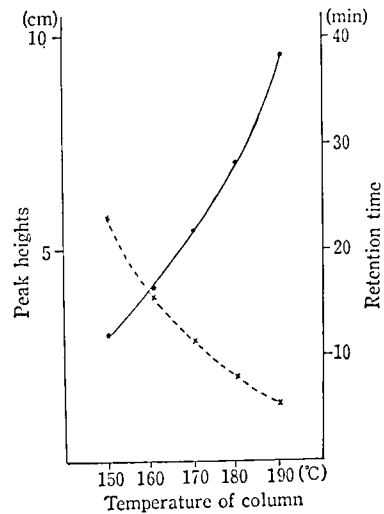


Fig. 2. Influence of temperature of column
upon peak heights of heptachlor (I.S.)
●—● : Peak heights, ×--× : Retention time
Heptachlor : 10 ng/ml, 10 μ l
Condition : Column, 5% EGSS-X on 80-100
mesh, Chromosorb W, AW, DMCS, 2.5 m×3
mm i.d., Injection temperature, 210°, Carrier
gas, Nitrogen 40 ml/min
Gas chromatograph : Yanagimoto Model G 80
ECD (⁶³Ni source)

え，ECD-GLC で測定する。

実験結果および考察

畜肉中に残留するフラゾリドンの分析については，
Ryan ら⁴⁾，ならびに Frahm ら⁵⁾によって種々検討さ
れている。いずれの方法においても分析法の骨子とす
るところは，フラゾリドンを塩酸酸性で加熱，加水分

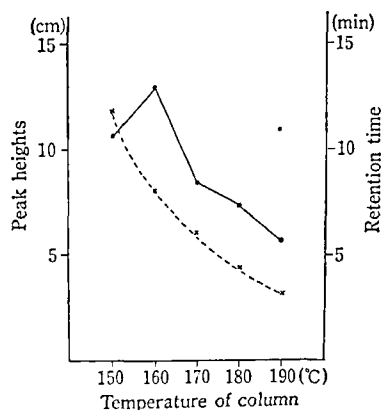


Fig. 3. Influence of temperature of column upon peak heights of 5-nitrofurfural
 ●—● : Peak heights, ×--× : Retention time
 5-Nitrofurfural : 710 pg
 Condition : Confer Fig. 2

解することによって生成する 5-ニトロフルフラール (5NF) をECD-GLC によって分析するものである。

分析法の項で記した定量法の原理は、試料からフラゾリドンを酢酸エチルで抽出し、濃縮後、イソプロパノールに溶かし、希塩酸を加えて加水分解し、得られた 5-ニトロフルフラールをフロリジルカラムで精製後、ECD-GLC によって測定することにある。

そこでまず、5-ニトロフルフラールのフロリジルカラムからの回収について検討した。5-ニトロフルフラールは 70 ng を用い、フロリジルカラムはカラムの上、下に硫酸ナトリウム（無水）を 0.2 g ずつ用いて調製した。なお、カラムの流速は 1 ml/min の割合になるように調整した。その結果、Fig. 1 に示すように酢酸エチル・ベンゼン (0.5 : 95.5) で溶出するとき、溶出液 50 ml を捕集すればフラゾリドンは 87.9% 回収されることがわかった。

つぎに、ECD-GLC における分析条件の検討を行った。内部標準物質 (I.S.) ヘプタクロールのピークは、カラム温度に応じて保持時間 (RT) が減少し、ピーク高さは、温度にほぼ比例して高い値を示した。5NF のピーク高さが最高を示す温度 160° では、カラム温度 190° の約 1/2 にとどまった (Fig. 2)。5NF についてはカラム温度と 5NF のピーク高さとの関係は、カラム温度 160° の場合にピーク高さは最高値を示し、さらに温度を上げることによって、RT が減少するとともに、ピーク高さも減少することがわかった (Fig. 3)。この現象は 5NF の熱分解によるものと考えられる。これらの結果から 5NF の検出を目的とするには、カ

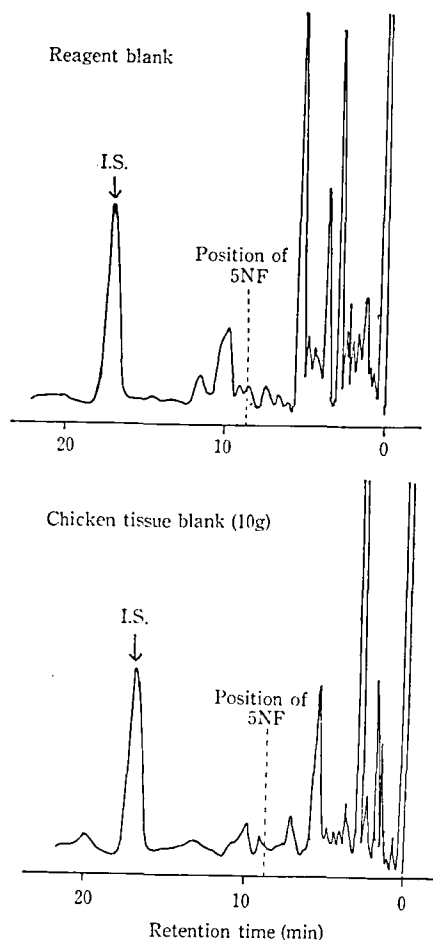


Fig. 4. Gas chromatograms of reagent and chicken tissue blank

Condition : Column temperature 160°. Confer Fig. 2.

5NF : 5-Nitrofurfural

Sample size : 10 μ l

ラム温度 160° を用いた方が、5NF の微量分析に適すると考え、ECD-GLC の分析条件をつぎのように設定した。

ガスクロマトグラフ条件

カラム温度 160°

注入口、検出器温度 210°

流速 (N₂ ガス) 40 ml/min.

注入量 10 μ l

チャートスピード 5 mm/min

以上の条件において、試薬ブランクならびに鶏肉 10 g についてのブランクはいずれも 5NF の現われる位置に妨害ピークを認めなかった (Fig. 4)。Fig. 5 は

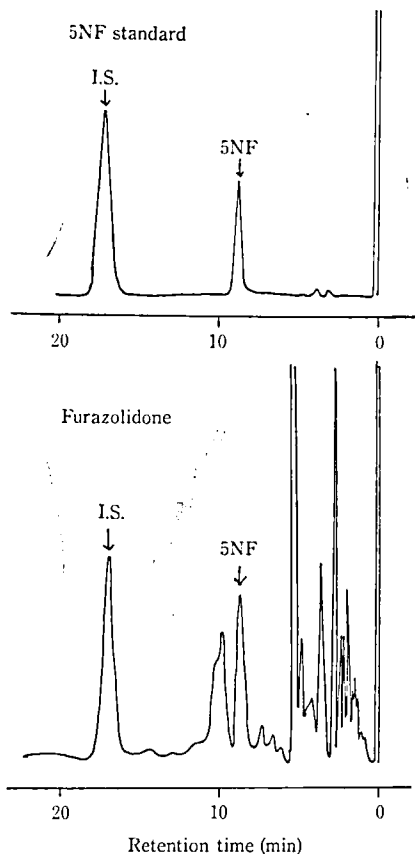


Fig. 5. Gas chromatograms of 5-nitrofurfural (5NF) obtained upon hydrolysis of Furazolidone (FZ) and 5NF standard
5NF standard : 7.1 ng/ml
FZ : 50 ng
Condition : Confer Fig. 4.
Sample size : 10 μ l

5NF 標準溶液ならびにフラゾリドン 50 ng を加水分解した場合のガスクロマトグラムで、後者はクロマトグラムからもわかるように、分析操作中に用いられた種々なピークと、フラゾリドンから生成した 5NF の分解生成体と思われるもののピークが多数に認められる。しかし、5NF の検出、定量を妨害することはなかった。さらに、5NF の検出限界について検討したが、その結果、5 pg (ピーク高さ 10 mm) であることを認めた。フラゾリドンの加水分解による回収は 1 μ g の場合 30.93%, 500 ng 31.25%, 50 ng 33.30% であった。

鶏肉 10 g に添加した場合のフラゾリドンの回収は Table 1 に示すように、添加レベル 20~300 ng (2

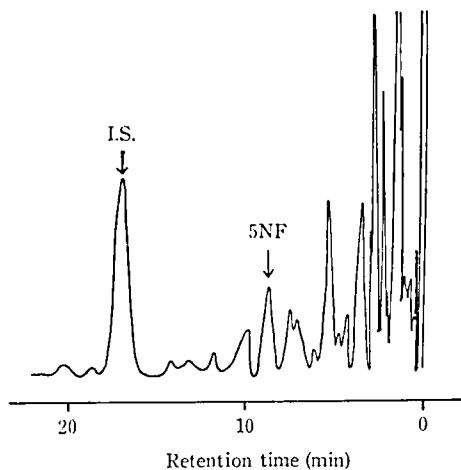


Fig. 6. Gas chromatogram of Furazolidone (as 5NF) recovered from chicken tissue (10 g)
Added Furazolidone : 20 ng (2 ppb level in tissue)
Condition : Confer Fig. 4.
Sample size : 10 μ l

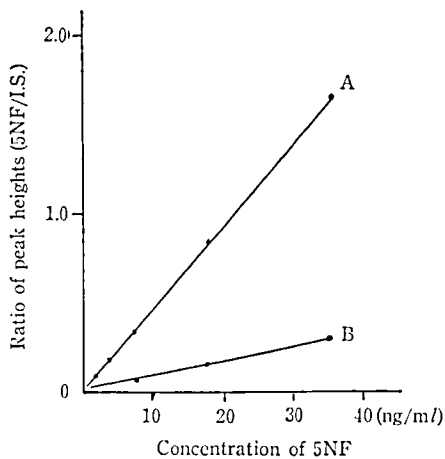


Fig. 7. Calibration curves for 5-nitrofurfural (5NF)
Internal standard : Heptachlor, 10 ng/ml
Sample size : 10 μ l
Condition : Confer Fig. 4.
Column, A 160°C, B 190°

ppb~30 ppb) で 33.10~39.95% であった。これらの結果は、フラゾリドンそのものの回収が 30.93~33.30% であり、これらの値とはほぼ一致するところから、満足すべき結果と考える。Fig. 6 に 2 ppb 添加レベルのクロマトグラムを示す。なお、この添加レベ

Table 1. Recoveries of Furazolidone from Chicken Tissue

Tissue	Added	Recovery (%)
Chicken 10 g	300 ng (30 ppb)	33.10
10 g	50 ng (5 ppb)	35.70
10 g	20 ng (2 ppb)	39.95

ルが鶏肉についての検出限界と考える。

5NF は 2~35 ng/ml で検量線は直線性を示した (Fig. 7)。

5NF 標準品ならびに鶏肉からのフラゾリドンの回収は 30% 程度とやや低い値を示すが、その理由の 1 つとして、5NF が酸化されて 5-nitrofuroic acid を生成することがあげられる。このものは 5NF よりも遅く、ブロードなピークとして現われる。

結 論

ECD-GLC によるフラゾリドンの分析は、加水分解によって生成する 5-ニトロフルフラールを指標とし

て行われる。この場合、ガスクロマトグラフィーにおけるカラム温度は高温になるほど 5-ニトロフルフラールの感度が著るしく低下するため、カラム温度 160° とした。この条件で 5-ニトロフルフラールは 5 pg まで検出することができ、フラゾリドン分析の至適条件と考えた。また、フロリジルカラムから 5-ニトロフルフラールの回収は溶出液 50 ml を用いるとき 87.9 % であった。鶏肉 10 g にフラゾリドンを添加した場合の検出限界は 20 ng, すなわち、2 ppb と考える。

文 献

- 1) 動物用医薬品公定書 第2版 農林省畜産局 昭和 50 年 3 月。
- 2) 神蔵美枝子, 江口浩子: 衛生試報, 96, 124 (1978)
- 3) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課 畜産物中の残留物質検査法 第2集の2 昭和 53 年 8 月。
- 4) J.J. Ryan, Y.C. Lee, JO A. Dupont, C.F. Charbonneau: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 58, 1227 (1975)
- 5) L.J. Frahm, G.M. George, J.P. McDonnell: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 58, 694 (1975)

エステル交換油脂中の脂肪酸メチルエステルの分析

酒井綾子・谷村頭雄

Analysis of the Methyl Esters of Fatty Acids in Interesterified Fats

Ayako SAKAI and Akio TANIMURA

Methyl esters of fatty acids in edible oils were analyzed before and after interesterification. No methyl ester of C₁₆-fatty acids was detected. The methyl esters of C₁₈-fatty acids were determined in the range of about 5 to 30 ppm. In one sample the amounts of methyl esters were somewhat increased by interesterification, but in the others they were not changed.

(Received May 31, 1979)

ナトリウムメチラートを触媒に用い、異なる脂肪酸構成からなる油脂についてエステル交換反応を行うと、油脂中の脂肪酸分子を分子内および分子間で相互に交換し、融点、かたさ等、油脂の物理的性質を変化させることができる¹⁾。エステル交換油脂を用いて、マーガリンやショートニングを製造すると、稠度幅、クリーミング性、展延性のよい製品が得られる^{2,3)}。Going はナトリウムメチラートを触媒としてエステル

交換を行うと、交換油脂中に脂肪酸のメチルエステルが生成することを報告している⁴⁾。厚生省食品化学課の要請により、エステル交換油脂中の脂肪酸メチルエステルの分析をガスクロマトグラフィーにより行ったので、その結果について報告する。

Table 1. Methyl esters of C₁₈-fatty acids in interesterified fats

		Procedure i*	Procedure ii**
Parent fat	A	13 ppm	16 ppm
	B	N. D.***	6
	C	N. D.	7
Intesterified fat	a	33	31
	b	N. D.	7
	c	N. D.	8

* Fat was directly injected to a gas chromatograph.

** Fat (10 g) was extracted with acetonitrile (20 ml). After the addition of water (50 ml), the aceto nitrile layer was extracted with hexane (20 ml). The hexane extract was dried through Na₂SO₄ column (1×5 cm), concentrated to 1 ml, and injected to a gas chromatograph.

*** Not detected (less than 10 ppm).

実験方法

1. 試料

原料油脂：A) パーム油；B) パーム油，魚油硬化油，ヤシ油 (90：5：5)；C) パーム油，ヤシ油 (1：1)。

エステル交換油脂：以下の方法によって，日本マーガリン工業会により調製された。

原料油脂 A～C のおおのに，ナトリウムメチレート 0.1% を加え，80～85° で 30 分エステル交換反応を行う。エステル交換油脂を油脂と等量の温水で 3 回洗浄した後，活性白土を油脂に対して 1% の割合で添加し，100～110° で 15 分間加熱後ろ過を行う (脱色処理)。さらに脱臭操作として，1 mmHg の減圧下 230～250° で 1 時間水蒸気を吹き込んで精製する。原料油脂 A，B および C より，それぞれエステル交換油脂 a，b および c を得た。

2. 装置および測定条件

装置：島津 GC-4CM 型ガスクロマトグラフ (水素炎イオン化検出器付)。カラム：5%-OV-17 on Chromosorb W (60～80 mesh) を 1 m×3 mm i.d. のガラスカラムに充てんしたもの。カラム温度：210°，検出器および試料注入部温度：340°，キャリアーガス：窒素，50 ml/min。空気：0.8 kg/cm²，水素：0.6 kg/cm²。

3. 操作法

i) 直接注入法：油脂 2 μl をとり，直接 GC 装置に注入し測定する。パルミチン酸メチル (C₁₆) およびステアリン酸メチル (C₁₈) より標準溶液を調製し (10, 20, 30, 50 ppm)，検量線を作製した。C₁₆ の脂

肪酸メチルエステルおよび C₁₈ の脂肪酸メチルエステルを，いずれもパルミチン酸メチルおよびステアリン酸メチルとして定量した。

ii) 抽出法：油脂 10 g にヘキサン 2 ml を加え，アセトニトリル 20 ml で 1 回抽出する。アセトニトリル層に水 50 ml を加えて，ヘキサン 20 ml で 1 回抽出し，シリカゲルカラム (1×5 cm) を通して乾燥後，濃縮して 1 ml とし，その 2 μl を GC 装置に注入し，以下操作法 i) にしたがって測定する。

結果および考察

いずれの検体からも C₁₆ 脂肪酸メチルエステルは検出されず，C₁₈ 脂肪酸メチルエステルのみを検出した。結果を Table 1 に示す。

直接注入法による検出限界は，10 ppm であった。直接注入法では注入口部に油脂が残留蓄積する。注入回数が増すと，蓄積した油脂に脂肪酸メチルエステルが捕集された状態となり，ピーク高が徐々に低下し，定量性が悪くなるばかりでなく，ついには全く検出しなくなる。注入回数 5 回を限度に，注入口部のインサートガラスを交換する必要があった。

抽出法により検出限界を約 2 ppm まで上げることができたが，本法では約 60% の回収率しか得られなかった (Table 1 の値は回収率により補正してある)。アセトニトリルの量を増加，あるいはアセトニトリルによる抽出回数を増すことによって，回収率をあげることも試みたが，アセトニトリルが脂肪を少量溶解するため，アセトニトリル層へ移行する脂肪の量も増加し，好ましい結果は得られなかった。

A→a については，エステル交換により若干の C₁₈

脂肪酸メチルエステルの増加がみられたが、B→bおよびC→cについては、変化はみられなかった。エステル交換油脂はエステル交換反応後、「実験方法 1. 試料」に記したような方法で精製し、製品として使用に供される。このためエステル交換反応中に脂肪酸メチルエステルが生成したとしても、その大部分は減圧高温条件下での水蒸気蒸留によって除去されるものと考えられる。実際に、山崎ら⁵⁾は水蒸気蒸留の留去物質中に脂肪酸メチルエステルを検出している。

文 献

- 1) T.J. Weiss, G.A. Jacobson, L.H. Wiedermann: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 38, 396 (1961)
- 2) 中岡直砥, 光永新二, 島田哲夫, 岡田忠興: 特許公報, 昭和 35-2885
- 3) 中沢君枝, 島田哲夫, 岡田忠興: 油化学, 6, 156 (1957)
- 4) L.H. Going: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 44, 414A (1967)
- 5) 山崎 恵, 佐野春樹, 堤 忠一, 高木 徹: 油化学, 26, 705 (1977)

実験動物の血清生化学値

I. マウスおよびラットの血清成分の安定性

中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実

Biochemical values in serum of laboratory animals

I. Stability of serum components of mouse and rat

Yukio NAKAJI, Sachiko SUZUKI and Minoru SAITO

Mouse and rat sera were stored at 4°, -80° and -80°C after freeze-drying, and the variation of the sixteen components of these sera on storage was examined for six weeks.

In all the conditions creatine kinase was found to be extremely unstable, while blood urea nitrogen and triglycerides were very unstable the values of total cholesterol, glutamate-pyruvate transaminase, lactate dehydrogenase and calcium were also found to be slightly unstable.

(Received May 31, 1979)

一般毒性実験で用いられる多くの検査指標のうち、血清成分はもう一方の基本的指標である形態的变化と並んで重要な毒性評価の要因である。また、血清成分の変化が形態学的変化に先行して出現しうること、あるいは形態学的変化の背景を追求する一つの材料となることから、その毒性検索上の意義は極めて大きい。しかし、この血清成分の検査値は種々の要因によって左右され、その値の変動の意義を把握し難い。

われわれは、今回実際に血清成分の測定を実施する場合に見られる種々の条件が、その測定値に如何に影響するかを検討し、測定値の変動の真の意義を明確にする目的で一連の実験を行った。

通常血清の生化学検査は数日を要し、時として数週間後に行われることもある。このような場合、血清の構成成分の安定性とその量的変化をあらかじめ認識した上で検査値を評価する必要がある。そこで実験室

で繁殖される動物の種およびその血清の保存の条件を異にした時の血清生化学値の変動を経時的に調査し、若干の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1) 実験動物 ddY 系雄マウス (ddY) 76 匹, Sprague-Dawley 系雄ラット (SD) 26 匹および Wistar 系雄ラット (Wistar) 26 匹それぞれ 4 週令^{*1)}を使用した。

2) 飼育条件 マウスは 1 ケージにつき 10 匹, ラットは 4 匹の集団として, ddY は 7 週間, SD は 8 週間および Wistar は 9 週間飼育した。飼料は固型飼料^{*2)}を与え、水と共に自由に摂取させた。環境温度は $24.5 \pm 1^\circ$ である。

*1) 静岡実験動物

*2) 船橋農場、飼育用 MM-1

Table 1. Test and Reagent Kit

Test (Abbreviation)	Manufacture (Code number)	Method and Principle
Total protein (T-PRO)	Wako (274-24301)	Biuret reaction. Complex with cupric ions (End point)
Albumin (ALB)	Wako (274-24301)	Dye binding with bromocresol green (End point)
Albumin-Globulin ratio (A/G)	—	Calculation
Blood urea nitrogen (BUN)	Shinotest (97016)	MANOUKIAN : Hydrolysis by urease, GLDH system/ NADH (Fixed time)
Creatine (CRN)	BMJ (124192)	JAFFE : Reaction with alkaline picrate (Fixed time)
Uric acid (UA)	BMJ (124753)	KAGEYAMA : Oxidation by uricase, catalase system/ lutidine derivative dye (Fixed time)
Glucose (GLU)	BMJ (166391)	TRINDER : Oxidation by GOD, POD system/ quinonimine dye (Fixed time)
Non-esterified fatty acids (NEFA)	Eiken (E-CEO1)	MAEHATA : Chelation with the copper in cupric salt of fatty acids (End from point)
Phospholipids (PL)	Wako (275-54001)	TAKAYAMA : Hydrolysis and oxidation by phospho- lipase, cholinoxidase, POD system/quinonimine dye (Rate)
Triglycerides (T-GLY)	BMJ (126012)	WAHLEFELD : Hydrolysis and phosphorylation by lipase, esterase, GK, PK, LDH system/NADH (Rate)
Total cholesterol (T-CHO)	BMJ (172626)	TRINDER : Hydrolysis and oxidation by cholesterol esterase, cholesterol oxidase, POD system/quinonimine dye (End point)
Alkaline phosphatase (ALP)	Wako (279-3390)	BESSEY-LOWRY : Hydrolysis of p-nitrophenylphosphate, diethanolamine buffer pH 9.8/p-nitrophenol (Rate)
Cholinesterase (CHE)	BMJ (124125)	KNEDEL : Hydrolysis of butyrylthiocholine/complex with bisdithio nitrobenzoate (Rate)
Creatine Kinase (CK)	BMJ (126322)	FORSTER : Hydrolysis of creatine phosphate with HK, G6PDH system/NADPH (Rate)
Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT)	Eiken (89049)	KARMEN : Transamination of aspartate by GOT, MDH system/NADH (Rate)
Glutamate-pyruvate transaminase (GPT)	Eiken (89079)	HENRY : Transamination of alanine by GPT, LDH system/NADH (Rate)
γ -Glutamyl transpeptidase (γ -GPT)	BMJ (158208)	RERSIJN : Transfer of γ -glututamyl group/ p-nitroaniline (Rate)
α -Hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH)	BMJ (124800)	ROSALKI : Reduction of α -Ketobutyrate/NADH (Rate)
Leucine aminopeptidase (LAP)	Wako (279-34001)	NAGEL : Hydrolysis of L-leucil-p-nitroanilide/ p-nitroaniline (Rate)
Lactate dehydrogenase (LDH-P)	Shinotest (SVR)	HENRY : Reduction of pyruvate/NADH (Rate)

Table 1 (continued)

Test	Manufacture	Method and Principle
Calcium (Ca)	Wako (272-21801)	Reaction of calcium with <i>o</i> -cresolphthalein complexon (End point)
Magnesium (Mg)	Wako (279-32801)	Reaction of magnesium with xylidil blue (End point)
Inorganic phosphorus (Pi)	Wako (278-23101)	FISKE-SABBAROW : Reaction of phosphorus with ammonium molybdate (End point)
Sodium (Na)		Ion-selective electrode method
Potassium (K)		"
Chlorine (Cl)		"

The concentration of an enzyme in serum is expressed as milliunits per milliliter ($\mu\text{u}/\text{ml}$) at 30°. GK : Glycerokinase, GLDH : L-Glutamate dehydrogenase, GOD : Glucose oxydase, HK : Hexokinase, G6PDH : Glucose-6-phosphate dehydrogenase, MDH : Malate dehydrogenase, LDH : L-lactate dehydrogenase, PK : Pyruvate kinase, POD : Peroxidase, NADH : Nicotinamide adenine dinucleotide reduced, NADPH : Nicotinamide dinucleotide phosphate reduced, Wako : Wako Pure Chemical Industries, LTD., Shinotest : Shinotest Laboratory, BMJ : Boeringar Mannheim Yamanouchi, Eiken : Eiken Kagaku Co. LTD.

3) 検液の調製 飽食状態の動物を軽度にてエーテルで麻酔し、マウスは後大静脈より注射筒で、またラットは腹大動脈より採血針でできるだけ多量に採血した。血液はそれぞれ1四分を氷水中で冷却し、2時間以内に3000 rpmで10分間遠心し、血清を分取した。

ddYはそれぞれ7四分を集め1バイアルとして、8バイアルを正常値測定用検液とし、別に20四分の血清を混和してブルー血清Aを調製した。SDおよびWistarは26匹のそれぞれの血清1 mlを正常値測定用検液とし、残りの血清に更に4四分の血清を加えてブルー血清BおよびCを調製した。

4) 血清の保存 ブルー血清A、BおよびCをそれぞれ1 mlずつバイアル瓶に分注し、A、B、Cともにこれを3群に分け、冷蔵庫(4°)フリーザー(-80°)および凍結乾燥後フリーザー(FD)にそれぞれ保存した。

5) 血清成分の定量 ddY 8, SD および Wistar それぞれ 26 の正常値測定用検液につき、また、保存したブルー血清についてはマウス 2 バイアル、ラット 3 バイアルにつき Table 1 に示した 26 の試験項目の中から正常値測定用には 21、保存試験用には 16。試験項目についてそれぞれの試薬キットを用いて測定した。測定機器は電解質(Na, K, Cl)に対し日立製 702 型電解質オートアナライザーおよび蛋白その他の項目には米国 Electro Nucleonic 社製 Gemsac IV

型オートアナライザーを使用した。保存試験には正常値を測定しそれを基点として 1, 2, 3, 4 および 6 週間目に実施した。

実験結果および考察

1) 正常値 ddY, SD および Wistar の正常値測定用検液について血清成分を測定し、その血清生化学値をそれぞれ 11, 12 および 13 週令における正常値として Table 2 に示した。マウスとラットでは採血部位が異なるので一概に動物の種差を論じることにはできないが、この表からマウスはラットに対して蛋白が低く、コリンエステラーゼが高いのが最も特徴的である。一方、採血部位が同一な SD と Wistar では個体間の変動の甚だしい CK, LDH および HBDH (LDH のイソエンザイム LDH₁) を除けばすべての項目に亘って差はなかった。

2) 保存試験 血清を三つの保存条件で6週間保存し経時的に測定し、正常値に対する変化の割合を百分率で表した結果を Table 3 に示した。

方法の如何を問わず保存中に変化率が $\pm 20\%$ を越える頻度の多いものの順位は次の如くである。

CK>BUN・T-GLY>T-CHO・HBDH>GPT・LDH・Ca 保存中に変化するもののその態様と項目は次のように分類される。

a) 漸増するもの

Table 2. Biochemical values in serum of normal laboratory animals

Test	Unit	Species of animal		
		ddY* ¹	SD* ²	Wistar
T-PRO	g/dl	4.9±0.2	6.3±0.3	6.6±0.2
ALB	g/dl	3.2±0.1	3.7±0.1	3.8±0.2
A/G	—	1.80±0.11	1.49±0.14	1.41±0.17
BUN	mg/dl	25±1	16±1	16±1
CRN	mg/dl	0.14±0.15	0.56±0.05	0.52±0.05
GLU	mg/dl	168±7	171±17	169±21
PL	mg/dl	267±13	156±12	167±11
T-GLY	mg/dl	348±52	234±73	189±42
T-CHO	mg/dl	85±8	53±7	52±7
ALP	mu/ml	185±20	389±69	473±38
CHE	mu/ml	2541±201	661±196	634±140
CK	mu/ml	64±11	217±56	89±26
GOT	mu/ml	33±4	64±9	53±4
GPT	mu/ml	26±5	30±5	31±5
HBDH	mu/dl	115±17	179±54	92±33
LAP	mu/dl	26±2	48±4	47±2
LDH	mu/dl	482±94	834±250	398±166
Ca	mg/dl	7.9±0.4	10.7±0.7	9.8±0.7
Na	meq/l	151±1	147±2	148±1
K	meq/l	6.3±0.3	6.0±0.6	5.1±0.4
Cl	meq/l	110±2	105±2	101±3

Each value is mean±S.D..

*¹: 56 ddY mice, male, 11 weeks

*²: 26 Sprague-Dawley rats, male, 12 weeks

*³: 26 Wistar rats, male, 13 weeks

T-GLY ddY (4°)

b) 1～2週で上昇し、後横ばいとなるもの

BUN Wistar (4°)

LDH ddY (4°, -80°, FD)

HBDH ddY (4°, -80°, FD)

T-GLY Wistar (4°, -80°, FD)

c) 漸減するもの

Ca ddY (4°)

d) 極度に変化の激しいもの (活性の急激な増加あるいは減少)

CK ddY, SD, Wistar (4°; -80°, FD)

比較的安定なものとしては GOT, GLU, CHE および LAP が挙げられ、T-PRO, ALB, ALP および PL は最も安定であった。また明らかに種差があると認められるものはなかった。

一般に酵素を保存する場合 pH, 温度, 塩濃度の変

化により活性に変化をきたすが、その変化とは失活を意味する。しかしながら、ここで検討した ALP, CHE, CK, GOT, HBDH, LAP および LDH の中で冷蔵庫内あるいはフリーザー内、すなわち血清が液状であれ、固体状であれ、6週間では、SD の CK を除いて、失活もせず、失活の徴候もみられなかった。逆に CK, HBDH および LDH では、冷時保存することによって活性が増強されている。このことは 3000 回転で 10 分間遠心分離して得た血清には一般に有形成分が最早存在しないとみられていることから血清保存中に酵素活性を左右する因子、あるいは定量法を妨害する物質の産生あるいは混在も考えられ今後の酵素学的研究が期待される。

CK の変動の時間的推移および大きさから採血直後に変化が始まっていることは容易に推測され、定量の際には他の試験項目に先んじて CK の測定を行う必要

Table 3. Influence of storage on biochemical values in serum

Test	Species	4°*1 (weeks)						-80°*2 (weeks)						FD*3 (weeks)					
		1	2	3	4	6	1	2	3	4	6	1	2	3	4	6	1	2	3
T-PRO	ddY	103	99	101	101	99	103	101	99	105	89	112	110	110	110	108	112	110	110
	SD	102	103	106	106	108	102	101	107	109	108	110	109	100	112	108	110	109	100
	Wistar	104	108	110	99	105	108	108	108	108	104	100	111	113	91	110	100	111	113
ALB	ddY	101	104	95	100	89	101	101	101	101	82	104	101	101	101	89	104	101	101
	SD	103	103	105	104	104	105	103	107	108	104	107	105	96	105	107	107	105	107
	Wistar	102	105	105	92	105	105	108	105	100	102	108	108	108	81	105	108	108	108
BUN	ddY	90	95	110	121	111	86	95	103	126	104	92	89	102	114	104	92	89	102
	SD	112	120	144	119	120	110	117	133	120	104	112	119	127	111	111	112	119	127
	Wistar	133	137	124	133	119	112	118	117	131	107	113	110	115	117	110	113	110	115
GLU	ddY	98	101	108	107	108	100	100	106	107	103	99	100	104	105	103	99	100	104
	SD	100	100	104	104	104	104	98	104	108	99	98	99	95	103	103	98	99	95
	Wistar	116	118	120	119	109	119	116	119	127	107	114	114	120	114	108	114	114	120
PL	ddY	94	103	96	105	99	97	100	96	112	96	97	103	93	104	98	97	103	93
	SD	106	97	99	104	94	111	99	99	109	94	101	92	90	105	95	101	92	90
	Wistar	94	98	105	91	99	92	102	105	96	98	88	99	104	85	85	88	99	104
T-GLY	ddY	109	114	134	145	159	105	92	112	108	106	100	89	104	99	101	100	89	104
	SD	79	104	99	100	109	80	115	91	95	98	74	98	79	87	95	74	98	79
	Wistar	145	136	138	152	141	142	132	127	149	134	134	128	127	126	132	134	128	127
T-CHO	ddY	98	135	147	136	111	104	142	148	130	99	110	141	148	139	110	110	141	148
	SD	101	113	95	85	99	103	106	93	85	96	95	102	80	80	92	95	102	80
	Wistar	99	95	83	79	92	90	97	79	83	88	97	94	81	62	90	97	94	81
ALP	ddY	100	102	103	101	99	101	104	105	105	102	90	93	94	93	92	90	93	94
	SD	101	102	101	100	103	109	113	103	106	106	91	97	83	91	91	91	97	83
	Wistar	103	103	104	103	104	107	106	104	115	101	94	93	93	91	93	94	93	93
CHE	ddY	100	95	91	93	92	103	102	101	102	108	94	100	101	103	107	94	100	101
	SD	93	90	94	104	111	91	89	87	93	110	90	82	70	85	91	90	82	70
	Wistar	100	103	109	110	114	98	98	100	106	95	98	97	104	94	101	98	97	104

Test	Species	4°*1 (weeks)						-80°*2 (weeks)						FD*3 (weeks)					
		1	2	3	4	6	1	2	3	4	6	1	2	3	4	6	1	2	3
CK	ddY	113	67	124	110	92	135	76	163	148	130	84	71	112	95	89	84	71	112
	SD	42	85	76	60	63	34	114	90	47	71	25	69	50	40	39	25	69	50
	Wistar	156	134	120	129	120	173	154	128	154	131	122	103	82	91	88	122	103	82
GOT	ddY	96	96	93	83	93	93	96	96	114	96	87	87	90	99	93	87	87	90
	SD	107	108	111	107	113	114	117	116	111	120	95	99	92	95	105	95	99	92
	Wistar	111	118	114	111	105	112	124	112	129	109	103	112	105	105	105	103	112	105
GPT	ddY	131	88	100	88	115	92	81	81	112	81	85	81	81	92	77	85	81	81
	SD	94	97	94	95	98	101	108	108	94	101	82	86	70	84	82	82	86	70
	Wistar	111	114	111	104	104	114	117	111	121	108	94	101	104	94	94	94	101	104
HBDH	ddY	104	117	142	118	123	114	111	134	120	120	124	111	127	131	118	124	111	127
	SD	96	102	100	96	93	105	99	105	104	103	93	101	90	98	103	93	101	90
	Wistar	104	103	103	102	98	101	111	117	129	116	106	125	110	109	104	106	125	110
LAP	ddY	95	95	88	78	80	103	107	103	99	103	107	103	103	103	99	107	103	103
	SD	113	107	103	113	107	118	118	107	120	111	111	109	94	118	111	111	109	94
	Wistar	101	96	111	101	94	103	118	114	109	96	100	99	114	99	99	100	99	114
LDH	ddY	121	123	127	123	123	122	126	115	120	122	121	123	114	120	120	121	123	114
	SD	104	95	103	97	96	111	99	107	102	103	106	102	102	103	106	106	102	102
	Wistar	95	106	107	105	95	111	111	107	121	103	108	105	106	108	107	108	105	106
Ca	ddY	76	52	52	43	38	90	76	90	93	84	128	115	101	114	112	128	115	101
	SD	92	95	93	95	97	93	97	100	103	100	103	93	90	96	100	103	93	90
	Wistar	117	115	111	111	113	103	116	111	124	112	100	119	115	108	96	100	119	115

Each represents percent retention of zero times values.

ddY : ddY Mouse, SD : Sprague-Dawley rat, Wistar : Wistar rat

*1 : Serum stored at 4°

*2 : Serum stored at -80°

*3 : Serum stored at -80° after freeze-drying

があらう。

血清の保存法としては ddY, SD および Wistar 共に変化率の少い項目の数を基準にすると、FD が最も良く、4° と -80° では同程度であるが、これら三者の間の差は大きくなかった。

結 論

約 12 週令のマウスおよびラットの正常値としての血清生化学値を求め、同じ血清を 4°, -80° および凍結乾燥後に -80° で保存して 6 週間における 16 の

血清成分の経時変化を調べた結果 CK は極めて不安定、BUN および T-GLY は非常に不安定そして T-CHO, HBDH, GPT, LDH および Ca は比較的安定でありその他のものは安定であった。

終りに臨み、本実験に惜しみなく協力された毒性部第一、第二、第三および第四室の諸氏および本報告の御校閲を賜った戸部満寿夫部長に深甚の謝意を表します。

実験動物の血清生化学値

II. ラットの全血の放置による血清生化学値の変動

中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実

Biochemical values in serum of laboratory animals

II. Variation in the biochemical values of rat serum on standing of the whole blood

Yukio NAKAJI, Sachiko SUZUKI and Minoru SAITO

When the whole blood of rats was allowed to stand at room temperature (27°C) for six hours, the activities of creatine kinase and lactate dehydrogenase, in particular, were found to be elevated eleven times more than the values obtained with blood samples in ice-cold water for two hours. The levels of these components became two times higher when the whole blood was stored in ice-cold water immediately after sampling for two hours. This elevation was may be due to diffusion from the blood cells since the serum did not hemolyse.

(Received May 31, 1979)

血清生化学検査の目的で採取された血液が様々な理由から時には数時間も血清分離の処理を受けずに放置されることがある。血液中の細胞の代謝活性を考慮に入れるとき、血清成分に何らかの変化がもたらされることは容易に推測されるところである。血液の迅速な処理が要求されてはいても、放置し得る許容限度を知ることがは実用的な意義を持つ。病理的検査を平行して実施する場合、30~40 匹のラットからの採血には部位がいづれであれ通常 2 時間は必要である。この時点での血清生化学値、さらに放置時間を変えた時の変化率を調べ若干の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1) 実験動物 4 週令の SPF^{*1)}, Wistar 系雌ラット^{*2)} 14 匹を使用した。

2) 飼育条件 ラットは 1 ケージ 4 匹の集団とし、Barrier system で 20 週間飼育した。飼料は固型飼料^{*3)}を与え水と共に自由に摂取させた。環境温度は 24.0±1° で点燈時間は 12 時間である。

3) 検液の調製 採血 16 時間前に除餌したラット 14 匹を用いた。先づその 8 匹を軽度にてエーテルで麻酔し、腹大動脈から出来るだけ多量に採血し、3 本の遠心管にほぼ同量ずつ分注した。遠心管を密栓し、そのうちの 2 本は氷水中に入れ、最初の採血時を基点として 2 時間用および 6 時間用検液とし、他の 1 本は室温 (27°) に放置し、6 時間用検液とした。別にラット 6 匹をできるだけ短時間に、同様に操作し、5 本の

*1) Specific Pathogen Free

*2) 静岡実験動物

*3) 船橋農場、飼育用 MM-1

Table 1. Biochemical values in serum of whole blood stored under two conditions

Test	Unit	Storage in ice-cold water		Storage at room temperature (27°)
		2 hours (n=8)	6 hours (n=8)	6 hours (n=6)
T-PRO	g/dl	7.3±0.4	7.1±0.4	—
ALB	g/dl	4.5±0.2	4.4±0.2	—
BUN	mg/dl	21±1	20±1	21±1
CRN	mg/dl	0.72±0.06	0.67±0.05	0.74±0.04
UA	mg/dl	1.9±0.3	2.6±0.3	3.2±0.4
GLU	mg/dl	130±6	121±7	52±11
NEFA	mEq/l	1.02±0.10	1.02±0.10	1.44±0.14
PL	mg/dl	211±13	214±13	208±13
T-GLY	mg/dl	59±10	63±7	74±8
T-CHO	mg/dl	59±4	59±4	59±7
ALP	mu/dl	115±16	110±14	116±19
CHE	mu/dl	1797±254	1743±249	1812±220
CK	mu/dl	84±35	146±32	918±123
GOT	mu/dl	67±8	72±9	125±10
GPT	mu/dl	27±4	26±7	26±5
HBDH	mu/dl	59±15	110±31	669±66
LAP	mu/dl	46±2	44±2	48±2
LDH	mu/dl	242±77	496±154	2749±248
Ca	mg/dl	9.9±0.5	10.2±0.6	10.3±0.4
Mg	mg/dl	2.3±0.2	2.3±0.2	—
Pi	mg/dl	3.7±0.7	4.8±0.8	—
Na	mEq/l	164±14	144±9	—
K	mEq/l	5.8±0.5	6.7±0.7	—

Each value is mean±S.D..

遠心管にはほぼ同量ずつ分注し、遠心管を密栓して氷水中に放置し、最初の採血時を基点として 0, 1, 2, 3 および 4 時間用検液とした。

4) 血清成分の定量 各検液は指定された放置時間ごとに遠心分離して血清を分取し前報¹⁾の Table 1 から最初の 8 四分の検液に対しては 23, 最後の 6 四分のそれには 10 の試験項目について、それぞれの試験キットを用いて測定した。

実験結果および考察

全血を室温で 6 時間放置すると LDH, HBDH (LDH のイソエンザイム LDH₁) および CK は甚だしく増加し、氷水中に 2 時間放置したものに対して約 11 倍となる。また NEFA と UA は幾分上昇し、逆に GLU は低下した (Table 1)。氷水中 2 および 6 時間、室温 6 時間の 3 つの条件では BUN, CRN, PL, T-CHO,

ALP, CHE, GPT, LAP および Ca は極めて安定であった (Table 1)。

同様に氷水中 6 時間放置の場合には、同 2 時間のものに比べて UA, CK, HBDH, LDH, および P が 0.3~2 倍の範囲で高い値を示した。このことから、これらが氷水中に保存しても経時的に変化していることが分かったので、別に採血直後を基点として氷水中 1, 2, 3 および 4 時間放置した時の生化学値を求めた結果を Table 2 に示した。

氷水中 1 時間の放置ですでに変化のあるものがあり、UA, GLU および Pi が減少し、CK, LDH および HBDH は 30~60% の増加を示した。2 および 3 時間目では上昇あるいは下降を示す殆どものの速さがにぶるが 4 時間目では一段と変化する傾向が見られる。この間 T-GLY および GOT は殆ど変化しなかった。

Table 2. Changes in biochemical values in serum of whole blood stored in ice-cold water

Test	Storage hour				
	0	1	2	3	4
	*1	(%)	(%)	(%)	(%)*2
UA	1.5±0.4 mg/dl	60	99	88	105
GLU	126±12 mg/dl	76	85	89	90
T-GLY	63±6 mg/dl	97	95	97	105
CK	91±19 mg/dl	132	148	141	167
GOT	67±6 mu/dl	100	104	103	107
HBDH	42±6 mu/dl	138	161	176	253
LDH	173±39 mu/dl	164	180	181	224
Pi	5.9±0.9 mg/dl	92	71	64	75
Na	152±4 mEq/l	101	99	99	94
K	4.9±0.3 mEq/l	107	113	116	121

*1 Each value is mean±S.D. of rats.

*2 Each represents percent retention of zero time values.

Table 1 と 2 では全血の放置時間の基点が異り、Table 1 の氷水中2時間の値は 30 分を要して採血した 8 匹分の平均値であって Table 2 の 1 時間半から 2 時間に位置するものである。

採血を多数の動物から同時に行うことは困難であって、通常数匹ずつ間隔を置いて行われ、1 時間以内で採血し、2 時間以内に遠心分離される。これを仮に、この状態で採血後、直ちに血清を分離するとすれば Table 2 の結果から採血後 1 時間では CK, LDH および HBDH の上昇速度が大であり、これに採血の時間的な差が加わることによって最初と最後の採血の 1 時間の差は CK などの測定値の変動係数を異常に高める要因となるのではなからうか。そこで 1 時間以内に採血を行った場合、最初の動物の採血時から 2 時間半～3 時間の間に血清を分離することが比較的安定したデータを得られるものと思われる。

全血の放置による GLU の減少は血球の解糖作用によるもので、また LDH や K は溶血以外に放置による血球からの拡散と説明されている²⁾。Table 1 に用いられた血清中のヘモグロビン量は氷水中 2 時間、6 時間および室温 6 時間の放置群でそれぞれ 0.05～

0.14, 0.1～0.19 および 0.01～0.24 mg/dl であった。このヘモグロビンの量はいずれの群の個別の検液についても LDH, GOT, GPT および K と全く量的関係が認められなかった。このことは LDH の増大が単なる赤血球の崩壊、すなわち溶血によるものではないことを示唆している。

結 論

全血は室温に放置すると、測定した 23 の血清成分のうち特に CK, LDH および HBDH の値が異常に高まるが氷水中に保存すれば、これらの上昇は抑制され、採血後 2～3 時間で比較的安定した値が得られる。

終りに臨み、惜しみなく協力された毒性部第二室松本清司、落合敏秋、川崎 靖技官および本報告の御校閲を賜った戸部満寿夫部長に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 衛生試験, 97, 141 (1979)
- 2) 佐々木匡秀ら：人体成分のサンプリング(1972) 講談社

実験動物の血清生化学値

III. ラットの絶食時間の違いによる血清生化学値の変動

中路幸男・鈴木幸子・斉藤 実

鈴木康雄・金子豊蔵・池田康和

Biochemical values in serum of laboratory animals

III. Variation values in the biochemical values of serum from rats of different fasting time

Yukio NAKAJI, Sachiko SUZUKI, Minoru SAITO, Yasuo SUZUKI,
Toyozo KANEKO and Yasukazu IKEDA

The weight of gastrointestinal tract contents and the biochemical values in serum of rats under starvation were compared with those of rats under satiation for the same time.

Activities of creatine kinase and lactate dehydrogenase, and nonesterified fatty acid obtained from fasting group of rats were high than those of feeding group. Phospholipids, triglycerides and total cholesterol, on the contrary, were lower.

(Received May 31, 1979)

ヒトにおける採血では、血清成分の中で UA, T-CHO, ALP, CK, LDH, Pi, K 特に GLU および T-GLY などの日内変動を考慮して空腹時に行うことが良いとされている¹⁾。動物の場合にも同様に変動要因を少なくし、得られたデータの評価を容易にするという理由から採血前に絶食状態に置くことが多い。しかしながらこの絶食の程度が問題で余りに短い絶食時間では、それ以前の摂餌状態の差が大きく影響しようし、また逆にいたづらに長い絶食は動物を衰弱させることにもなる。そこで消化管に内容物が或る程度存在していても血清成分の動態をあらかじめ把握しておけば良いという観点から、除餌後の消化管内容物の動きをみながら我々が通常行っている絶食 16 時間に至るまでの血清生化学値の経時的变化を調べたので報告する。

実験材料および方法

1) 実験動物 5週令の SPF^{*1)}, Wistar 系雄ラット^{*2)} 117 匹を使用した。

2) 飼育条件 ラットは 1 ケージにつき 4 匹の集団とし, Barrier system で 4 週間飼育した。飼料は固型飼料^{*3)}を与え, 水と共に自由に摂取させた。環境

*1) Specific Pathogen Free

*2) 静岡実験動物

*3) 船橋農場, 飼育用 MM-1

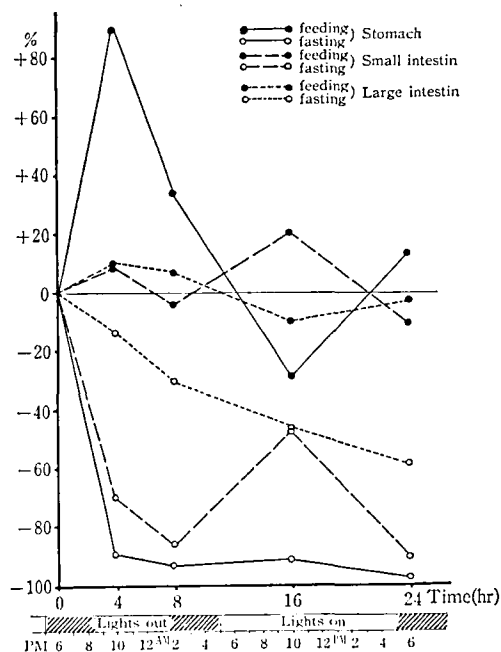


Fig. 1. Time-course of weight of gastrointestinal tract contents in feeding and fasting rats

Each point shows mean of 13 rats.

Table 1. Influence of diet on body weight

Time (hr)	Feeding (g)	Fasting (g)
0	220.9±8.3 (220.6±9.1)	220.9±8.3 (220.6±9.1)
4	226.5±10.5 (218.8±11.2)	223.9±10.7 (226.9±10.6)
8	229.5±13.4 (222.9±13.1)	216.2±5.9 (223.5±5.9)
16	232.4±15.4 (222.7±14.8)	217.7±8.7 (222.9±10.6)
24	228.9±9.2 (222.2±7.6)	210.2±8.1 (228.8±8.5)

Each value is mean±S.D. of 13 rats. Each value in parentheses is the body weight before lights out.

Starting point, zero, is one hour after lights on.

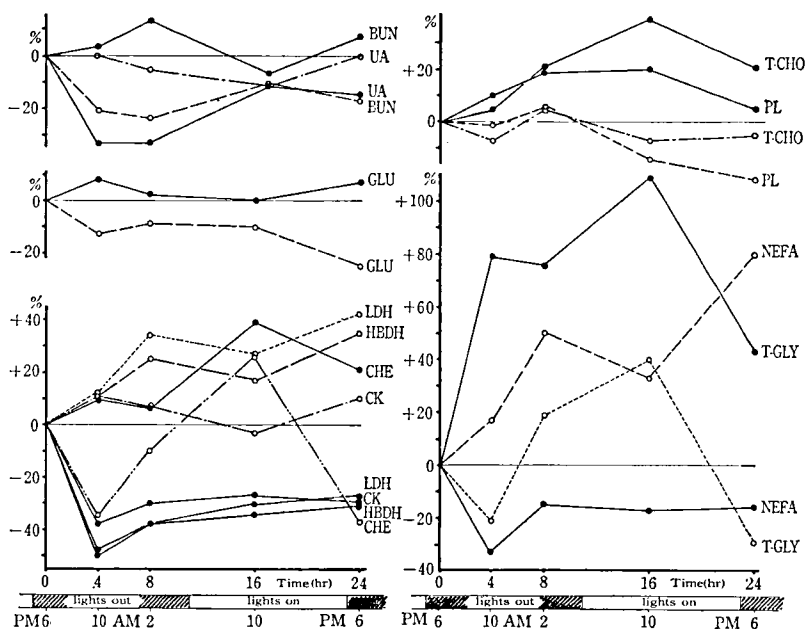


Fig. 2. Time-courses of biochemical values in serum of feeding and fasting rats. Each point shows mean of 13 rats. Closed circle : feeding. Open circle : fasting.

温度は $24.0 \pm 1^\circ$ で点燈時間は午前5時～午後5時の12時間である。

動物は1群13匹とし、午後6時の除餌を基点とする0時間の1群、除餌後4、8、16および24時間を経過した絶食群、およびこれら絶食群のそれぞれに対応する飽食群の合計9群を用意した。

3) 体重および消化管内容物の重量の測定

すべての動物の体重を消燈前に測定し、午後5時の消燈の後1時間、すなわちラットが活発な行動と共に餌を食べ始めてから1時間後を基点として指定時間ごとに飽食群および絶食群につき体重と胃、小腸および

大腸の内容物の重量を測定した。これらの内容物については、体重測定後採血し直ちに胃、小腸および大腸を摘出してそれぞれの重量を秤り、その内容物を洗浄、除去後再び重量を秤ってそれぞれの臓器内容物の量を算出した。

4) 検液の調製 無麻酔下にラットの眼窩静脈叢から3ml以上を採血し、30分以内に3000rpmで10分間遠心分離し、その血清を検液とした。採血はすべての群につき体重測定後に行った。

5) 血清成分の定量 検液につき前報²⁾のTable 1に記載したものの中から24の試験項目についてそ

Table 2. Influence of diet

Test	Unit	Feeding			
		0	4	8	16
T-PRO	g/dl	7.2±0.4	7.1±0.2	7.3±0.2	7.1±0.3
ALB	g/dl	4.5±0.2	4.5±0.1	4.5±0.1	4.4±0.1
A/G	—	1.7±0.2	1.7±0.1	1.6±0.1*	1.6±0.1
BUN	mg/dl	19.8±1.2	20.4±2.0	22.4±1.7*	18.5±1.2*
UA	mg/dl	1.6±0.4	1.1±0.3**	11.±0.4**	1.4±0.4
CRN	mg/dl	0.6±0.04	0.6±0.02	0.6±0.04	0.6±0.04
GLU	mg/dl	142±13	153±11*	145±10	142±10
NEFA	mEq/l	0.6±0.13	0.4±0.08**	0.5±0.1	0.5±0.1
PL	mg/dl	145±11	169±7**	183±8	185±7**
T-GLY	mg/dl	80±15	142±18**	141±15**	167±2**
T-CHO	mg/dl	38±4	40±3	46±3	53±4**
ALP	mu/ml	823±78	862±52	874±53	762±59*
CHE	mu/ml	467±66	513±68	496±60	647±76**
CK	mu/ml	554±290	344±216*	386±144**	407±95*
GOT	mu/ml	75±8	64±6**	69±9	72±8
GPT	mu/ml	35±4	34±5	38±4	37±5
α-HBDH	mu/ml	201±44	101±31**	123±33**	133±28**
LAP	mu/ml	57±3*	55±3	59±2	54±4**
LDH	mu/ml	890±212	450±143**	540±178**	624±158**
Ca	mg/dl	11.9±0.7	13.0±0.5**	14.1±0.8	13.3±0.7
Mg	mg/dl	2.6±0.3	2.6±0.2	2.6±0.3	2.5±0.3
Pi	mg/dl	10.3±1.3	9.0±1.1*	8.7±1.6*	10.1±1.0
Na	mEq/l	145±3	144±2	144±8	143±2*
K	mEq/l	6.8±0.6	6.5±0.5	6.9±0.6	6.9±0.5
Cl	mEq/l	103±2	103±2	103±6	102±3*

Each value is mean±S.D. of 13 rats.

れぞれの試薬キットを用いて測定した。

実験結果および考察

1) 飽食および絶食による体重と消化管内容物の重量の変化 体重は飽食群では経時的に多少の変動はあるが増加する傾向にあり、それに反し絶食群では消燈前の体重に対して確実に減少し、16 時間では 2.3%、24 時間になると 8.2% の減少率を示している (Table 1)。

消化管内容物については、消燈後 1 時間摂餌した午後 6 時を基点として経時的に測定した量を百分率で表し、Fig. 1 に示した。ラットは夜行性であるため、飽食群では胃の内容物から見て、午後 5 時の消燈後、恐らく午後 10 時頃まで餌を食べ続け、翌日の午前 5 時

～午後 5 時の点燈時間中、すなわち睡眠中は食べないわけではないが最低量の状態になっている。小腸は午前 10 時に最大量となるが、これは胃の内容物が最大量に達した後、内容が徐々に小腸に送られることを示すものと見られる。大腸では胃と同様に午後 10 時を頂点とし、翌日午前 10 時を底辺とするシグモイド曲線を画く。これは前日の食餌内容が凡そ 24 時間後に大腸に送り込まれることを示すのではないだろうか。結局、飽食 16 時間、すなわち翌日午前 10 時の状態は胃および大腸が最低量、小腸は最大量となっている。

この様相は絶食群において一変する。すなわち除餌後 4 時間で胃の内容物は殆んど見られず、小腸は 8 時間で最低点にあるが、16 時間で内容物の量が一時増加している。これは小腸内に黄色の液体物質が見出され

on biochemical values in serum

Time (hr)		Fasting		Time (hr)
24	4	8	16	24
7.2±0.2	7.2±0.4	7.2±0.3	7.0±0.3	7.0±0.4
4.5±0.1	4.6±0.2	4.5±0.1	4.3±0.2*	4.5±0.2
1.7±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1	1.8±0.1
21.2±1.8	15.6±2.1**	15.1±2.2**	17.6±0.9**	16.4±1.5
1.2±0.3*	1.6±1.5	1.5±0.4	1.4±0.3	1.6±0.3
0.6±0.03	0.6±0.05	0.6±0.03	0.6±0.03	0.6±0.06*
152±7*	129±12*	129±12**	128±10**	107±9**
0.5±0.13	0.7±0.12**	0.9±0.10**	0.8±0.15**	0.9±0.17**
162±9*	152±10	164±9	133±8**	120±7**
114±11**	63±7**	95±13**	112±17**	57±6**
46±4**	41±4*	40±4**	41±4*	36±3
791±48	816±82	741±57**	655±55**	671±38**
452±49	353±27**	418±58	571±84**	293±34**
396±169*	617±315	595±146	540±124	607±134
73±11	81±12	79±8	77±7	81±8
38±5	36±6	37±6	38±5	35±4
138±63**	224±51	251±52*	235±47	272±51**
54±2**	57±4	58±3	55±2	56±3**
648±312*	996±253	1192±257**	1121±251*	1267±230
13.6±0.8	12.2±1.1	13.0±0.8**	14.3±0.7**	12.2±1.2**
2.7±0.3	2.8±0.4	2.8±0.3	2.6±0.3	2.6±0.2
9.7±0.9	110.0±1.5	9.3±1.0*	9.0±0.3**	9.1±0.5**
145±3	147±5	144±2	141±2**	144±3
6.7±0.6	6.2±0.7*	6.2±0.4**	6.3±0.4*	5.9±0.5**
104±2	106±41	103±2	102±1	104±3

* P<0.05, ** P<0.01 : Significant difference from zero time.

る（胃内にも小量認められた）こと、またこれが飽食群の小腸で 16 時間の最盛活動期にあたることから習慣的な胆汁等の分泌によるものと考えられる。また、大腸ではほぼ一定の率で減少しているが、24 時間でもなお 40% 程度の内容物が残存していた。

除餌 16 時間の状態は胃および小腸には餌の残留を全く認めず、胃の一部と小腸に分泌液が出ているが、大腸には 54% の内容物が残っている。

2) 血清生化学値の変動 消燈後 1 時間摂餌した午後 6 時を基点として経時的に測定した血清生化学値を Table 2 に示した。その中で特に変化の著しい試験項目については窒素化合物、糖質、酵素および脂質に分けて、Fig. 2 に示した。

飽食群では GLU の増加と LDH の減少、BUN の

増加および際立った T-GLY の増加が見られる。このパターンは糖質、たん白質および脂質の吸収の時間的な差を如実に表すものであろう。

一方、絶食群では 4 時間ですでに GLU は低下し、LDH の血清中への排出によって解糖作用の不活発なことを示し、T-GLY と CHE が飽食群のそれと同じパターンを示すが量点にはかなり減少している。またエネルギー源として NEFA の漸増も絶食時における特徴の一つである。

このような経過の中で除餌 16 時間における血清生化学値の状態をみると、飽食群に対して NEFA (160%), CK (133%), HBDH (177%) および LDH (180%) が高く、PL (72%), T-GLY (67%) および T-CHO (77%) が低い値を示し、解糖系酵素の増加と脂

Table 3 Coefficient of variation

Test	Feeding					Time (hr)				
	0	4	8	16	24	0	4	8	16	24
T-PRO	5.2	25.5	3.1	15.2	4.2	20.6	4.8	23.5	3.1	15.2
ALB	3.5	25.5	2.5	18.2	2.9	21.2	3.0	21.9	1.8	13.1
BUN	8.4	20.9	9.6	23.9	7.8	19.4	6.6	16.4	8.2	20.4
UA	27.5	19.7	24.4	17.5	31.4	22.5	31.8	22.8	24.4	17.5
CRN	7.5	23.8	3.7	11.7	7.2	22.9	7.6	24.1	5.5	17.5
GLU	9.1	26.4	7.2	20.9	6.8	19.7	6.7	19.4	4.5	13.0
NEFA	24.0	24.0	18.9	17.1	21.5	19.4	21.1	19.1	25.1	22.7
PL	7.0	28.7	4.2	17.2	4.1	16.8	3.7	15.2	5.4	22.1
T-GLY	18.5	28.2	12.8	19.5	10.5	16.0	14.3	21.8	9.5	14.5
T-CHO	10.5	26.7	6.3	15.4	7.1	17.4	7.2	17.6	9.3	22.8
ALP	9.4	26.7	6.0	17.0	6.0	17.0	7.7	21.9	6.1	17.3
CHE	14.1	22.7	13.3	21.4	12.1	19.5	11.8	19.0	10.8	17.4
CK	52.3	24.0	62.8	28.8	37.4	17.1	23.2	10.6	42.6	19.5
GOT	11.1	18.5	10.2	17.0	12.5	20.8	11.3	18.8	15.0	25.0
GPT	12.5	19.4	14.5	22.5	11.5	17.8	12.6	19.5	13.4	20.8
HBDH	22.1	15.1	30.5	20.8	27.0	18.4	21.1	14.4	45.9	31.3
LAP	5.1	20.3	5.1	20.3	3.9	15.5	6.9	27.5	4.1	16.3
LDH	23.9	14.8	31.8	19.7	32.9	20.4	24.5	15.2	48.3	29.9
Ca	5.6	21.5	4.0	15.4	5.5	21.1	5.2	20.0	5.7	21.9
Mg	12.6	22.6	8.1	14.5	13.2	23.7	11.0	19.7	10.8	19.4
Pi	12.4	20.4	11.8	19.4	18.2	30.0	9.4	15.5	8.9	14.7
Na	1.9	15.0	1.3	10.3	5.8	46.0	1.7	13.5	1.9	15.0
K	8.9	21.7	7.9	19.3	8.4	20.5	6.9	16.8	8.9	21.7
Cl	2.2	16.3	1.7	12.6	5.6	41.5	2.5	18.5	1.5	11.1
Total	528.4	435.6	525.2	452.7	460.1					

First column : Coefficient of variation (C.V.) of determined values.

質の減少が特色のようである。

Table 2 のすべての測定値の標準偏差から、一つの試験項目の 0, 4, 8, 16 および 24 時間における変動係数の和に対するそれぞれの変動係数の百分率を算出し、全試験項目について各測定点ごとに和を求めるとき、全体的にバラツキの少ないものは飽食群では 4 時間、次いで 16 時間および 24 時間であり、絶食群では 16 時間、次いで 8 時間および 24 時間であった (Table 3)。除餌 16 時間が 0 時間に対して明らかに変動係数が小さくなるものは UA, NEFA, CK, GOT, HBDH, LDH, Pi および K であった。しかし 16 時間の飽食群に対しては UA の変動係数が小さくなったのみである。結局、16 時間における飽食群および絶食群につ

いては測定値は多少異なるがそれぞれのバラツキには余り差がないと云える。

24 時間の絶食群では体重の減少、GLU の急激な低下と共に運動性も不自然で衰弱の徴候がでている。

結 論

午後 5 時消燈、同 6 時除餌、翌日午前 10 時の採血を条件とした除餌 16 時間のラットの体重、消化管内容物の重量および血清生化学値の状態を経時的に調べた。胃と小腸内には餌の残存は認められない。この時点での血清生化学値は同時点での飽食群のそれに比較的近い値を示すが脂質 (PL, T-CHO, T-GLY) は低減している。また、測定値のバラツキに両者の間の差

of determined values

Fasting										Time (hr)	
0		4		8		16		24			
5.2	22.1	5.4	23.0	4.3	18.3	3.6	15.3	5.0	21.3		
3.5	20.2	3.6	20.8	2.8	16.2	3.8	22.0	3.6	20.8		
8.4	16.8	13.5	26.9	14.4	28.7	4.9	9.8	8.9	17.8		
27.5	27.9	34.2	34.7	2.7	2.7	17.8	18.0	16.5	16.7		
7.5	19.7	8.0	21.0	7.8	20.5	5.9	15.5	8.9	23.4		
9.1	22.7	5.8	14.5	9.3	23.2	7.4	18.5	8.5	21.2		
24.0	26.9	15.5	17.4	11.3	12.7	19.3	21.6	19.1	21.4		
7.0	23.4	6.5	21.7	5.2	17.4	5.6	18.7	5.6	18.7		
18.5	27.2	10.4	15.3	13.7	20.2	15.3	22.5	10.0	14.7		
10.9	23.5	9.6	20.7	9.3	20.0	9.7	20.9	6.9	14.9		
9.4	22.9	10.0	24.3	7.7	18.7	8.3	20.2	5.7	13.9		
14.1	22.4	8.8	14.0	13.9	22.0	14.7	23.4	11.4	18.1		
52.3	30.3	51.1	29.6	24.6	14.2	22.9	13.3	21.8	12.6		
11.1	20.2	15.1	27.6	9.8	17.9	8.5	15.5	10.3	18.8		
12.5	18.5	15.7	23.3	14.9	22.1	13.3	19.7	11.0	16.3		
22.1	21.2	23.0	22.0	20.7	19.8	19.9	19.1	18.7	17.9		
5.1	19.5	6.4	24.5	5.4	20.7	4.1	15.7	5.1	19.5		
23.9	21.4	25.4	22.8	21.6	19.4	22.4	20.1	18.2	16.3		
5.6	15.9	8.7	24.6	6.0	17.0	5.2	14.7	9.8	27.8		
12.6	22.1	13.1	23.0	11.4	20.0	13.2	23.2	6.6	11.6		
12.4	26.4	14.8	31.6	10.9	23.2	3.4	7.2	5.4	11.5		
1.9	19.0	3.5	35.0	1.4	14.0	1.0	10.0	2.2	22.0		
8.9	21.7	12.0	29.3	6.7	16.3	5.6	13.7	7.8	19.0		
2.2	19.5	3.8	33.6	1.4	12.4	1.2	10.6	2.7	23.9		
531.4		581.2		437.6		408.8		440.1			

Second column : Ratio-percent (value of C.V. $\times$ 100/sum of C.V. in five experimental measurements).

は比較的小さい。

文 献

終りに臨み、惜しみなく協力された毒性部第4室の諸氏および本報告の御校閲を賜った戸部満寿夫部長に深甚の謝意を表します。

- 1) 佐々木匡秀ら：人体成分のサンプリング，(1972) 講談社
- 2) 衛生試験，97, 141 (1979)

医薬品の溶出試験法に関する研究 (第 3 報)

ジギトキシンの酸加水分解

辻 澄子・伊阪 博・持田研秀

Studies on the Dissolution Test of Drugs. III

Acid Hydrolysis of Digitoxin

Sumiko TSUJI, Hiroshi ISAKA and Kenshu MOCHIDA

Digitoxin hydrolysis and digitoxigenin stability were studied as a function of temperature and pH using high-performance liquid chromatography.

Digitoxin hydrolysis was a first-order reaction and followed a specific acid catalysis.

The first-order plots for digitoxigenin stability in d-HCl (3→500) showed a straight line, and digitoxigenin was stable at 37°.

The activation energies for digitoxin hydrolysis and digitoxigenin degradation in d-HCl (3→500) were shown to be 26.5 and 26.0 kcal mol⁻¹, respectively.

(Received May 31, 1979)

ジギトキシンの酸性溶液中でのジギトキシゲニン誘導体への加水分解反応に関する動力学的解析の報告¹⁻⁴⁾は見られるが、ジギトキシシンに関する詳細な報告はない⁵⁾。ジギトキシシン錠の溶出試験法の設定にあたり、塩酸酸性溶液中での挙動を明らかにする必要が生じたために、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いてジギトキシシンの糖の脱離反応ならびに生成するジギトキシゲニンの安定性に関する動力学的検討を行った。

実験方法

1. 試薬

ジギトキシシンは薬局方標準品、ジギトキシゲニンはメルク製品、HPLC 用内部標準物質 (I.S.) としてのメチルプレドニゾロンは薬局方品、アセトニトリルは石津製薬液体クロマトグラフ用試薬を用い、その他の試薬は JIS 特級品を用いた。

2. 装置

ウォーターズ高速液体クロマトグラフ ALC/GPC コンパクト型、東亜電波 pH メーター HM5BS、ならびに $\pm 0.5^\circ$ 設定可能な恒温槽を用いた。

3. 実験操作

分解反応溶液は USP XIX⁶⁾ のジギトキシシン錠の溶出試験用溶媒であるうすめた塩酸 (3→500) (pH 1.1) をはじめ、0.2 N 塩酸 (pH 0.65)、塩化ナトリウムでイオン強度 0.2 とした塩酸緩衝液 (pH 1.7 および

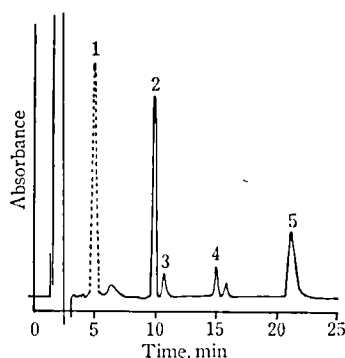


Fig. 1. Chromatogram of digitoxin species separated by HPLC, obtained from digitoxin hydrolysis in d-HCl (3→500) incubated at 37° (reaction time: 20 min)

Key : 1. methylprednisolone (internal standard)
2. digitoxigenin
3. digitoxigenin monodigitoxoside
4. digitoxigenin bisdigitoxoside
5. digitoxin

Instrument; Waters Associates ALC/GPC compact type-UVIDEC 100 II detector UV 220 nm,
HPLC condition; column: Nucleosil 5SC₁₈(5 μ) 4 mm ϕ ×150 mm, mobile phase: acetonitrile-H₂O (35-65), flow-rate: 1 ml/min, sens: 0.04 AUFS

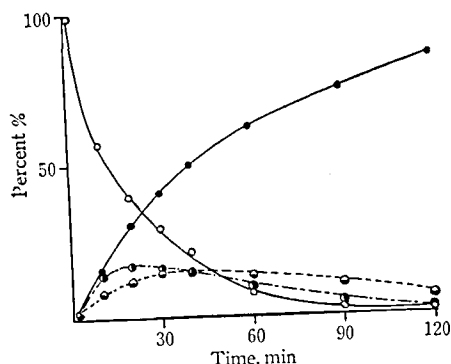


Fig. 2. Time-course for digitoxin species determined by HPLC during digitoxin degradation in d-HCl (3→500) incubated at 37°

Key : ○ digitoxin ● digitoxigenin
○ digitoxigenin monodigitoxoside
● digitoxigenin bisdigitoxoside

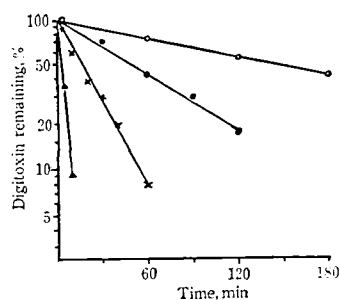


Fig. 3. First-order plots for digitoxin degradation in d-HCl (3→500)

Key : ○, 20°; ●, 30°; ×, 37°; ▲, 50°

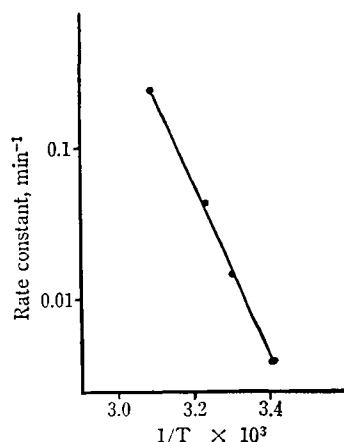


Fig. 4. Arrhenius plot of first-order rate constants for digitoxin degradation in d-HCl (3→500)

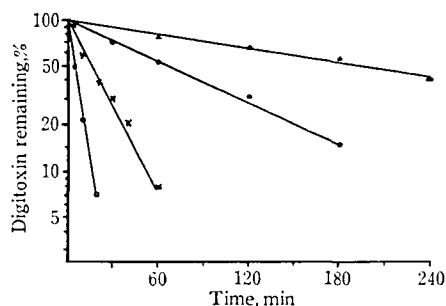


Fig. 5. Effect of pH on the first-order plots for digitoxin degradation, at 37°C

Key : ○, pH 0.65; ●, pH 1.7; ▲, pH 2.3; ×, d-HCl (3→500) pH 1.1.

2.3) を用い、溶液中のジギトキシン、ジギトキシゲニンのそれぞれの初濃度を 2.6×10^{-4} mM ($0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$, $0.097 \mu\text{g}/\text{ml}$) とした。

分解反応液 35 ml を正確にとり、水酸化ナトリウム試液で中和後、氷冷し、エタノール 0.05 ml を含んだシクロルメタン 7 ml を正確に加えて 10 分間振とうし、遠心分離後シクロルメタン層 5 ml を正確にとり、35° で減圧留去した。残渣に I.S. メタノール溶液 ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$) 100 μl を加えて溶かし、HPLC の試料溶液とし、その 20~40 μl を HPLC 装置に注入した。HPLC の測定条件は Fig. 1 に示した。検量線は内部標準法により作成し、ジギトキシン 0.05~1 μg 、ジギトキシゲニン 0.01~0.5 μg の範囲で良好な直線関係が得られた。

結果および考察

1. ジギトキシンおよび加水分解生成物の液体クロマトグラフィー

Fig. 1 はうすめた塩酸 (3→500) 中、37°、20 分の反応によって得られた生成物のクロマトグラムであり、ジギトキシゲニン、ジギトキシゲニンモノジギトキソド (Mono)、ジギトキシゲニンビスジギトキソド (Bis)、ジギトキシンの 4 つのピークが認められた。

HPLC を用いて各反応時間における濃度変化曲線を Fig. 2 に示した。ジギトキシンおよびジギトキシゲニンは標準品を用い定量したが、Mono、Bis は標準品の入手が困難であったので Castle²⁾ の HPLC の保持時間およびピーク高さ比を利用して概算値を算出しプロットした。

Table 1. First-order rate constants (K) and half-lives ($t_{1/2}$) of digitoxin degradation and digitoxigenin stability

Substrate	pH	medium	Temp, °	K, min ⁻¹	$t_{1/2}$, min
digitoxin	1.1	d-HCl (3→500)	20	0.0038	182.4
			30	0.0145	47.8
			37	0.0443	15.6
			50	0.2384	2.9
	0.65	$\mu = 0.2$	37	0.1304	5.3
	1.7		37	0.0114	60.8
digitoxigenin	2.3		37	0.0035	198.1
	1.1	d-HCl (3→500)	37	0.0005	1386.4
			50	0.0020	346.6
			60	0.0083	83.5
			75	0.0529	13.1

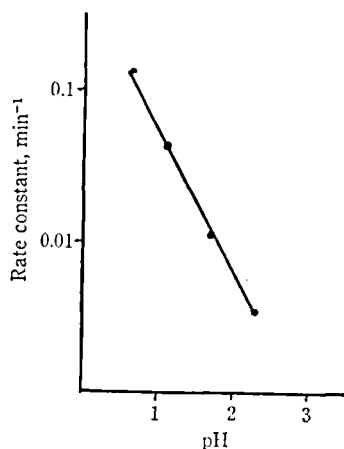


Fig. 6. The pH-rate constant profile for digitoxin degradation at 37°.

2. ジギトキシンの酸加水分解

うすめた塩酸中、各温度でのジギトキシンの酸加水分解は Fig. 3 に示すように一次反応を示し、37°での半減期は 15.6 分 (Table 1) が得られた。ジギトキシンの半減期は Khalil ら³⁾, Kuhlmann ら⁴⁾によればそれぞれ 19.4 分、13 分であり、よく近似する。また Arrhenius プロットよりその活性化エネルギーは 26.5 kcal mol⁻¹であった (Fig. 4)。

37°での分解反応の pH の影響を Fig. 5 に示した。pH-反応速度定数プロット (Fig. 6) は勾配 -0.95 の直線を示した。ジギトキシンの -1.01³⁾ に近似し、同様の酸触媒反応であることが示唆される。

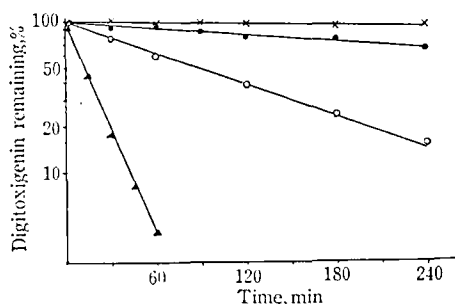


Fig. 7. First-order plots for digitoxigenin stability in d-HCl (2→500)

Key : x, 37°; ●, 50°; ○, 60°; ▲, 75°

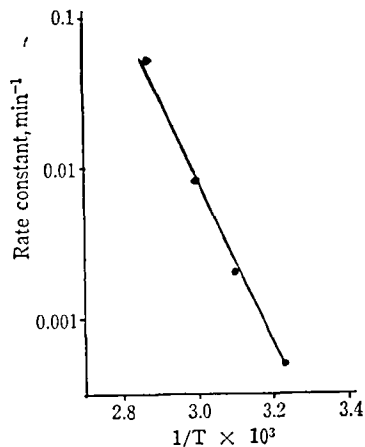


Fig. 8. Arrhenius plot of first-order rate constants for digitoxigenin stability in d-HCl (3→500)

3. ジギトキシゲニンの安定性

うすめた塩酸中、各温度におけるジギトキシゲニンの分解反応は Fig. 7 に示すように一次反応を示し、その活性化エネルギーは Arrhenius プロット (Fig. 8) より $26.0 \text{ kcal mol}^{-1}$ であった。

Fig. 7 に示したように、USP XIX の溶出試験の設定温度 37° ではジギトキシゲニンの分解はほとんど認められなかった。しかし、 75° 、60 分ではジギトキシゲニンがほとんど分解消失した。薄層クロマトグラフィーにより、分解生成物のスポットを検出したが、アンヒドロジギトキシゲニン⁸⁾であるかどうかの確認までに至らなかった。

結 語

1. ジギトキシンのうすめた塩酸 (3→500) 中での加水分解は一次反応であり、 37° で半減期 15.6 分を示した。その活性化エネルギーは $26.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ であった。pH の影響を調べたところ酸触媒反応であった。

2. ジギトキシゲニンのうすめた塩酸 (3→500) 中での分解反応も一次反応であり、 37° 、2 時間ではほとんど分解しなかった。その活性化エネルギーは $26.0 \text{ kcal mol}^{-1}$ であった。

文 献

- ✓ 1) M.H. Gault, J.D. Charles, D.L. Sugden, D.C. Kepkay : *J. Pharm. Pharmacol.*, **29**, 27 (1977)
- ✓ 2) L.A. Sternson, R.D. Saffer : *J. Pharm. Sci.*, **67**, 327 (1978)
- ✓ 3) S.A.H. Khalil, S. El-Marsy : *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1358 (1978)
- ✓ 4) J. Kuhlmann, U. Abshagen, N. Rietbrock : *Arch. Pharmacol.*, **276**, 149 (1973)
- ✓ 5) R.D. Hossie, J.C.K. Loo, I.J. McGilveray, N. Jordan : *Can. J. Pharm. Sci.*, **12**, 52 (1977)
- 6) USP XIX, 4th supplement p. 64 (1978)
- ✓ 7) M.C. Castle : *J. Chromatography*, **115**, 437 (1975)
- ✓ 8) S. Smith : *J. Chem. Soc.*, 1935, 1050

乾燥えび中の合成並びに天然着色料の検出例について

伊藤普志男・外海泰秀・慶田雅洋

A Case Report on the Detection of Artificial and Natural Colors from Dried Shrimp

Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI and Masahiro IWAIDA

A pursuit was carried out on the detection of natural and artificial colors added to dried shrimp imported from South Korea in June, 1978. The preparation of test solutions from the sample was carried out according to the procedure as shown in Fig. 1. Absorption spectra of petroleum extract of the sample (Test solution I) and 70% ethanol extract of the residue (Test solution II) are as shown in Fig. 2. Test solution II was judged to contain new coccine. Color development of the Test solution I by Carr-Price reaction and sulfuric acid reaction was deep blue, while the dye was not decolorized by sodium nitrate-sulfuric acid reagent. From the comparison with various kinds of carotenoid compounds, the dye contained in Test solution I was identified to be capsanthin.

(Received May 31, 1979)

昭和 53 年度輸入食品検査において、乾燥えび中の色素の検査依頼があった。検査した結果、ニューコクシン (食用赤色 102 号相当) およびバブリカ色素 (カプサンチン) を検出したので報告する。

実験材料および方法

1. 実験材料

1) 検体：昭和 53 年 6 月 14 日、門司港より送付

された乾燥むきえび

2) 色素標準品：ニューコクシンは国立衛生試験所標準品、天然色素は試薬を薄層クロマトグラフィーにより精製した後、使用した。

3) 装置：日立二波長自記分光光度計 556 型

2. 実験方法

食品衛生検査指針 I¹⁾ の食品添加物検査法 (着色料) に従った。

実験結果

1. 試験溶液の調製: Fig. 1 のように行った.

試料を脱脂の目的で石油エーテルと振り混ぜると、溶剤層は橙色に着色した。これを検液 I とする。

残渣に 1% アンモニア水を含む 70% アルコールを加え、くり返し抽出すると抽出液は赤色を呈した。これを検液 II とする。

検液 I と II の可視部吸収スペクトルを Fig. 2 に示した。

2. 検液 II について水溶性色素の検索:

1) 毛糸染色法を行うと、色素は酢酸ナ性で毛糸に染色し、アンモニアアルカリ性で脱離し、酸性タール色素の挙動を示した。

2) 毛糸染色後の溶出液の可視部吸収スペクトルは、波長 510 nm に極大吸収を示した。

3) 毛糸染色後の濃縮液について、ろ紙クロマトグラフィーを行った。展開溶媒が *n*-ブタノール・エタノール・1% アンモニア水混液 (6:2:3) のとき Rf 0.2, また 25% エタノール・1% アンモニア水混液 (1:1) のとき Rf 0.8 であった。

以上のことから、検液 II の色素はニューコクシン (食用赤色 102 号相当) と判明した。

3. 検液 I について

1) 油溶性タール色素の検索:

1-1) 溶剤による分離試験にしたがって、検液 I (石油エーテル溶液) を塩酸・酢酸混液 (塩酸・氷酢酸・水=1:5:0.5) および硫酸・酢酸混液 (硫酸・氷酢酸・水=4:9:1) と振り混ぜても、色素は水層に移行しなかった。

1-2) 検液 I を濃縮した後、逆相ろ紙クロマトグラフィーを行った。流動パラフィン・石油エーテル溶液 (5→100) に浸した後、風乾したろ紙を用い、展開溶媒としてメタノール・氷酢酸・水 (16:1:3) を使用した時、スポットは原点に留った。

以上のことから、検液 I の色素は油溶性タール色素ではないと判明した。

2) 油溶性天然色素の検索

2-1) 溶剤による分離試験において、色素は中性でエーテルにより抽出された。

2-2) 可視部吸収スペクトルにおいて、*n*-ヘキサンまたはシクロヘキサン溶液で $\lambda_{\max}$ 470 nm, クロロホルムまたはピリジン溶液で $\lambda_{\max}$ 480 nm を示した。

2-3) 薄層クロマトグラフィーでは、吸着剤がシリカゲル、展開溶媒がクロロホルムの時、Rf 値は 0.90 を示した。

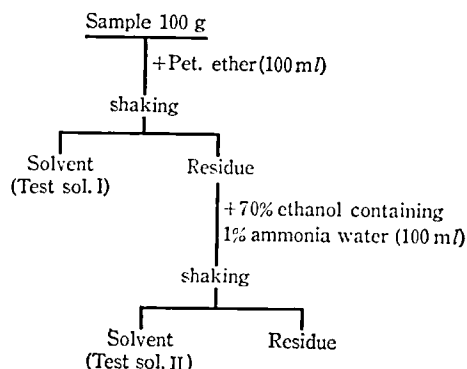


Fig. 1. Preparation of Test Solutions from the Sample

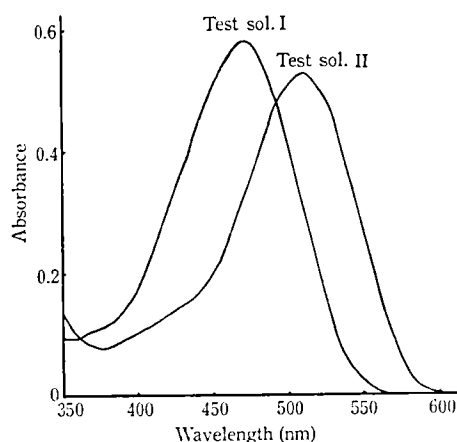


Fig. 2. Visible Absorption Spectra of Test Solutions I and II

2-4) 定性反応として²⁾³⁾, カールプライス反応では濃青色を呈し、濃硫酸反応では濃青色を呈し、5% 硝酸ナトリウムと 1N 硫酸を用いる脱色反応では脱色されなかった。

考 察

検液 I の色素は定性反応によりカロチノイド系の天然色素と考えられたので、種々の反応を行いカロチノイド系色素標品との比較検討を行った。その結果を Table 1 にまとめた。

種々の定性反応において、すべての点で検体色素と一致を示すのはカプサンチンであった。カプサンチンはパブリカ (*Capsicum annum*) の成熟果皮の乾燥粉末あるいは、その抽出物の主たる色素成分である。

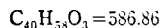
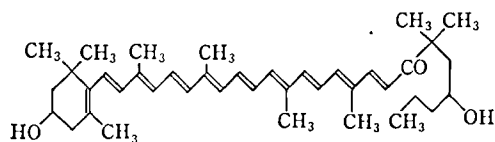
Table 1. Characteristics of the test sol. I and carotenoids

Dye	Absorption maximum (nm)	Rf value by TLC*	Extractability by ether	Reaction of colorization or decolorization		
				Carr-Price	Sulfuric acid	5%NaNO ₃ +N-H ₂ SO ₄
Test sol. I	{ 470 (n-hexane, cyclohexane) 480 (chloroform, pyridine)	0.90	○	○	○	×
β-Carotene	478, 450 (n-hexane)	1.00	○	○	○	×
Lycopene	517, 480, 453 (chloroform)	1.00	○	○	○	×
Capsanthin	470 (n-hexane)	0.90	○	○	○	×
Astaxanthin	513, 493, 475 (pyridine)	0.85	○	○	○	○
Canthaxanthin	466 (pet. ether)	0.85	△	○	○	○
β-Apo-8'-carotenoic acid ethyl ester	475, 449 (cyclohexane)	0.70	○	○	○	○
β-Apo-8'-carotenal	488, 461 (cyclohexane)	0.50	△	○	○	○
Bixin	500, 470, 440 (chloroform)	0	×	△	○	×
Norbixin	510, 475, 440 (chloroform)	0	×	△	○	×
Crocetin	463, 435 (chloroform)	0	×	△	○	×

* Adsorbent : Silicagel Developer : Chloroform ○ : strongly reacted △ : slightly reacted × : not reacted

Capsanthin

文 献



所在 トウガラシ, パプリカ

- 1) 厚生省監修: “食品衛生検査指針 I”, P.410 (1973) 日本食品衛生協会
- 2) 日本ビタミン学会編集発行: “ビタミン学の進歩 (第4集)”, P.80 (1962)
- 3) 神蔵美枝子, 加藤三郎, 遠藤英美他: “天然食品添加物”, P.14 (1976) 日本衛生技術研究会

市販食酢および食酢関連製品のジアセチルならびに エタノール含量について

慶田雅洋・外海泰秀・渡辺孝子
上田素子*・長谷明子*

On the Diacetyl and Ethanol Contents of Commercial Vinegars and Composite Products Containing Vinegar

Masahiro IWAIDA, Yasuhide TONOGAI, Takako WATANABE,
Motoko UEDA and Akiko HASE

Diacetyl and ethanol contents of commercial vinegars and composite products containing vinegar were discussed. Diacetyl content was determined by the diaminobenzidine method. Diacetyl contents of 11 fermented vinegars were 0.14~6.60 ppm. On the whole, diacetyl content was low in the vinegars manufactured from saké-cake and alcohol. Around 1 ppm of diacetyl was obtained with the vinegars manufactured from alcohol and crushed rice. As high as 4~6 ppm of diacetyl was contained in the long-fermented vinegars made from boiled rice. No characteristic tendency was observed on the diacetyl content of composite products, the contents being scattered.

As far as ethanol contents were concerned, the determined values obtained by oxidation method were well coincident with those obtained by gas-liquid chromatography. Ethanol content was known to be below 1 v/v% except one sample of long-fermented vinegar, indicating that the ethanol present in vinegars were non oxidative-fermented residue. Contrary to this, considerably higher values were obtained by oxidation method from time to time with composite products than the corresponding values obtained by gas-liquid chromatography which might be attributed to the difference in raw materials.

(Received May 31, 1979)

ま え が き

ジアセチル (CH_3CO)₂ は bp 88~89° の水溶性の香気物質であって、西インド産サングラウド油やイリス油などの精油の成分として含まれている。しかしながら、本品は発酵食品における酵母や乳酸菌による炭水化物などの分解の際にも生成し、乳糖、クエン酸

またはビルビン酸を始原物質とするジアルチルの生成経路も解明されている¹⁾。本品のケト基の一つが -OH に還元されたものはアセトインと呼ばれ、bp も 148° と高く、ジアセチルにくらべて香気は弱い。

食酢はエタノール溶液に酢酸菌を作用させてエタノールを酢酸としたものであって、直接の原料はアルコールであるが、デンプンまたは糖をそれぞれ糖化・アルコール発酵またはアルコール発酵によってアルコール溶液としたものも使用できるので原材料の範囲は広

* Kobe Women's College of Pharmacy

Table 1. Commercial Vinegars and Related Products Subjected to Analysis

No	Kind	Origin*	Date of manufacture	Specific gravity
1	Fermented vinegar	alcohol, saké-cake	1976. 11. 10	1.014
2	"	alcohol, saké-cake	1975. 12. 15	1.014
3	"	alcohol, saké-cake	1977. 6. 15	1.010
4	"	alcohol, saké-cake	1975. 11. 12	1.012
5	"	alcohol, rice	1976. 5. 21	1.035
6	"	alcohol, rice	1975. 5. 1	1.034
7	"	rice	1976. 8. 21	1.016
8	"	alcohol, rice, saké-cake	1977. 1. 4	1.011
9	"	ripened cereals	1977. 1. 11	1.005
10	"	alcohol, apple juice	1977. 4. 8	1.016
11	"	alcohol, apple juice, malt	1976. 8. 26	1.007
12	Composite product containing vinegar	citrus juice, fermented vinegar	1977. 1. 19	1.029
13	"	fermented vinegar, flaked dried bonito, sugar, soy sauce	1977. 5. 9	1.081
14	"	soy sauce, citrus juice, fermented vinegar	1977. 6. 16	1.130
15	"	soy sauce, fermented vinegar, broth, citrus juice	1976. 7. 15	1.120
16	"	soy sauce, fermented vinegar, sugar, chemical flavourings, citron juice, citron flavour	1976. 10. 14	1.128
17	"	natural fruit juice, soy sauce, flavourings	1977. 3. 1	1.105

* Stated on the label

く、したがって原料によって製品の性質に著しい差を生ずる。単にアルコールを原料としたものと異なり、酒粕や米なども原料としたものは醸造中に炭水化物と糖が分解してジアセチルが形成される。したがってジアセチル含量を以て食酢の品質の指標および原材料の鑑別の目安とすることの可能性について検討した。

一方において、食酢の直接の発酵原料はアルコールであり、食酢中には酸化発酵されなかった残留エタノールの存在することも考えられる。また、食酢には5種のパラオキシ安息香酸エステル類を総量がパラオキシ安息香酸として0.1 g/l以下の範囲で使用することが許可されているが、保存料を作用したむね表示せねばならぬのでこの使用を敬遠し、保存効果を兼ねてアルコール含量の高い製品を調製する可能性が考えられる。また、糖分が多く酸度が比較的低い腐敗しやすいかつおのたたき用酢、湯どうふ用みかん酢、ゆず酢な

どの食酢関連複合製品においては、防腐剤の使用が認められていないためにアルコールの存在は製品の保存性に対して重大な効果を示す。

ここでは、大阪府下で販売されている製品について実情を調べた結果を示す。

実験方法

1. 試料

大阪府下のスーパーマーケットで購入したもの17検体を使用した (Table 1 参照)。うち 11 検体は食酢 (醸造酢)、6 検体は食酢関連製品であった。

2. ジアセチルの定量

Brandl²⁾の水蒸気蒸留装置による留出液についてジアミノベンジジン比色法により測定した。測定操作は度田ら³⁾の方法によった。ただし試料の採取量は50 gとした。ジアセチルのジアミノベンジジンによる呈色

Table 2. Diacetyl and Ethanol Contents of Commercial Vinegar and Related Products

No	Kind	Producer	Diacetyl ($\mu\text{g/g}$)	Ethanol (v/v%)	
				Oxidation method	GLC method
1	Fermented vinegar	H	0.258	0.22	0.23
2	"	A	0.618	0.04	0.04
3	"	B	0.142	0.25	0.19
4	"	I	5.277	0.35	0.29
5	"	A	0.679	0.08	0.07
6	"	D	1.191	0.14	0.14
7	"	F	4.612	2.28	2.16
8	"	G	5.605	0.30	0.29
9	"	J(USA)	0.195	0.32	0.28
10	"	I	3.003	0.21	0.21
11	"	I	6.601	0.17	0.12
12	Composite products containing vinegar	H	0.238	0.88	0.75
13	"	H	0.315	0.96	0.68
14	"	H	5.665	0.53	0.58
15	"	A	0.365	0.44	0.33
16	"	E	1.256	6.08	6.06
17	"	C	0.808	3.83	3.07

は下記の反応による。

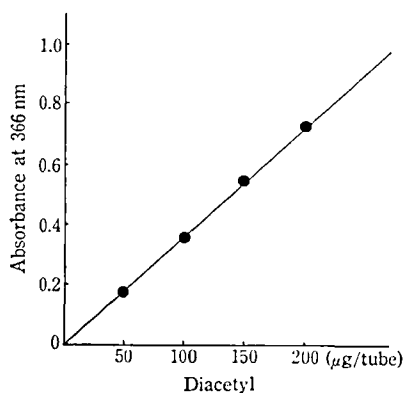
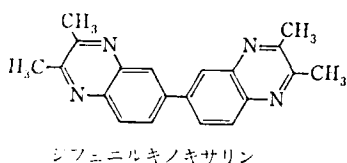
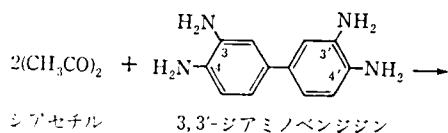


Fig. 1. Calibration curve of diacetyl

3. エタノールの定量

1) 酸化法：国税庁所定分析法⁴⁾によった。

2) ガスクロマトグラフィー：酸化法における水蒸気蒸留留液の一部をとり、ガスクロマトグラフ (GC) に注入した。GC は柳本製作所製 Yanaco G-80, 水素炎イオン化検出器付きを使用した。カラム管はガラス製 1.5 m を用い、20% PEG 400/クロモソルブ W 60~80 を充てんした。注入口温度 162°, カラム温度 86°, キャリヤガス (窒素) 25 ml/min。

実験結果並びに考察

1. ジアセチル

ジアミノベンジジン比色法によるジアセチル溶液の検量線は Fig. 1 に示す通りである。

ジアセチル量 50~200 μg の範囲で良好な直線性を示すことが知られた。食酢 50 ml に対して 50 μg (約 1 ppm) または 150 μg (約 3 ppm) のジアセチルを添加したときの回収率はそれぞれ 83.6 または 86.8%

であった。

市販製品についてのジアセチルの測定成績をまとめると Table 2 の通りである。市販醸造酢 11 検体のジアセチル含量は 0.14~6.60 ppm の範囲にあることが知られた。No. 4 を除いてはジアセチル含量はアルコール・酒粕を原料とした酢で最も低く、アルコールと碎米を原料とした米酢 (No. 5, No. 6) ではやや高く 1 ppm 前後の値を得た。No. 7 および No. 8 は鹿児島産で、煮米その他を原料とした“かめ酢”であるが、これらにおいてはジアセチル含量はそれぞれ 4.6 および 5.6 ppm と著しく高いレベルにあることが知られた。これは、すでに金森ら⁵⁾が、かめ酢では還元糖がほとんど残存しておらず、約 180 日間にわたり長期間発酵したために糖はほとんど酸化分解してしまったものであると指摘している事実と密接な関係を有すると考えられ、糖分解により生成したジアセチルが蓄積したものと推定される。No. 4 のアルコール・酒粕酢にジアセチルが異常に多い理由としては、I 社が酒粕の使用量が多いこと、製品が昭和 50 年製で古いことなども理由として考えられる。同じく I 社のりんご果汁入りの食酢もジアセチル含量は高く、とくに No. 11 は 6.6 ppm で醸造酢 11 検体中最高の値を示した。アメリカ産の 1 検体 (ライ麦、コーン、大麦を原料としたもの) は外観は無色透明であって、ジアセチル含量も 0.2 ppm 未満の低いレベルにあった。

複合製品におけるジアセチル含量はまちまちであって、高いものでは 5.6 ppm を超え、No. 16 では 1.26 ppm、その他は 1 ppm 未満であった。

2. エタノール

GC 法によるエタノールの検量線は Fig. 2 に示す通りである。1~4 mg/ml の範囲で良好な直線性を示した。酸化法と GC 法により測定した結果も Table 2 にまとめて示した。

醸造酢では一般に酸化法による測定値がごく僅かに高い傾向を見せたが、両者の測定値はよく一致し、その差は最も大きいもの (No. 7) でも 0.12% に過ぎなかった。No. 7 の鹿児島産のかめ酢にのみ 1 v/v% 以上のアルコールが検出されたが、一般にこれら食酢のアルコールは未発酵残留物であると推定される。

これに対して、複合製品のエタノール含量の測定結果では、No. 13 のかつお酢および No. 17 のぼん酢において、それぞれ酸化法の方が GC 法よりも 0.28% および 0.75% 高い測定値を得た。この原因としては、食酢以外の原材料に含まれる易酸性性の還元物質が関与しているのではないかと考えられる。

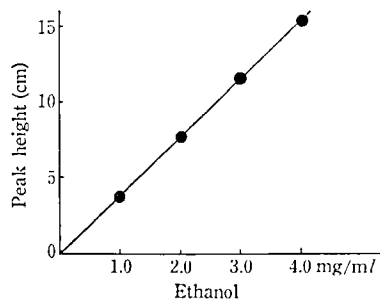


Fig. 2. Calibration curve of ethanol (Gas chromatography)

また、GC 法の測定結果から比較すると食酢複合製品のアルコール含量はまちまちであって、6 検体中 4 件は 1 v/v% 以下であったが No. 16 と No. 17 ではそれぞれ約 6% と 3% のエタノールが検出された。これらにおけるアルコールの存在は糖分も多いことから防腐効果をねらったものと思われる。

要 約

食酢および食酢関連製品のジアセチルおよびエタノール含量について検討した。ジアセチルの測定はジアミノベンジジン法によって行った。市販醸造酢 11 検体のジアセチル含量は 0.14~6.60 ppm であった。一般にアルコール・酒粕を原料とした食酢ではジアセチル含量はきわめて低い。アルコールと碎米を原料とした米酢ではやや高く 1 ppm 前後の値を示した。煮米などを原料とした長期発酵によるかめ酢では 4~6 ppm の著しく高いレベルにあることが知られた。複合製品のジアセチル含量はまちまちであって、5.6 ppm を超える高い製品も認められた。

エタノールについては、食酢では酸化法と GC 法の測定値はよく一致した。含量はかめ酢 1 検体を除いては 1 v/v% 以下であって、未発酵物の残留によるものと推定される。これに対して複合製品では酸化法による測定値が GC 法にくらべてかなり高いものもあり、これは原材料の差によるものと思われる。3.07 および 6.06 v/v% (GC 法) の比較的高濃度のエタノールを含むものもあり、防腐効果を目的としたものと思われる。

文 献

- 1) 乳業科学新説, P. 284 (1966), 朝倉書店
- 2) Brandl, E.: Neth. Milk Dairy J., 13, 206 (1959)
- 3) 慶田雅洋, 渋屋千征, 津郷友吉: 日食工誌, 10,

408 (1963)

- 4) 昭和 36 年 1 月 11 日 国税庁訓令第 1 号
5) 金森孝子, 小松山貴子, 外海泰秀, 中村恵三,

金田吉男, 慶田雅洋 : 栄養と食糧, 31, 513
(1978)

Results of the Chemical Inspections of Imported Foods, Utensils, Container-packages and Toys in Osaka Branch from April in 1977 till March in 1978

Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI, Masatake TOYODA,
Shunjiro OGAWA, Michiyo YODOSHI
and Masahiro IWAIDA

During the fiscal year 1977, total 542 samples of foods were chemically tested on 827 items in Osaka Branch. Sixty-nine samples were rejected, the disqualification ratio being 12.7%. The reason of disqualifications was described in detail. Presence of excess sulphites and borates in frozen prawns and shrimps, excess diphenyl in grapefruits, elution of fluorescent dyes from wrapping papers, presence of large quantity of saccharin and dulcin in sweet plum, and so on were observed.

(Received May 31, 1979)

Total 542 samples which had been sent from western half of Japan by the government food inspectors, were tested on 827 items in Osaka Branch, showing a remarkable increase compared with the previous period. 48.2% of the samples were sent from Kobe port, 31.0% from Moji port, 13.7% from Osaka port and the rest samples were sent from Osaka air port, Hakata port and Naha port (Okinawa). No samples were sent from Nagoya port, Yokkaichi port, Fukuoka air port and Kagoshima port. Classification of the samples and their inspection items are shown in Table 1. Sixty-nine samples were rejected, the disqualification ratio being 12.7%.

Eighteen samples of frozen prawns and shrimps were rejected because they contained excess of sulphite (not less than 0.1 g of SO_2 /kg of shelled sample) or borate (not less than 0.15 g as H_3BO_3 /kg sample with shells). Sulphites were determined by the modified Rankine method¹⁾ whilst borate by the hexanediol method²⁾. Nine samples of grapefruits were condemned because they contained excess (not less than 0.07 g/kg whole fruit) of diphenyl. Diphenyl content in citrus fruit is determined systematically together with *o*-phenylphenol and thiabendazole by use of either an FID

or FPD-gas chromatograph³⁾. From 32~44 ppm of lead was detected from painted dish to be used in Chinese restaurants. Elution of fluorescent dyes were confirmed from 2 samples of paper napkin and 3 samples of inner wrapping paper of canned Camembert cheese. The official method for elution test is defined in the Communication No. 244 issued by the head of the food hygienic section of the Ministry of Health and Welfare dated May 8th, 1971. 0.064~0.219 g/kg of benzoic acid was detected from the whey cheese imported from West Germany. Since it was already reported that 1.6~40.6 ppm of benzoic acid was produced from hippuric acid in milk by lactic acid bacteria in the early stage of ripening and a small part from phenylalanine the presence of less than 100 ppm in cheese is tolerated⁴⁾. Two lots of Parmesan cheese imported from U.S.A. were rejected because they contained 1.52~1.55 g of sorbic acid per kg. Later, some amendments were done in the Notification regarding the Standards and Specifications of Food, Food Additives etc. (Ministry of Health and Welfare Notification No. 370, December 28, 1959) on August 22 in 1978, and the use of sorbic acid and/or potassium sorbate on cheese has been allowed since then

Table 1. Results of the chemical inspection of imported foods utensils, container-packages and toys in Osaka Branch (covering from April, 1977 to March, 1978)

Classification	No. of sample	Inspection item	No. of items	Pass	Rejected	Not judged
1. Utensils, container-packages and toys						
paper napkin	2	elution of fluorescent substances	2	0	2	0
porcelain wares	6	tests according to the standards and specifications of utensils and container-packages	8	3	3	0
beach ball	5	(the same as the above)	30	5	0	0
plastic toys	28	tests according to the standards and specifications of toys	64	21	7	0
total	41		104	29	12	0
2. Essential oils (lemon oil, orange oil, bergamot oil etc.)	8	diphenyl(DP), o-phenylphenol (OPP) and thiabendazole(TB)	20	8	0	0
3. Wines	51	sulphite, sorbate and filth	99	46	5	0
4. Non-alcoholic beverages						
grape juice, Korean ginseng nectar, tomato juice	5	lead, arsenic and tin etc.	15	5	0	0
grapefruit drink	1	DP, OPP and TB	3	1	0	0
frozen lime juice	1	sulphite and benzoate	2	0	1	0
Korean ginseng drink	2	sorbate, benzoate and alcohol	6	2	0	0
total	9		26	8	1	0
5. Vegetable foods (excluding fruits and oils)						
Brine-cured gingers, eggplants and scallions	19	sulfamic acid	19	19	0	0
fruit jam	11	benzoate, sorbate and artificial colour	17	1	7	3
lima beans	1	HCN	1	1	0	0
nuts, peanut and peanut butter	8	aflatoxins	8	8	0	0
dried gourd shavings, dried taro	3	sulphite	3	2	1	0
flavoured onion, sweet relish and bean paste	4	sulphite, preservatives and artificial sweetners	11	2	2	0
total	46		59	33	10	3
6. Seasonings (sauces and saké lees)	8	preservatives	23	5	0	3
7. Sea foods and animal products						
dried fish and shellfish	69	sorbate and saccharin sodium	115	69	0	0
meat products	10	nitrite	10	10	0	0
salted cod roe	31	nitrite and artificial colour	34	0	0	31

Classification	No. of sample	Inspection item	No. of items	Pass	Rejected	Not judged
cheese	12	preservatives, nitrate, fluorescent substances in wrapping paper	30	3	9	0
frozen shrimps, frozen prawns and salted jelly fish	196	sulphite and borate	224	178	18	0
others	4	sulphite, benzoate and artificial colour	4	3	0	1
total	322		417	263	27	32
8. Fruits						
citrus fruits	29	DP, OPP and TB	33	20	9	0
dried fruit	3	sulphite and artificial sweetner	5	1	2	0
total	32		38	21	11	0
9. Confections	21	artificial colour, preservatives and artificial sweetners	29	18	1	2
10. Oils	4	antioxidant, artificial colour, preservatives and sulphite	12	2	2	0
Total sum	542		827	433	69	40

with the maximal residual limit of 2.0 g as sorbic acid per kg of cheese. Sulphite (0.084 g SO₂/kg) and benzoic acid (0.454 g/kg) was detected from Mexican frozen lime juice. The Notification No. 370 defines that no food additives except antioxidants may be added on frozen fruit juice. As much as 0.508~0.752 g of sorbic acid per kg was detected from six samples of jam imported from West Germany (apricot, strawberry, gooseberry and orange marmalade). The inspection of sorbate in imported foods is carried out by the gas chromatographic method contrived by us⁵⁾. The maximum residual limit of sorbate in jam is settled to be 0.5 g/kg as sorbic acid. Prohibited artificial colours of allura red AC and ponceau SX were detected from Jam manufactured in U.S.A.

As far as parahydroxybenzoates are concerned, only ethyl, propyl, isopropyl, butyl and isobutyl esters are authorized to use on restricted foods (soy sauce, fruit sauce, vinegar etc.). Methyl parahydroxybenzoate, prohibited to use, was detected from wheat germ oil by the before-men-

tioned procedure⁵⁾. 1.134 g of SO₂ per kg was detected from dried taro imported from South Korea. Two samples of sweet plum sent from Okinawa contained 12.20 and 22.00 g of sodium saccharin per kg and 0.385 and 2.71 g of dulcin per kg, respectively.

Artificial colour was eluted from plastic dolls imported from Taiwan. The colour was confirmed to have been eluted from plastic shoes that the dolls wore and was identified to be lake red C. The Notification No. 370 defines that no artificial colour except food colour should be eluted from toy after keeping the toy for 10 minutes in water of 40°.

References

- ✓1) S. Ogawa, H. Suzuki, M. Toyoda, Y. Ito, M. Iwaida *et al.*: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 293 (1979)
- ✓2) S. Ogawa, M. Toyoda, Y. Tonogai, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 610 (1979)
- 3) Y. Tonogai, H. Sano, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **16**, 397 (1975)

4) M. Iwaida : XX Intern. Dairy Congr. 1F,
1077 (1978) Paris

5) M. Toyoda, T. Kanamori, Y. Ito, M. Iwaida :
J. Hyg. Chem., 23, 100 (1977)

Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods, Utensils, Container-packages and Toys in Osaka Branch from April in 1978 till March in 1979

Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI, Masatake TOYODA,
Shunjiro OGAWA, Michiyo YODOSHI
and Masahiro IWAIDA

Total 443 samples were tested on 845 items, the sample number showing a little decrease compared with the previous period. 38.4% of the samples were sent from Moji port, 33% from Kobe port while 11.7% from Osaka port. Ninety-six samples were rejected, the disqualification ratio being 21.7%. Among the 11 food groups classified, sea foods occupied 1/3 (150 samples), among which salted cod roes, frozen prawns and shrimps, and salted jelly fish were the main sea foods inspected. The reason of the product disqualified and the inspection procedure adopted are described in detail.

(Received May 31, 1979)

Total 443 samples which had been sent from western half of Japan by the government food inspectors were tested on 845 items in Osaka Branch. Though the number of samples showed a little decrease compared with the previous period (542 samples), the number of items increased by little than the previous period (827 items). 38.4% of the samples were sent from Moji port, 33.0% from Kobe port, 11.7% from Osaka port, 9.5% from Osaka airport, while the rest 7.4% were the goods from Hakata port, Kagoshima port and Naha port (Okinawa). No samples were sent from Nagoya port, Yokkaichi port and Fukuoka air port. Classification of the samples and their inspection items are as shown in Table 1. Ninety-six samples were rejected, the disqualification ratio being 21.7%.

Among the 11 food groups classified, sea foods occupied 1/3 (150 samples) of the total samples, items amounting as many as 165. Salted cod roes from South Korea (nitrite and synthetic colouring matter; 45 samples, 57 items), frozen prawns, frozen shrimps and salted jelly fish from Southeast Asia (borate and sulphite; 59 samples, 63 items) were the main sea foods inspected.

Dried fish as the raw material for the preparation of "tsukudani" (preserved food boiled down in soy sauce) were usually imported directly packed in cardboard, bottom and sides being covered with thin wrapping paper. By the request of the government food sanitation inspectors residing at Moji port, we had many chances of inspecting such paper products. Elution test was carried out according to the previous report¹⁾. Either crocein orange or congo red was eluted from 12 of the 15 samples inspected. Later, the problem was dissolved by giving recommendation to the exporters to put in small dried fish into the cardboard after having wrapped them in polyethylene film.

Plastic toys imported from Hong Kong and Taiwan were subjected to the tests of the ingredient standards of the raw materials as well as the test for the standard of manufacture. Six dolls made from polyvinyl chloride were rejected because they contained above the permitted level of cadmium (0.5 ppm). Indigo was eluted from hair of Indian doll, while the elution of blond hair colours resulted in the excess of potassium permanganate consumption (permitted level; 50

Table 1. Results of the chemical inspection of the imported foods utensils, container-packages and toys in Osaka Branch (covering from April, 1978 to March, 1979)

Classification	No. of sample	Inspection item	No. of items	Pass	Rejected	Not judged
1. Vegetable foods (excluding fruits and oils)						
brine cured ginger and eggplant	7	sulfamic acid, sulphite	10	7	0	0
peanut and peanut butter	12	aflatoxins	12	12	0	0
cocoa powder, cake mix powder and bamboo sprout	12	benzoate	12	5	0	7
wax-gourd jam and preserved apple	2	sulphite	2	1	1	0
wax-gourd sections	1	preservatives, artificial sweetners	12	1	0	0
total	34		48	26	1	7
2. Milk products						
natural grana cheese	1	synthetic food colour, sorbate, benzoate, nitrate	4	1	0	0
ice cream	8	food colour	8	8	0	0
Danish natural cheese	1	food colour	1	1	0	0
total	10		13	10	0	0
3. Sea foods						
salted cod roe	45	nitrite, synthetic food colour	56	0	0	45
frozen small fish	4	fluorescent dye	4	0	0	4
frozen shrimp, frozen prawn and salted jelly fish	59	borate, sulphite	63	51	8	0
file fish	1	sorbate	1	1	0	0
smoked salmon	2	benzoate	2	0	2	0
dried peeled shrimp	1	food colour	1	1	0	0
dried and seasoned cuttlefish	32	sorbate	32	29	3	0
minched fish	3	H ₂ O ₂	3	3	0	0
canned clam soup	3	EDTA	3	2	1	0
total	150		165	87	14	49
4. Fruits and fruit products						
preserved apple, dehydrated pineapple	4	sulphite	4	4	0	0
sweet cured prune	3	saccharin sodium, dulcin	4	1	0	2
orange, grapefruit	2	diphenyl, o-phenylphenol	4	2	0	0
dried papaya	2	preservatives, artificial sweetners	24	1	1	0
sugard kumquat	1	benzoate	1	0	1	0
preserved hami melon	1	benzoate	1	1	0	0

Classification	No. of sample	Inspection item	No. of items	Pass	Rejected	Not judged
jam, marmalade, jelly	13	saccharin, benzoate, sorbate, synthetic food color	25	8	1	4
total	26		63	17	3	6
5. Non alcoholic beverages and powdered soft drinks						
ginseng extract, ginseng tea (漢陽茶)	4	benzoate	4	0	2	2
nectar	8	ingredient standard of beverage	40	5	3	0
asparagus juice, fruit juice	3	tin, lead	6	1	2	0
apple drink, lemon lime soda	6	sorbate, benzoate	8	3	3	0
powdered soft drink	5	synthetic food color	5	2	3	0
total	26		63	11	13	2
6. Alcoholic beverages						
wine	35	sorbate, sulphite	41	17	18	0
whisky	9	chloride	9	0	0	9
total	44		50	17	18	9
7. Seasonings and flavourings						
salad dressing, mayonnaise	4	sorbate, EDTA	4	2	2	0
sandwich spread	2	benzoate	2	2	0	0
salt	5	nitrate	5	5	0	0
total	11		11	9	2	0
8. Confectioneries						
crackling candy, pop rocks	13	food color, adipate	16	9	0	4
chocolate	21	titan, benzoate	21	20	1	0
chewing gum	3	food color, BHT	3	3	0	0
marsh mallow	3	titan	3	3	0	0
candy and fruits confectionery	19	fluorescent substance, synthetic food color	23	8	10	1
cheese biscuit	5	sorbate	5	2	3	0
total	64		71	45	14	5
9. Fats and oils						
avocado oil	1	parahydroxybenzoate	3	0	1	0
prep butter	1	synthetic food color	1	1	0	0
corn oil, safflower oil	3	BHA, BHT	6	3	0	0
soybean oil margarine	1	dehydroacetate	1	1	0	0
total	6		11	5	1	0
10. Food additives						
Torutein	2	arsenic, lead	4	2	0	0
calcium monophosphate	1	purity test	2	0	1	0

Classification	No. of sample	Inspection item	No. of items	Pass	Rejected	Not judged
grape flavour	1	fluorescent dye	1	1	0	0
total	4		7	3	1	0
11. Apparatus, container-packages and toys						
wrapping paper, cardboard,	28	elution test	43	3	15	10
plastic toy (doll. etc.)	35	standard of toys and their raw materials, standard for manufacture	287	18	14	3
glass ware	3	arsenic, lead, alkali	9	3	0	0
Chinese porcelain	2	arsenic, lead	4	2	0	0
total	68		343	26	29	13
Total sum	443		845	256	96	91

ppm) and non-volatile residue (permitted level; 50 ppm).

Calcium monophosphate imported from U.S.A. did not pass the Japanese ingredient standard²⁾ in the item of "clarity of the solution". Further investigation revealed that calcium carbonate had been added to it as an anticaking agent.

A fluorescent substance was found in the imported candy from Brazil. In the elution test of the fluorescent substance³⁾, it reacted in the same manner as fluorescent dyes. Further pursuit revealed that the fluorescence was derived from the grape flavour preparation during manufacture and fluorescence spectra of the candy and the grape flavour were quite coincident with that of methyl anthranilate. Methyl anthranilate contents in the candy and grape flavour were determined gas chromatographically to be 40.0 and 33,000 ppm, respectively, and it was calculated that the addition level of grape flavour to the candy was about 0.12%⁴⁾. Though EDTA (ethylenediamine tetraacetate) is widely used in U.S.A. and some European countries for such purposes as antioxidation, flavour conservation, colour maintenance etc., it is not listed in the food additive table of Japan. Accordingly, we have to inspect lots of mayonnaise, sandwich spread and salad dressing every year for the presence of EDTA. Isotachophoretic procedure⁵⁾ cultivated by us is adopted. Consider-

able amount of dulcin (490~1,460 ppm) was detected from sweet cured prune sent from Okinawa.

Although titanium dioxide is allowed to use as a whitening agent for pharmaceutical preparations, its use as a food colour is not allowed in Japan. The partially modified method of A.O.A.C. contrived by us⁶⁾ was applied on the determination of titanium content in chocolate. About 3,200 ppm of TiO₂ was detected from Belgian white chocolate.

The presence of adipic acid was inspected on crackling candy and pop rocks by gas-liquid chromatography⁷⁾. A reddish dye which was assumed to be decomposition product of cochineal lake was also detected from cherry-type crackling candy.

References

- 1) S. Ogawa, Y. Tonogai, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Food Protect.*, **42**, 297 (1979).
- 2) The Japanese Standards of Food Additives, 4th ed., p. 118 (1979), The Federation of Food Additives Association in Japan
- 3) Head of the Food Hygienic Section of the Ministry of Health and Welfare: Communication No. 244, May 8, 1971
- 4) M. Toyoda, Y. Ito, M. Iwaida: *J. Food Protect.*, **42**, 658, (1979)
- 5) Y. Ito, H. Suzuki, M. Toyoda, M. Iwaida: 37th Annual Meeting of the Food Hygienic Society of Japan, May 16th, 1979, Tokyo

6) S. Ogawa, M. Toyoda, Y. Ito, M. Iwaida :
Food Sanitation Res. 28, 1081 (1978)

7) Y. Ito, S. Ogawa, M. Iwaida : *J. Food Pro-
tect.*, 62, 937 (1979)

Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) from April in 1978 till March in 1979 (on the Product Examination of Coal-Tar Dyes XVIII)

Keizo NAKAMURA, Hideyo SUZUKI, Michiyo YODOSHI
and Masahiro IWAIDA

The number of dyes inspected in this period was 501 in total, and the quantity passed amounted to 143,968 kg. Two lots of tartrazine were disqualified because of the lack of dye content and excess of soluble chloride plus soluble sulfate content and the passing ratio reached to 99.6%.

A new method for the manufacture of tartrazine was applied for patent. Administrative inspection on product examination was carried out in February 1979.

(Received May 31, 1979)

The number of dyes inspected in the fiscal year 1978/1979 was 501 in all (including dye aluminum lakes) showing an increase of 124 (32.9%) compared with the previous period¹⁾ and an increase of 74 (17.3%) compared with two years ago²⁾. Numbers of dye tested in each month are summarized in Table 1. The following dyes were not sent to our laboratory during the period for product examination; Food Red No. 2 Aluminum Lake, Food Red No. 104 (Phloxine), Food Red No. 105 (Rose Bengale), Food Green No. 3 (Fast Green FCF) and Food Green No. 3 Aluminum Lake. The production of Food Red No. 2 was restored to 3,300 kg compared with two years ago (300 kg); on the contrary, the production of Food Red No. 3 remained on the same level as the previous period. The food coal-tar dye produced in the largest quantity in this period was Food Yellow No. 4 the same as in other years, occupying 42.5% of all the food coal-tar dyes produced in this period. Food Yellow No. 5 and Food Red No. 102 were the dyes produced in the second and the third largest quantity in this period, showing increase of 22.7 and 30.5% compared with previous period, respectively.

The production of total dye aluminum lakes

were 14,100 kg, being 9.8% of the food coal-tar dyes produced. As for the inspection method, confer the previous report¹⁾. Two lots of dyes (380 kg) applied as Food Yellow No. 4 were disqualified because of the lack in dye content (28.90 and 48.62%) and excess of soluble chloride plus soluble sulfate content (7.80 and 49.00%). The passing ratio was 99.6% (499/501).

A new method for the manufacture of tartrazine was applied for a patent from Nippon Gosei Chemical Industry Ltd. (inventor; Kazuhisa Nakajima) and was announced as 1976-7574³⁾. The extent of the request of patent is restricted to the manufacture of tartrazine from acetosuccinate and diazonium chloride of sulfanilic acid. Its characteristic consists in either addition of alkali after the mixing of acetosuccinate and diazonium chloride of sulfanilic acid or addition of alkali to diazonium chloride of sulfanilic acid being followed by the addition of acetosuccinate. They say that the yield of tartrazine is much increased by the applied procedure. Administrative inspection on product examination was carried out by the Kinki Administrative Inspection Bureau on February 23 and 27, 1979.

Table 1. Numbers of coal-tar dyes tested in each month

Classification	1978												1979			Total	Quantity passed (kg)
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3					
Food Red																	
No. 2 (Amaranth)	1	1	0	0	0	2	1	0	2	2	2	0				11	3,300
No. 3 (Erythrosine)	4	0	2	1	3	2	0	0	0	1	4	3				20	5,630
No. 3 Aluminum Lake	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0				5	1,500
No. 102 (New Coccine)	12	0	3	14	6	0	12	12	8	4	4	11				86	25,230
No. 106 (Acid Red)	3	0	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1				15	2,332
Food Yellow																	
No. 4 (Tartrazine)	22	3	11	22	18	7	26	15	27	19	14	25				209	61,230
No. 4 Aluminum Lake	3	0	3	0	6	3	0	3	2	4	0	2				26	7,800
No. 5 (Sunset Yellow FCF)	11	4	3	13	9	0	10	6	8	7	5	13				89	26,435
No. 5 Aluminum Lake	0	0	3	0	2	0	0	0	0	1	0	1				7	2,100
Food Blue																	
No. 1 (Brilliant Blue FCF)	3	1	2	1	5	0	1	2	1	1	1	1				19	4,311
No. 1 Aluminum Lake	0	0	0	2	2	0	0	2	1	0	1	0				8	2,300
No. 2 (Indigo Carmine)	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1				5	1,500
No. 2 Aluminum Lake	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0				1	300
Total	61	11	28	55	53	16	51	42	53	40	33	58				501	143,968

References

- 1) M. Iwaida, K. Nakamura, H. Suzuki, Y. Minematsu, T. Watanabe : *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 96, 133 (1978)
- 2) M. Iwaida, K. Nakamura, Y. Tonogai, Y. Matsumoto, T. Kanamori : *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.*, 95, 126 (1977)
- 3) Official Gazette of Japan Patent Agency, March 9, (1976)

北海道におけるシャクヤク栽培（第3報*）

実生苗，株分苗の大きさと生育，収量および品質について

堀越 司・本間尚治郎・石崎昌吾・西沢 信**・山岸 喬**

Studies on the cultivation of *Paeonia albiflora* Pall. var. *trichocarpa*
Bunge in Hokkaido (III)On the quality for Size of Growth and Yield of Seedling or Suckering of
Paeonia albiflora Pall. var. *trichocarpa* BungeTsukasa HORIKOSHI, Naojiro HOMMA, Shogo ISHIZAKI,
Makoto NISHIZAWA and Takashi YAMAGISHI

The growth size and the chemical quantity had been compared the seedling with the suckering of *Paeonia albiflora* Pall. var. *trichocarpa* Bunge in Hokkaido.

The roots for the seedling and the suckering were selected three grade, large (L), middle (M) and small (S), and cultivated between five years.

The result of plant height was no difference between seedling and suckering. But the yield of suckering roots was larger than seedling roots and the large roots plot of suckering was most heavy and the small one was light. The chemical quantity, extract of ethanol, paeoniflorin and albiiflorin, of the seedling was better than suckering.

(Received May 31, 1979)

ま え が き

シャクヤクは中国の東北および北部，シベリアなどに分布する多年草で観賞用として広く栽培されている¹⁾。シャクヤクが我国で栽培された記録は古く平安時代（仁寿2年852年）に出羽国の小野村（小町の宮）の田畑の畔に99株のシャクヤクがあつて，これは小町の植えたものとされている²⁾。

シャクヤクが北海道関係の書物に登場するのは天明元年（1781年）松前広長氏によって書かれた松前誌が最初であつて³⁾，北海道でシャクヤクを薬用の目的で試作したのは堀川卯市氏であり，時は大正10年（1921年）であつた⁴⁾。

我が国におけるシャクヤクの主産地は北海道，新潟，奈良，群馬，長野，富山等であり⁵⁾，一部中国や韓国から輸入されている。北海道における1977年のシャクヤクの生産状況は，栽培面積15ヘクタール，収獲面積4ヘクタール，75トンであつた⁶⁾。

先に筆者らは北海道におけるシャクヤク栽培の歴

史，現況，栽培試験，或は実生苗の育成等の概要について報告した^{7,8)}。

シャクヤクの栽培法には実生苗，株分苗を用いる2法があるが，両者の相異については特に記述されたものではなく，慣習として行われて来たのが実状である。そこで，筆者らはシャクヤクの実生苗，株分苗を用いて栽培した場合の相異を確認する手段として，1972年9月12日植付け生育の年次変化を調査するとともに本畑5年次の1977年8月30日に掘り上げ生育，収量と品質について調査検討したのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

供試苗は当場産のもので，1972年9月8日に実生苗（発芽後2年生のもの）と株分苗（本畑7年生のもの）を掘り上げて，それぞれ大きさ別に大（L），中（M）および小（S）に別けて植付けた。

植付は1972年9月12日に沖積性砂質壤土の畑13aに堆肥3,000kgを全面に散布し，耕起，整地後畦幅60cmの作条をつくり株間60cmに苗を配列しその上から軽く覆土する。肥料は植付け後，13a当り1年次 過石47kg，硫加23kg，鶏糞240kg，（'73年5月23日，7月21日），2年次 過石39kg，硫加18

* 日本生薬学会第25回年会（福岡）（1978年10月6日にて一部発表）

** 北海道立衛生研究所

Table 1. Standard of Seedling

Plot	Size	Plant height (cm)	Stem length (cm)	Diam of main stem (mm)	Number of stem	Root length (cm)	Diam of main root (mm)	Number of bud	New root	Fresh weight (g)
Seedling	L	17.7	1.3	2.2	1.4	18.6	10.5	1.0	+	7.3
Seedling	M	14.6	1.0	2.1	1.1	18.0	9.0	1.0	+	4.6
Seedling	S	11.8	1.7	1.5	1.1	14.0	7.0	1.0	+	2.3
Hill spread (cm)										
Suckering	L	—	—	—	—	8.8×8.4	—	6.7	—	120.0
Suckering	M	—	—	—	—	6.6×6.9	—	4.0	—	61.0
Suckering	S	—	—	—	—	6.5×5.6	—	4.0	—	37.3

Table 2. Plant height at flowering time

Date	Seedling			Suckering		
	L (cm)	M (cm)	S (cm)	L (cm)	M (cm)	S (cm)
'73.6	29.7	—	19.5	—	26.2	19.9
'74.6	36.7	41.9	34.0	46.6	43.9	37.8
'75.6	50.8	53.4	50.3	55.1	54.2	51.5
'76.6	63.8	72.7	68.6	68.3	64.8	65.1
'77.6	65.7	70.5	68.4	77.7	75.1	72.1

Table 3. Hill spread at flowering time

Date	Seedling			Suckering		
	L (cm)	M (cm)	S (cm)	L (cm)	M (cm)	S (cm)
'73.6	24.6×19.7	—	21.4×16.9	—	19.1×15.4	16.6×13.0
'74.6	31.4×30.5	35.7×32.9	35.5×33.8	38.9×35.5	39.5×37.5	33.7×32.7
'75.6	38.2×38.3	43.0×40.0	42.3×48.5	45.0×43.3	43.5×41.2	40.4×27.8
'76.6	57.0×55.1	63.0×62.5	64.1×64.3	60.5×61.9	61.5×60.6	67.5×60.1
'77.6	57.0×53.9	61.0×60.0	62.9×61.4	67.1×67.5	64.8×62.5	60.4×59.3

kg, 鶏糞 196 kg, ('74 年 5 月 23 日, 7 月 15 日), 3 年次 過石 41.5 kg, 硫加 27.5 kg, 鶏糞 235.6 kg, ('75 年 5 月 9 日, 7 月 14 日), 4 年次 過石 82 kg, 硫加 54.8 kg, 鶏糞 410 kg, ('76 年 5 月 8 日, 7 月 9 日), 5 年次 過石 60 kg, 硫加 40 kg, 鶏糞, 300 kg, ('77 年 5 月 10 日) をそれぞれ施用した。

中耕除草は主として 5 月から 8 月に 1, 2 年次 4 回 3 年次 7 回, 4 年次 8 回, 5 年次 6 回実施した。なお Table 1 の数値は苗 10 本の平均値, Table 2~8 ま

での数値は 20 株の平均値である。

2. 結果および考察

1) 地上部の生育

(1) 開花期における年次別の生育 (Table 2, 3, 4): 草丈, 株張りでは実生苗と株分苗で差異が認められ概して実生苗は 4 年次に最大となる傾向を示し, 株分苗は 5 年間で年ごとに増大した。次に茎数でも同様な傾向が見られた。苗の大きさは別では株分苗は $L > M > S$ の順で規則性は認められるが実生苗の場合は一定

Table 4. Number of stem at flowering time

Date	Seedling			Suckering		
	L (cm)	M (cm)	S (cm)	L (cm)	M (cm)	S (cm)
'73.6	3.2	—	1.6	—	2.5	1.8
'74.6	7.8	6.9	5.8	7.3	7.2	4.8
'75.6	9.9	12.3	12.4	11.8	11.4	8.4
'76.6	14.5	16.1	16.6	15.1	13.6	12.7
'77.6	16.7	18.1	20.2	19.1	17.7	15.5

Table 5. Growth of top

Plot	Size	Plant height (cm)	Hill spread (cm)	Number of stem	Number of main stem (mm)	Top weight (g)
Seedling	L	69.6	43.3×35.7	14.2	6.4	211.2
Seedling	M	76.2	54.2×43.0	18.5	6.6	406.0
Seedling	S	70.8	50.6×42.3	19.3	6.3	346.1
Suckering	L	80.4	53.2×45.0	18.5	7.2	412.9
Suckering	M	76.0	54.1×44.6	17.3	7.2	371.6
Suckering	S	73.8	50.8×41.1	15.3	6.8	326.5

Table 6. Growth of root

Plot	Size	Root length (cm)	Root spread (cm)	Number of primary branch	Diam. of main root (mm)	Fresh weight of root (g)	Root system weight (g)	Number of suckering
Seedling	L	42.0	57.7×38.8	11.1	20.9	706.5	569.9	2.4
Seedling	M	43.8	61.1×45.3	14.2	23.3	1,103.2	820.1	3.2
Seedling	S	46.2	63.5×39.2	13.6	24.0	1,086.3	827.3	3.1
Suckering	L	43.4	68.5×49.9	12.5	23.5	1,182.0	1,182.0	4.1
Suckering	M	45.5	67.1×47.8	11.0	27.6	1,083.4	1,083.4	4.1
Suckering	S	40.9	59.8×44.7	11.9	23.1	849.2	849.4	3.2

しない。

(2) 収穫期における生育 (Table 5) : 実生苗と株分苗では若干差異が認められ株分苗は実生苗に比し優る傾向を示し、苗の大きさ別では前記と同様の傾向が認められた。

2) 地下部の生育

特に差異は認められない (Table 6)。

3) 収量

1株当りの生根重では、株分苗が実生苗に比して、大きく T-R 率でも同様の傾向を示した。苗の大きさ別では生根重で株分苗の方が L>M>S の順で規則性が認められ実生苗の場合は反対に M>S>L の順であった。地下部重の T-R 率の実生苗も L>M>S の順

で同様の傾向を示した他は特に差異は認められない (Table 7)。

4) 品質

灰分、酸不溶性灰分ともに実生苗の方が株分苗よりも若干高く、希エタノールエキス、ペオニフロリン、アルビフロリンも実生苗が株分苗よりもはるかに高含有量を示した。苗の大きさ別では特に差異は認められない (Table 8)。

上記のことから、実生苗と株分苗の形質の差異はもとより苗の生育年次の差異も影響するものと思われる。すなわち、実生苗では種々の形質があらわれるが苗の大小はその後の生育収量にはあまり影響しない。しかし株分苗の場合は苗の大小がそのまま生育収量に

Table 7. Yield of roots per one hill

Plot	Size	Fresh weight		T/R ratio	Dry weight Root (B) (g)	Dry yielding percentage (B/A) (%)
		Top (g)	Root (A) (g)			
Seedling	L	211.2	706.5	3.345	367.38	52.0
Seedling	M	406.0	1,103.2	2.717	601.244	54.5
Seedling	S	346.1	1,086.3	2.139	640.917	59.0
Suckering	L	412.9	1,467.3	3.554	865.707	59.0
Suckering	M	371.6	1,342.9	3.614	865.707	60.0
Suckering	S	326.5	1,057.8	3.240	634.680	60.0

Table 8. Quality of root

Plot	Size	Ash (%)	Acid-insoluble ash (%)	50% Alcohol ext. (%)	Paeoniflorin (%)	Albiflorin (%)
Seedling	L	3.1	0.1	39.8	3.06	0.78
Seedling	M	3.0	0.2	40.5	3.34	1.04
Seedling	S	2.5	0.1	39.4	3.63	0.12
Suckering	L	2.2	0.1	32.9	2.24	0.10
Suckering	M	2.0	0.1	32.9	2.06	0.12
Suckering	S	2.1	0.1	32.2	2.25	0.19

影響することが認められた。ジャクヤクを栽培する場合、苗の種類による収獲年次を判断すると、実生苗を用いる場合は4年次に、株分苗は5年次以降の方が有利ではないかと思われる。

摘 要

1972年9月12日植付生育の年次変化を調査するとともに、本畑5年次の1977年8月30日に掘り上げて、生育、収量と品質について調査検討した。

〔方法〕生育は1年次から5年次まで開花期に、5年次の8月には掘り上げ生育状況および、収量についてそれぞれ調査した。化学的な品質評価については二波長クロマトスキャンナーを用い、薄層濃度分析法(TLC-DM法)により定量を行った。

〔結果〕1) 生育：年次別の草丈、茎数についてみると、草丈では実生苗と株分苗では差異が認められ、前者は4年次に、また後者は5年次が最も高かった。苗の大きさは別では株分苗はL>M>Sの順で規則性は認められるが実生苗の場合は一定しない。

2) 収量：株分苗は実生苗より生根重は重く、苗の大きさ別では株分苗は若干L>M>Sの傾向を示したが、実生苗の場合はM>S>Lの順であった。

3) 品質：灰分、酸不溶性灰分ともに実生苗の方が

株分苗よりも若干高く、希エタノールニキス、ペオニフロリン、アルビフロリンは実生苗が株分苗よりもはるかに高含有量を示した。苗の大きさ別では特に差異は認められない。

本試験の遂行にあたり、終始御指導賜った北海道生薬協会会長水谷次郎氏ならびに大阪大学薬学部米田該典博士に対し感謝の意をいたします。

文 献

- 1) 刈米達夫，木村康一監修：広川薬用植物大事典 172 (1963) 広川書店
- 2) 吉村幸三郎：牡丹と芍薬の栽培 201 (1967) 金園社
- 3) 山岸 喬，水谷次郎：北海道における薬草栽培の歴史—芍薬を中心として— 日本生薬学会北海道支部講演要旨集 9 (1979)
- 4) 富良野市史 第2巻 174 (1969)
- 5) 薬用作物(生薬)関係資料 4 (1969) 農林省農蚕園芸局畑作振興課
- 6) 北海道における特用作物に関する資料, 22 (1978) 北海道農務部畑作振興課
- 7) 堀越 司，本間尚治郎，逸見誠三郎，畠山好雄：衛生試験 91, 103 (1973)
- 8) 米田該典，米田由喜代，本間尚治郎，堀越 司：生薬学雑誌 32, 162 (1978)

業 務 報 告

Annual Reports of Divisions

昭 和 53 年 度 業 務 概 況

所 長 下 村 孟

昭和53年度に入って安全性生物試験研究センターが順調にすべり出したことにより、ここ2～3年建設のために騒然としていた所内環境も次第に整備され、緑も増えて再び静かな研究所に戻ってきた。

当所の将来計画を策定するための検討は、昭和52年当初から進められてきたが、今年度に入ってから大いに進展し、7つの分科会と各層ごとの意見の集約により、遂にその大綱がまとまり昭和54年4月には印刷に回付する運びとなった。

この将来計画の作成には2年余りの歳月を費やしたが、所員の一人一人が現状の分析から始め、その問題点を的確に把握したうえで合議により将来のあるべき姿を捉え、さらにこのうち積極的に取り込むことが必要なものを重点事項として抽出したものであり、国民の保健衛生の向上に貢献するという当所の使命を果たすための方向が見出されたものといえよう。

すでにこの重点事項のうち特に緊急を要するものについては具体化のための検討が開始されており、一部は昭和55年度予算概算要求に盛り込むことができた。当所の業務が極めて多種多様であるため、限られた人員と設備の中で成果を挙げていくためには、この将来計画を念頭においたうえで実効の挙がるものから重点的に実施していく決断が必要であると考えている。

次に、昨年度の業務報告でも記した国際的な情報関係業務の増加であるが、まず国連環境計画（UNEP）によって設けられた有害化学物質国際登録（IRPTC）計画のわが国におけるナショナルコレスポンデントに当所が指定され、昭和54年2月からこの業務を開始した。当面はIRPTCからの照会、調査業務が主であるが既に数件の依頼がきている。

また、WHOにおいても有害化学物質の健康影響評価業務を積極的に推進するため、先進主要国の協力を

求めているが、わが国においても関係当局が検討の結果、当所が一定の範囲で引き受ける方向で予算、人員等の裏付けを得るよう努力することになった。

昨年度から始まったFAO/WHOの食品および飼料汚染物モニタリングプログラムはようやく軌道にのってきたところであるが、今後これら国際的な情報活動業務を円滑に果していくうえには、JOIS等のオンライン情報システムの利用を推進するとともに、当所における永年の試験研究の蓄積データの検索システムを確立して効率的な活用をはかることが必要である。

先に触れた安全性生物試験研究センターについては昭和53年4月5日に変異原性部が発足した。センター各部の新庁舎への引越しはほぼ終了していたが、実験動物の搬入は事前の環境調整を十二分に行ってから順次行った。

5月12日には建設に尽力された関係方面の諸氏多数を来賓に招いて盛大な落成式を挙行し、新装なったセンターの全貌を披露することができた。なお、初代センター長に就任した池田良雄博士は新庁舎における業務がすべりだした7月1日に残念ながら退任された。氏が永年にわたって当所の発展のために尽された情熱と献身に対し深く敬意を表しておきたい。

筑波研究学園都市に建設中の筑波薬用植物栽培試験場（仮称）については、本年度に入って実施設計を終え、11月くらいより建設工事にかかった。12月6日に地鎮祭が行われ、以後順調に作業は進行しており、昭和54年11月にはすべての工事が終了し、年内に春日部から移転できる見通しがついた。

以上のほか、今年度の報告で特記しておく事項としては、所内の防災対策の推進がある。

昭和53年6月の宮城県沖地震における薬品の混触発火による化学実験室の火災発生は、当所にもかなりの

影響をもたらした。即ち9月下旬、当所は消防署員多数の来訪を受け九一日にわたって立入検査が行われ、かなりきびしい指摘を受けた。当所としては早急にこれが改善を図るべく全所的に取り組み、薬品類の数量規制と適正保管、実験台上の器材および薬品戸棚等の転倒防止措置、廊下に出ている戸棚等の避難障害物の撤去等に努めるとともに、消火器の数量増加、屋内消化栓の新設、自衛消防隊の再編成などの改善措置を講じた。

昭和54年度に入って早々の4月15日、大阪支所は創立30周年を迎え、その記念式典が5月10日盛大に行われた。この頃国会においては薬事法の一部改正案と医薬品副作用被害救済法案が審議中のため、厚生省からの式典参加が不可能であったが、約150名が参加し、30年の歩みを回顧するとともに今後の発展を祈念した。これを契機に支所職員の一層の活躍を期待する次第である。

昭和53年度における試験研究業務の詳細については、後続の各部報告に譲ることとして最後に直研連活動について付記しておきたい。

小職は、各省直轄研究所長連絡協議会（直研連）の昭和53年度代表幹事に推され、国立の試験研究機関90機関の共通の問題の解決と推進に当たった。具体的には、研究機関職員の処遇改善、予算の充実、筑波移転問題について関係省庁に要望を行ったこと並びに国立研究機関の研究体制、研究公務員の資質向上等について協議検討を行ったことなどであるが、研究職の給与引上率の改善、人当研究費の単価格上げ等の成果が得られたことは喜ばしいことであった。終りに業務多忙のなかを補佐官として協力してくれた鈴木副所長と実務面を担当してくれた総務部の諸君の御苦勞に謝意を表する次第である。

総 務 部

部 長 飯 島 良 雄

1. 組 織

昭和53年1月1日に発足した安全性生物試験研究センターは、昭和53年度当初の4月5日に変異原性部が新設され、毒性部、薬理部、病理部、変異原性部の4部構成となった。

また、等級別定数の改訂により主任研究官の定数が38人から42人に改められた。

今年度においては、昭和55年1月1日から発足予定の筑波薬用植物栽培試験場（仮称）の組織を確立すべ

く鋭意努力した結果、庶務課の新設が認められた。なお、同試験場における栽培研究の充実を図るため、その前提として春日部薬用植物栽培試験場に主任研究官を置くことができるよう国立衛生試験所組織細則を改正すべく作業を行った。

2. 定 員

昭和52年度末の定員は315名であったが、昭和53年度当初に第4次定員削減計画に基づき研究職3名の定員が削減された。一方、安全性生物試験研究センターの業務を強化するため研究員2名の増員が認められたので、昭和53年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)53名、行政職(二)41名、研究職218名、計314名となった。

なお、昭和54年度において生物系研究業務を充実させるため研究員2名の増加が認められている。

3. 予 算

昭和53年度予算総額は、2,263,214千円で前年度の1,919,511千円に比較して343,703千円の増額で、伸び率は117.9%となっている。

増額の主な内容は、人当経費の148,414千円を除くと安全性生物試験研究センター運営費が、52年度の3ヵ月分(278,576千円)に対し53年度は、これの平年度化分(401,678千円)が予算化されたこと、国立機関公害防止等試験研究費において、新規研究テーマが1課題（環境汚染物質の動植物体内における存在形態に関する研究26,340千円）が認められたこと。また、施設整備費関係で北海道薬用植物栽培試験場における堆肥舎新築等工事費(26,614千円)が認められたことなどによるものである。

なお、上記安全性生物試験研究センター運営費中機械器具整備費として前年度とほぼ同額の約220,000千円が計上されている。

このほか、53年度予算においては、新規事項として薬用植物栽培試験場運営費が認められ、圃場管理費および春日部薬用植物栽培試験場の筑波移転に係る薬用植物の移転経費9,451千円が計上されている。

なお、昭和53年度事項別予算額は別紙資料のとおりである。

4. 薬用植物研究施設（仮称）の建設計画

昭和53年度特定国有財産整備特別会計において、建物（研究本館他6棟）、工作物等（電気、機械、外構）の建設工事費が、国庫債務負担行為初年度分として312,236千円、単年度歳出で共通仮設費26,555千円、および設計料等計375,539千円の予算が計上された。

本年度は、前年完了した基本設計に基づいて実施設計を行い、11月より建設工事に着手し進捗状況は順調

資料 昭 和 53 年 度 予 算 額

区 分	昭和52年度 (A)	昭和53年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織)厚生本省試験研究機関	1,843,249	2,159,280	316,031	
(項)厚生本省試験研究所	1,739,256	2,032,800	293,544	
人 当 経 費	1,195,187	1,343,601	148,414	研究職の定員2名増のほか、定期昇給およびベースアップによる増
一般事務経費	56,791	51,521	△5,270	
研 究 費	188,274	206,371	18,097	人当研究費単価の増 @1,050千円→1,120千円
特 別 研 究 費	16,917	16,749	△168	1. 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 (7,332千円) 2. 生活関連諸物質の微量分析新技術の開発研究 (9,417千円)
標準品製造費	3,511	3,429	△82	
安全性生物試験研究センター運営費	278,576	401,678	123,102	
薬用植物栽培試験場運営費	0	9,451	9,451	
(項)血清等製造および検定費	100,166	99,866	△300	
(項)厚生本省試験研究所施設費	3,827	26,614	22,787	
(組織)厚生本省試験研究機関	76,262	103,934	27,672	
(項)国立機関原子力試験研究費	38,957	32,040	△6,917	
(項)放射能調査研究費	5,861	4,861	△1,000	
(項)国立機関公害防止等試験研究費	31,444	67,033	35,589	
計	1,919,511	2,263,214	343,703	

である。

なお、今後の計画としては、昭和54年度において国庫債務負担行為後年度分および単年度歳出分建物2棟(危険物倉庫、屋外便所)、工作物の施工が行われ、昭和54年11月頃竣工の予定である。

5. 手数料の改正

1) 国家検定 当所が検定することとされている医薬品(43品目)の国家検定手数料は、昭和53年9月25日付厚生省告示第201号で改正され平均45%の値上げとなり、同年10月1日から適用されることとなった。

2) 標準品交付手数料 当所が製造し、申請者に交付している医薬品標準品(52品目)および色素試験用標準品(37品目)の手数料は、昭和53年9月25日付厚生省告示第200号で改正され、平均50%の値上げとなり、同年10月1日から適用されることとなった。

3) 試験検査依頼手数料 当所が依頼を受けて行う試験検査の手数料は、昭和53年9月25日付厚生省告示

第199号で改正され、平均50%の値上げとなり、同年10月1日から適用されることとなった。

6. その他

1) 昭和53年6月の宮城県沖地震の際発生した化学系実験室の火災を契機として、消防当局の一斉査察が行われ、当所についても種々の指摘があったので、危険物の適正保管、薬品棚の転倒防止、避難障害物の除去等に所を挙げて取組み、かなりの整備がなされた。

2) 全国の国立研究機関長90人によって組織されている各省直轄研究所長連絡協議会(直研連)の昭和53年度代表幹事に当所下村所長が選出され、その事務局として、研究職員の給与改善、予算の充実、筑波移転対策の推進等の業務を行った。

合成化学研究部

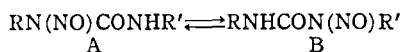
部長 神谷 庄造

合成化学研究部の主な研究テーマは、「生理活性物質の化学反応性に関する研究」および「抗腫瘍性化学官能基を有する化合物の合成とスクリーニングに関する研究」の2題である。前者は発がん物質の化学であるが、今後は生物系の部で見出された各種の問題を取上げ、毒性発現の本質に化学のサイドよりアプローチしたい。後者は新しい抗腫瘍性化学官能基の発見を目的としており、この研究の中から新反応が出てくれば幸いである。

研究業績

1. 生理活性物質の化学反応性に関する研究

尿素誘導体 (RNHCONHR') のニトロソ化に際し、R が電子吸引性基であり、R' が立位障害のある基である場合には2種のニトロソ異性体 A および B が生成し、両者を分離出来た。また、酸により A が B に、B が A に変換することがわかった (→誌上発表 1)。



従来、N-ニトロソ基が C-ニトロソ体となる転位反応は Fischer-Hepp の転位として知られているが、われわれの例のように N-ニトロソ基が N' に転位し、またその逆反応も起きるという反応は文献上初めての例である。当所では、数部が発がん性ニトロソ尿素誘導体をそれぞれの分野からアプローチしているが、このように、ニトロソ化に際し異性体が出る例があること、またニトロソ基が転位する例があることなどが出て来たので、結果の解析には十分注意しなければならない。

また、N,N'-ジアリルニトロソ尿素のベンゼン中での分解反応を検討しているが、反応中間体は N-アリルカルバミン酸のジアゾエステルである (RC₆H₄NH-COON=N-C₆H₄R)。

N-アルキル-N-ニトロソ尿素類および N-アルキル-N-ニトロソウレタン類の化学構造と臓器特異性については、病理部と共同研究を行っており、またこれらの化合物の発がん機構の有機化学的考察を行うために、これらの化合物とアミン、チオール、アミノ酸などとの反応を検討中である (文部省がん特別研究、岡田班報告)。

芳香族アミン類の毒性発現機構の有機化学的研究の一環として、各種芳香族ヒドロキシルアミン類の化学

構造と突然変異誘発能との相関について検討中である。

2. 抗腫瘍性化学官能基を有する化合物の合成とスクリーニングに関する研究

抗腫瘍性化学官能基である 2-クロロニチルニトロソウレイド基を有するピリジン 1-オキサイド誘導体および同じくビス (2-クロロエチル) アミノ基を有するピリダジン 1-オキサイド誘導体を合成し、それらの化合物のラット腹水肝がん AH-13 およびマウス白血病 L-1210 に対する抗腫瘍性を検討したところ、つぎの2種の化合物が抗腫瘍剤の候補として有望であった (→誌上発表 1; 癌, 投稿中; 文部省がん特別研究, 水野班報告)。1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(2-ピリジルメチル) 尿素 N-オキサイド・トシレート, 1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(2-ピリジルエチル) 尿素 N-オキサイド

新しい抗腫瘍性化学官能基を見出すための研究として、シアノトリアゼンのベンゼン誘導体を多数合成した。目下、スクリーニング中である (Chem. Pharm. Bull., 投稿中)。この間、窒素が鎖状に5ヶ結合した 1,5-ビス (4-クロロフェニル)-3-メチルペンタゼン (C₁₀H₈N₄N=N-N(CH₃)N=NC₆H₄Cl) を単離出来た。その他、二、三のポリナイトロジェン化合物を単離したが、構造はまだ決定していない。

両端に尿素残基を有する 1,1'-エチレンビス尿素のニトロソ化に際し、1,1'-エチレンビス-(1-ニトロソ尿素) (EBNU) 以外に得られる副生物の構造を、スペクトルの解析および別途合成により 1-カルバモイル-3-ニトロソ-1-イミダゾリジノンと決定した。この環状ニトロソ体の生成は、メチレン鎖が2ヶの場合のみの独特な反応であり、メチレン鎖が3ヶ以上だと普通のビスニトロソ体のみが得られる。

ここに得られた数種の環状ニトロソ化合物の抗腫瘍性については、目下スクリーニング中である (→誌上発表 2)。

3. その他

厚生省がん特別研究の「突然変異性物質の動物発がんテストに関する研究」および「遺伝変異原性を主とする発がん物質のスクリーニング技術開発」の2研究班に、それぞれ7および25種の検体を配布した (→厚生省がん特別研究, 小田嶋班報告; 同河内班報告; 誌上発表 3)。

生物系の部の研究試料、代謝中間体の合成、各種スペクトルの解析、化合物命名法などについては、できるだけ協力したい。

薬 品 部

部 長 江 島 昭

概要 昭和53年度において終了した研究は、本所特別研究課題「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(第2次)」と麻薬課からの幻覚剤対策費による「向精神薬の鑑定法に関する研究」の二つである。これらの予算により、それぞれ後述の通り所期の成果が得られたので今後はこれらを基礎とした研究の発展が期待される。

生物学的同等性の判定基準作成に関する研究は第2年度になる。この2年間において検討されるべき剤形は一通り実施されたことになるが、問題も多数残された。今後はさらに東西両薬協製剤技術懇談会の一層の協力を得て、より科学的にして簡易な方法の確立に邁進したいと考えている。

安定性の予測法に関する研究も第2年度に入り、東西両薬協技術委員会にも参加して戴き、実験が実施された。

高速液体クロマトグラフ法による医薬品製剤の分析は著々と成果を挙げたが、特別審査、特に解熱鎮痛剤に対する統一試験法案を作成したので審査課を通じて東西両薬協技術委員会に意見を諮問した。

新規に開始した研究としては、体液中の覚せい剤の検出法に関する研究(麻薬課委託研究)がある。

第十改正日本薬局方の化学薬品調査部会は継続品目についてはほとんど審議を終了した。同、一般試験法調査部会にはポリ塩化ビニル製容器の試験法作成に関して協力した。

緒方宏泰技官は昭和53年7月下旬から米国ニューヨーク州立大学薬学部(バッファロー)へ留学した。

業務成績

1. 国家検定 総件数は897件であった。前年度より9件の増加(1%)で、殆んど変化なかったといえるが、内容を分析すると、ブドウ糖注射液については、48件の増加(8.6%)が見られたのに対し、他の品目は昨年に引きつづき減少の傾向が見られた。特に避妊薬が41.3%減少した。ブドウ糖注射液の総数609件のうち、ポリ塩化ビニル製容器を用いたもの48件(7.9%)、ポリプロピレン製容器を用いたもの42件(6.9%)で、両者で約15%を占めるに至った。不適はブドウ糖注射液1件(異物)のみであった。

2. 特別審査試験 総件数259件で、前年度より約20%の減少であった。これは主として解熱鎮痛剤

($\Delta 39\%$)によるものであるが、新薬は逆に増加(約26%)した。解熱鎮痛剤での新しい傾向は坐剤、特に小児用が増加していることと、定量法に高速液体クロマトグラフ法を用いた試験法が増加していることである。生薬エキス含有の解熱鎮痛剤は相変らず多い。

3. 特別行政試験 総件数50件で、前年度より40%増加したが、その理由は輸入あへんのロットの大きさを3トンから1.2トンにしたため、世界的傾向と含量をより正確に表わしたいという輸出元インドの要請による。

4. 一斉取締試験 ノスカピンおよび塩酸ノスカピン製剤の含量試験を行い、145件中2件の不適品があった。

5. その他 日本薬局方収載化学薬品の改正審議(安全課)、薬事監視業務の効率的な実施に関する研究(監視指導課)、医薬品添加物(メチルアクリレートメタアクリル酸コポリマーほか4品目)の規格および試験法ならびに安定性に関する調査報告(審査課)、向精神薬の簡易鑑定法に関する研究第3年度報告(麻薬課)、生物学的同等性判定基準作成に関する研究第2年度報告(審査課)、厚生省癌特別研究「突然変異原性物質の動物発癌テストに関する研究」のための35種の検体の溶解性、安定性、LD₅₀、含量の報告、殺虫剤指針の改正作業の終了(審査課)、かぜ薬の試験法の改正(審査課)、解熱鎮痛剤配合坐剤の試験法の作成(審査課)、安定性予測のための試験法の確立に関する報告(審査課)およびポリ塩化ビニル製容器の微粒子浮遊液の調製(安全性生物試験研究センター)など行った。

研究業績

1. 医薬品の分析化学的研究

i) ホウ酸錯塩および医薬品のけい光分析(→誌上発表4, 5)

ii) 高速液体クロマトグラフィーによる方法: 感冒剤中の鎮がい薬、きょたん薬および抗ヒスタミン薬の定量(→誌上発表6)、メクロフェノキシ酸の定量(→誌上発表7)、ポーラスポリマーによる医薬品の分離(→誌上発表8)、新共重合型充てん剤を用いた医薬品の分析(→学会発表1)、クローメトリックモニターを用いたヒドロキシベンズアルデヒド類の分析(→学会発表2)。

iii) ガスクロマトグラフィーによる方法: アルカリフレームイオン化検出器による微量配合剤、マレイン酸クロルフェニラミンの定量、クロフィブラートカプセル中のp-クロルフェノールの分析(→学会発表3)。

2. 医薬品の安定性に関する研究

i) スルピリンの銅イオン存在下での分子状酸素による酸化分解を研究し、4-アミノアンチピリンを経てアンチピリニル 4-パーオキシドに至ることを発見した(→誌上発表 9, 10)。又ブドウ糖存在下でスルピリンの分解が促進されるが、スルピリンの加水分解産物 4-メチルアミノアンチピリンがブドウ糖のアルデヒド基と可逆的に結合したのち、結合した糖部分の 5 位と 2 位とで閉環した化合物が単離され、これはさらにアミノピリンに分解する。一方、4-メチルアミノアンチピリンから別の経路で 4-ホルミルメチルアミノアンチピリンも得られた(→誌上発表 11)。

ii) メチルアクリラートメタクリル酸コポリマー、セトマクロゴール 1,000, トリポリエチレンオキシステアリン酸グリセリン、無水亜硫酸ナトリウムなどの医薬品添加物の安定性について調査した(審査課)。

iii) アスピリン錠とアスコルビン酸 10 倍散の同一サンプルによる各種条件での経時変化が包装品と非包装品について行われ、いずれも初期は 0 次反応であるが、分解率が大きくなると自触媒反応となること、包装の方が非包装よりバラツキが大であること、アスコルビン酸散の着色は 1 次反応にしたがうことなどがわかった。

iv) ブドウ糖溶液の酸素存在下での新分解産物としてフルフラールを同定した(→誌上発表 12)。

3. 医薬品の安全性に関する研究

i) ポリ塩化ビニル製容器から溶出する液状微粒子の安全性について安全性生物試験研究センターが実施する試験用検体の調製法を研究した(安全課)。

4. 医薬品の有効性に関する研究

i) 固形剤の溶出試験法の検討(Ⅷ, IX 報) 極難溶性抗真菌薬であるグリセオフルビン錠、ビタミン B₁ 製剤である TDS 糖衣錠およびビタミン B₆ 活性型製剤である PAL-P 腸溶錠の溶出試験法と bioavailability について研究し、それぞれ審査課へ報告した。イソニコチン酸ヒドラジド錠についてはピーカー法での t₅₀ が 20 分以上又は K.A. Khan による Dissolution Efficiency が 50% 以下の製剤は Bioavailability が悪いことがわかり、易溶性薬品においても生物学的同等性が無視できないことがわかった(→誌上発表 13)。

ii) 胃内容排泄速度測定法に関する研究

今迄の実験から bioavailability に影響をおよぼす生理的因子として胃内容排泄速度が重要であることが推察されたが、この測定法はかなり困難であることから、医薬品摂取による簡易法の開発研究を開始した。

5. 麻薬および習慣性薬物に関する研究

i) アヘントコン散中のエメチンの確認法と TLC-Densitometry による定量法を研究した。

ii) 向精神薬の簡易鑑定法に関する研究の第 3 年次報告を麻薬課へ行った。

iii) あへん採取の最適方法に関する研究は継続中である。

iv) 近年覚せい剤による事犯は毎年 30% の増加をみ、昭和 53 年には 18,000 名が検挙されたが、被疑者から尿や血液を採取することは困難な場合が多いため、さらに簡単に発見できる方法を開発するため、麻薬課の委託研究が発足し、当部も班員として参加することとなった。

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 107 件および脳下垂体後葉関係製剤 66 件について検定を行ったが、いずれも合格品であった。

2. 特別審査試験 ジゴキシン製剤、コルチコイド、ペプチドホルモン、アミノ酸誘導体、制がん剤など 24 件について審査を行った。

3. 一斉収去試験 プロメライン錠 8 件について重量偏差試験、崩壊試験および定量試験を行った結果、製剤によっては不溶性の賦形薬などへの主薬の吸着を考慮した方法や賦形薬などから塩溶効果によって溶出を高める方法を利用する必要があることを薬務局監視指導課へ報告した。

4. 標準品製造 昭和 52 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。標準品の製造品目は、現在、日本薬局方標準品を主体にしてその製造を行っているが、今後、ペプチド、たん白質製剤など生物活性を試験する必要がある製剤、特にウロキナーゼ、カリジノゲナーゼ製剤の標準品はその製造について配慮する必要があると考える。

昭和 51 年から実施してきたオキシトシン、アルギニン・バソプレシンおよびリジン・バソプレシン国際標準品設定のための共同検定が終わり、WHO からその結果が報告された。(WHO/BS/78. 1227, 1231, 1280)

5. その他 昨年度検討した試験項目および試験方法に基き、カリジノゲナーゼおよび脾臓製循環系作用物質の実態調査を行い、薬務局安全課へ報告した。

研究業績

1. コルチコイドの定量法に関する研究

グルココルチコイドは 17 位の側鎖が熱的に不安定であるため、種々の誘導体にしてガスクロマトグラフ法による分析が行われているが、アルカリ性触媒を用いるトリメチルシリル化 (TMS 化) の方法を改良し、TMS 化の困難なコルチコイドに適用して良好な結果を得た。

2. ステロイドホルモンの代謝およびその作用機序に関する研究

20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase および 20-oxo-steroids を用いてステロイドホルモンに対するステロイドホルモン代謝酵素の結合様態並びに反応機作を明らかにするとともに、化学修飾法などを利用して酵素分子における構造と機能に関する検討を行った。

3. 向精神薬の免疫学的鑑定法に関する研究

昭和52年から検討を行ってきた向精神薬のうち、バルビタール系薬物をモデル物質として取り上げ、抗体および抗原標識赤血球の調製とこれらを用いた赤血球凝集阻止反応による鑑定法を確立した。薬務局麻薬課へ報告。〔衛生試報, 97, 25 (1979)〕

4. ホルモン製剤の持続作用に関する研究

低亜鉛含量の持続性インシュリン製剤を試製し、EDTA 法と原子吸光度法による亜鉛の定量を比較検討するとともに、試製品の亜鉛含量と血糖降下の持続性との相関について検討した。薬務局安全課へ報告 (静岡薬大、北大薬学部と協同研究)

5. ペプチドおよびたん白質製剤の純度に関する研究

カリジノゲナーゼ製剤中の不純たん白質成分の DISC および免疫電気泳動法による検索を行い、これら成分と抗原性の相関ならびにモルモットを用い、*in situ* 腸間膜灌流法および摘出反転腸管法によって腸管壁透過性につき検討を行った。〔特別研究, 衛生試報, 97, 228 (1979)〕

6. 医薬品の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

ヒトおよび動物から分離した多形核白血球、リンパ球などの免疫担当細胞機能を客観的に測定できる *in vitro* の試験法を確立するとともに、これらの諸機能におよぼす医薬品の影響に関する生化学的検討を始めた (国立相模原病院と協同研究)。

7. 生物活性を有する医薬品の規格および試験法に関する研究

i) 市販プロメライン製剤につき、力価試験、崩壊試験、重量偏差試験および電気泳動法による純度試験を用いた製剤学的検討を行った。〔衛生試報, 97, 29

(1979)〕

ii) たん白質製剤の本質とこれらに適用する規格・試験法設定の考え方をカリクレイン製剤を例にして検討し、総括した (→誌上発表 14)。

8. 標準品の品質規格に関する研究

i) 新たに調製したリゾチーム標準品について、2 種類の定量法による力価測定、アミノ酸組成、乾燥減量の測定およびポリアクリルアミドゲル電気泳動による純度試験の結果を総合して、標準品 1mg はリゾチーム 1mg (力価) に相当すると認定した。〔衛生試報, 97, 115 (1979)〕

ii) ジギタリス配糖体であるデスラノンドおよびラナトシド C の新標準品を設定するため、国際化学参照物質および英国薬局方標準品を用い、定量法としてピクリン酸法、酸性塩化第二鉄法、けい光法で、純度試験として薄層クロマトグラフ法および発けい光性類縁物質試験法によってそれぞれ検討した。〔衛生試報, 97, 113, 117 (1979)〕

iii) 脳下垂体後葉標準品の新ロットの力価について、国際標準品を対照として 4 施設で共同検定を行い、1.65 国際単位/mg と認定した。〔衛生試報, 97, 110 (1979)〕

iv) 塩酸チアミン標準品の非水滴定法による定量について検討した。〔衛生試報, 97, 88 (1979)〕

放射線化学部

部長 鈴木郁生

概要 昭和53年度 RI 使用登録者は 55 名、RI 作業従事者は 29 名であった。教育訓練は主として RI 実験に用いた動物、シンチレーターの有機廃液の処理に関して昭和53年 5 月に行われた。なお液状の RI または RI によって汚染された液の廃棄についての規則は総理府令第 7 号 (昭和54年 3 月 7 日付) によって一部改正された。しかし具体的な方法については焼却装置などの関係から、即座に解決するとは考えられず、RI 有機廃棄物の処理は依然として大きな問題として残っている。

昭和53年10月から54年 1 月にかけて RI 研究棟の排気設備の改修工事が行われ、この結果騒音および放射性ヨウ素の漏れが防止された。

昭和53年度は国立衛生試験所の原子力試験研究費として 6 課題、放射能調査研究費として 2 課題 (昭和53年度に行った主な研究課題) が実施された。

昭和54年4月1日付で長谷川明枝官が退職し、同日付で加藤玲子技官が採用された。

業務成績

1. 放射性医薬品の特別審査試験

診断用放射性化合物および放射性ガス製剤、用時標識用非放射性製剤、*in vitro* テスト用 RIA キットおよび RAST キットなど 44 品目について必要な化学試験および書類審査を行った。その結果 3 品目について試験法の不備が認められ、再度検討することが要求された。

なお審査の対象となった製剤別品目数は以下の通りである。

^{59}Fe 標識診断用化合物製剤	1 品目
^{99}Tc 用時標識用製剤	2 品目
^{125}I 標識 RIA キット	8 品目
^{125}I 標識 RAST キット	32 品目
^{133}Xe 診断用ガス製剤	1 品目

2. 放射能特別依頼試験

ラドン生成装置および食品について放射能測定依頼試験（厚生省薬務局）があり、それぞれについて測定を行った。

研究業績

1. 短半減期放射性医薬品の品質に関する研究

メチレンジホスホン酸およびフィチン酸の標識用キット各 2 ロットを用い、 $^{99\text{m}}\text{TcO}^-$ で標識して得られた製品の純度を種々の条件のペーパークロマトグラフィー (PPC)、薄層クロマトグラフィー (TLC)、ゲルろ過法により検討した。その結果、現行の放射性医薬品基準法によるとフィテートは純度試験に規定する標識率を与えたが、メチレンジホスホン酸の標識率は悪く、基準に規定する純度以下であった。後者について種々の方法で検討した結果、現行基準法では試験中にキレートの一部の解離が予想され、基準法の再検討の必要性が示唆された。

2. ハプテンラジオイムノアッセイの臨床分析への応用に関する研究

i) 葉酸 (FA) のラジオイムノアッセイ

水溶性 carbodiimide を用いて BSA-FA conjugate (Immunogen) を得、モルモットを免疫して抗血清を得た。 ^{125}I -標識チラミン化 FA を用いて 定量条件を検討し、特異的に 1~10 ng FA/tube の定量可能な方法を確認した（文部省科学研究、53年度）。

ii) キサンチン (Xa) のラジオイムノアッセイ

Xanthosine-BSA conjugate を合成し、モルモットを免疫して抗血清を得た。また ^3H -Guanosine を酸化して ^3H -Xanthosine を合成した。

^3H -Xanthosine は抗血清と抗原抗体反応を行うことを認めた。

3. ゴム加硫促進剤等の安全性に関する研究

^{14}C -2-Mercaptobenzothiazole を合成し、マウスを用いて、皮下注射および経口投与後の分布および排泄について実験を行った。

臓器内分布は皮下注射、経口投与とも、腎が最も高濃度であり、次いで肝、血液に高濃度に分布しているのが認められた。皮下注射では投与後 1 時間で 70%、6 時間後で 95% が尿中に排泄された。また経口投与では投与後 3 時間で 60%、6 時間で 70% が尿中に排泄された。尿中代謝物として 2-Mercaptobenzothiazole の glucuronide および sulfate conjugate を認めた。

4. 依存性薬物の生物学的研究

^3H -Naloxone, ^3H -Dihydromorphine を用いて Snyder らの方法により Morphinane 系薬物の opiate receptor への binding affinity について検討した。またマウスを用い急性毒性および鎮痛効果についても検討を行った。

Morphinane 系薬物は 6 位の水酸基が酸化を受けて oxo 体となると opiate receptor への結合性、急性毒性、鎮痛活性が増加することを認めた。また脳 opiate receptor への結合性と鎮痛活性との間で相関関係が認められた。

5. 鉛の投与方法の違いによる生物効果の差異について

環境庁国立機関公害防止等試験研究費による環境汚染物質の動植物体内における存在形態に関する研究の一端として、鉛の投与方法の違いによる生物効果の差異を知る目的で検討した。鉛の生物効果は、赤血球 ALAD 活性と尿中 ALA 排泄量の影響を主な指標とし、その変化、鉛の経時的体内分布ならびに糞尿の経時的排泄量から、経口投与は一過性、皮下ならびに腹腔投与は遅延性および連用的な効果を認めた。注射による投与方法を用いた場合に、腹腔投与は皮下投与よりも強く影響をおよぼすことも示された。（環境庁公害防止総合プロジェクト中間報告）

6. 環境試料中の天然放射性核種の分析に関する研究

前年度に引き続き、岡山県人形峠周辺の井水について、 ^{226}Ra 、 ^{228}Ra および U の定量を行った。しかしこれらの地域の井水には上記の核種は全く含まれていないことが明らかとなった。また温泉水中の放射性核種含量を知るため、群馬県下の 10 カ所の試料水について検討した結果、4 カ所の源泉および 1 カ所の天然水

に微量の ^{226}Ra が (最高値 0.42 pCi/l, 最低値 0.01 pCi/l), そして 2 カ所の源泉に U が含まれることが明らかとなった。

なお本年度は U の同位体比 (主に ^{234}U と ^{238}U の存在比) を求めるための方法として, ステンレス板への電着法を検討し, よい結果を得た。

7. 環境試料中の人工放射性核種の分析に関する研究

核燃料再処理施設周辺の放射能汚染調査対策の一つとして放射性ヨウ素 ^{129}I の分析法を検討中である。今年度は主に土壌について安定ヨウ素の抽出法を ^{129}I を用いて検討し, 土壌中の安定ヨウ素を 90% 以上抽出する方法を確立した。本法を用いれば, 核燃料再処理施設周辺あるいは原子力発電所周辺の土壌の放射性ヨウ素 ^{129}I による汚染を容易に発見することが可能である。

生 薬 部

部 長 名 取 信 策

業務成績

1. 一斉取締試験 51年度と同様な目的で, 局方生薬 (輸入品) 5 品目について局方適否試験を行った。収去検体は「エンゴサク」18 件, 「センソ」38 件, 「センナ」29 件, 「チョレイ」31 件, および「ハンゲ」68 件の計 184 件で, そのうち不適は「センナ」2 件および「ハンゲ」5 件であった。「センナ」の不適品はいずれも多量の葉柄を含むものであり, また「ハンゲ」の不適品はいずれも灰分過多のもので, これは小粒のためコルク層除去などの調製が十分にできないためのものであり, 径 5mm 以上の通常のものについては灰分の規定に適合していた。

供給不足の生薬には低品質のものが市場に横行しがちであるといわれているが, 局方の生薬総則第 6 項の判定基準の除外規定にも, 問題があると思われ, これについて検討中である。

2. 局方, 局方外生薬の規格設定 51・52年度に作成した規格案を, 「日本薬局方外生薬規格集」にまとめ, 59 品目の規格設定を完了した。これにより局方生薬を含め採用される生薬のほとんどのものについて規格が設定され, これらにしたがって承認審査が行われるようになった。

局方の改正作業としては, 生薬試験法の再検討および生薬製剤の見なおしを行い, 引き続きその他の点について検討を行っている。

3. 特別審査 従来どおり製剤 (かぜ薬) 54 件に配合された生薬の試験方法について審査を行った。

4. 本年度は特別行政試験に該当品目はなかった。
研究業績

1. 生薬・生薬製剤の規格試験法の基礎研究 前項 2. と並行して, セリ科生薬とくに中国産センコ (前胡) の成分について研究継続中である。

2. 植物資源の医薬的利用に関する研究 薬用植物の資源的・品質的評価, 主要薬用植物の原種 (純系) の研究, 医薬資源植物調査等, 前年度に引き続き研究続行中である。

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの研究 従来から研究中のマイコトキシンについて毒性学的研究を継続する一方, *Chaetomium* 属が cytochalasin 系の細胞毒 chaetoglobosins のほか, sterigmatocystin, O-methylsterigmatocystin などの発がん性物質を代謝することがわかったので, *C. thielavioides* を用いてその代謝物の分離とその構造研究を行った (→誌上発表 18, 19, 20, 21, 学会発表 8) (衛生微生物部, 横浜市大医, 東京都老人研等との共同研究, 文部省および厚生省がん特別研究費による)。

ii) 有害植物成分とくに発がん性物質の研究 ワラビについては従来の知見の整理を行う一方, 変異原性の試験による追求を継続しているが, 活性物質の単離はいまだに成功していない (→誌上発表 22, 23, 24, 25, 26, 27, 学会発表 4) (国立がんセンター等と共同研究, 文部省がん特別研究費による)。

ワラビの代謝産物全般についての変異原性の迫及の過程で, kaempferol, quercetin などのフラボノイドが可成り強い変異原性を示すことがわかったため, これらについて発がん実験が行われているが, これに協力して, それらの代謝, 変異原性の構造活性相関を知るための誘導体の合成を行った (東大医科研, 国立がんセンター等と共同研究)。香辛料 dill (莢薤) の変異原性の本体についても, その分離と同定を行った。

iii) 各種食品に存在する青酸化合物の調査研究 (食品衛生調査研究) 前年度の継続 (厚生省環境衛生局へ報告)

なお昭和53年9月30日付で黒柳正典技官が静岡薬科大学へ転出した。

療 品 部

部 長 大 場 琢 磨

概要 図書室が移ったあとを整備し、昭和54年3月療品室が移転し、同時に家庭用品第1室も移動し、共通機器室も元の姿に復帰することができた。したがって療品部の3室が本館3階北側に隣接することになり、非常に活動しやすくなった。

昭和53年6月23日付の Federal Register で、FDA は医療用具、プラスチックに残留するエチレンオキサイド (EO) の Maximum Residue Limit をもうけることを提案した。厚生省はこれを重視して、昭和53年度の特別研究としてこの問題を取りあげ、われわれはその試験法、安全性についての検討を薬理部および東京医科歯科大学と共同して行った。既にこの分析法についても研究を行っており、またEOに関する Federal Register および報文の全文翻訳も行っていたので、即応して有効な研究成果をうることができた。

衣類中の防炎加工剤 トリス (2,3-ジブロムプロピル) ホスフェイトおよび防菌防黴剤トリフェニル錫化合物の2品目の規制が、昭和53年9月27日付官報で告示された。前者はポリエステル製パジャマの防炎加工剤としてアメリカで広く使われてきたが、その発がん性のために使用禁止となったものである。

当部の療品室および家庭用品第1室では、従来から近隣の衛生研究所の担当者とそれぞれ研究会を組織し、隔月に情報交換、文献紹介等を行ってきているが、当部も地方衛研も互に利するところが多いので、今後も推進してゆく方針である。

理化学試験室においては、コンピューター処理能力の増強をはかった結果、マススペクトルのデータベースの整備並びに給料計算に利用することができるようになった。

業務成績

1. 医療用具の基準作成

既に告示されている13種の医療用具の基準の一部改正が53年3月6日付で告示された。人工腎臓装置基準は血液ポンプ等の検討が終ったので、年内には告示されることとなった。また医療用具に使われるプラスチックの原料規格を医療用プラスチック懇談会と協同して作成することとし、調査を始めた。

2. 家庭用品の試験検査

53年度の試験品目は防炎加工剤2品目、ゴム老化防

止剤1品目および蛍光増白剤1品目の合計4品目に決定された。53年度当部では主に水性塗料中の有機錫化合物の分析試験のほか前記告示に関する試験法の検討を行った。また今後の3年計画の資料として、試験の対象となる家庭用品に使われている化学物質を調査し、家庭用品安全対策室に報告した。

3. 輸出検査

腸線縫合糸の輸出検査については、昨年に引き続いて行政管理局と厚生省とが折衝を重ねてきたが、近く廃止の方向が出されるものと思われる。53年度の検査件数は56件、合計117,208ダースで、不適品はなかった。

4. 理化学試験室のコンピュータ利用と機器分析の依頼測定

所内での依頼測定は質量スペクトルが減少して約30件であったが、核磁気共鳴スペクトル約200件、ガス・マス分析25件のほか新たにマスフラグメントグラフが2件あった。

コンピュータによる給料計算は本年1月より始められたが、当室担当者の努力により順調に利用されている。

研究業績

1. ディスポーザブル医療用具に残留するエチレンオキシドの安全性に関する研究

塩化ビニル樹脂製およびシリコン製の血液回路に吸着されるEOの量、EOの離脱をガスクロ並びに比色分析法により検討し、さらにEO滅菌の回路の中に水あるいは生理食塩液を充填したときのエチレンクロロヒドリンとエチレングリコールの生成量を測定した。同時に行った溶血性および変異原性のデータからEOの作用限度値を確かめた。(薬理部、東京医科歯科大学と共同、薬務局へ報告)

2. 人工腎臓用ダイアライザーの放射線滅菌と血液透析能に関する研究

ホローファイバ型ダイアライザーに2.5Mrおよび5.0Mrの照射を行った後の材質劣化と透析能の変化を検討した。(衛生微生物部と共同、原子力研究)

3. 歯科材料に関する研究

歯科用レジン12種の水中におけるレジン成分の溶出量の経時変化を測定し、その溶出の差を認めた。またディスパーズアマルガムのポテンシオスタットによる腐食電位、分極曲線を測定することにより各種アマルガムの組織と腐食を比較研究した(福岡歯科大学と共同、一誌上発表31、学会発表11)。

4. 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究
防炎剤トリス (2,3-ジブロムプロピル) ホスフェイ

ト類似物質とハロアルカノールのネズミチフス菌による変異原性を検討し、同系統化合物群の中から動物実験を行うときの順序をきめるための資料とした（横浜市衛研と共同、一誌上発表 32, 学会発表 12）。染料中のナフチルアミンをトシル化し、高速液体クロマトグラフィーにより精度よく分離定量を行った（岐阜衛研と共同、一誌上発表 33）。

輸入くつクリーム中に含まれていた未知の水銀化合物についての検索を東京都衛研、横浜市衛研と共同で行い、最終的に構造決定まで完了した。

5. 機器分析におけるコンピュータ利用に関する研究

塩化ビニルモノマーあるいはビフェニルのガスクロ・マスフラグメントによる微量定量分析において、異種化合物であるジメチルサルファイドあるいは 2-クロロ 6-ニトロトルエンを内部標準物質として用いたときの精度、定量限界等について研究を行った。

また Fortran 言語による各種計算プログラムの開発、整備、マスペクトル・データベースの整備を行った。

環境衛生化学部

部 長 谷 村 顕 雄

前部長 井 上 哲 男

昭和53年10月1日付で井上哲男部長は大阪支所長に昇任され、谷村顕雄食品添加物部長が事務取扱いを命ぜられた。また、山手昇室長が昭和53年7月1日付で退職した。

業務成績

1. 一斉取締試験

口紅中のタール系色素の試験を 343 検体について実施した。その内、タール系色素が申請書と相違していたものが 84 件認められた。

2. 特別行政試験

i) 化粧品試験

薬務局監視指導課の依頼により、乳液、クリーム、ヘアトニック各 5 検体について、エチニルエストラジオールの定量試験を実施してその結果を報告した。

ii) 厚生省庁舎水道水調査

前年度に引き続き、建築物における衛生的環境の確保に関する法律に基づき、庁舎給水施設（地下受水槽、高架タンク、各階給水栓）の定期的検査を実施した。11 検体につき各試験項目 26 を分析処理した（官房会計課へ報告）。

iii) 皇居外苑濠水調査

前年度に引き続き、11 地点の水質について調査を実施した（薬務局、環境庁自然保護局へ報告）。

iv) 皇居内苑濠水調査

宮内庁からの依頼によって前年度に引き続き、10 地点の水質につき年 4 回の季節別調査を実施した（薬務局、宮内庁管理部へ報告）。

3. 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

前年に引き続いて、東京都内 3 カ所の国設自動車排出ガス測定所において、各種自動計測器を用いて大気汚染の常時測定を実施した。調査項目はつぎの 8 項目である。一酸化炭素、窒素酸化物、二酸化硫黄、炭化水素、浮遊粒子状物質、オキシダント、アルデヒド、交通量〔環境庁大気保全局へ報告、衛生試験、96, 119 (1978)〕。

研究業績

1. 環境空気の衛生化学的研究

i) 建築物における空気の衛生管理基準の設定に関する研究

大規模建築物および一般住居内における窒素酸化物汚染の実態把握および暖房器具の種類による汚染物質（窒素酸化物、ホルムアルデヒド、浮遊粒子状物質）の発生量について検討を行った。

ii) 空気中における有害物質の検出と生成機構に関する研究

空気中の N-ニトロソジメチルアミンを Tenax GC に常温で捕集後、加熱追出し操作により直接 GC-TEA で分析する方法について検討を行った（一学会発表 14）。

iii) 空気中に含まれるガス状および粒子状物質の微量分析法および挙動に関する研究

ホルムアルデヒド自動計測器の改良研究および性能評価試験を行った（環境庁大気保全局へ報告）。

都市大気中における高濃度ホルムアルデヒドの発生状況と光化学反応との関連性を詳細に検討した（一誌上発表 36）。

2. 水道水質基準および試験方法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

水道水質基準の追加または改定のため、東京大学薬学部ほか 4 大学とともに、水道水質基準に係る水質試験法（アンチモン、ブロム等）に関する研究を行った（環境衛生局水道環境部へ報告）。

ii) 水道水質基準の設定ならびに水質分析法の作製に関する研究

前年度作成した原案の整備と充実化のための検討を行った。本案は昭和53年8月31日厚生省令第56号「水質基準に関する省令」として公布された（環境衛生局水道環境部へ報告）。

iii) 温泉の衛生化学的研究

温泉分析法の改定に伴い温泉の環境衛生の評価ならびに飲用に供する場合の有害成分の許容量の設定について原案を検討した（環境庁自然保護局温泉分析法に関する委員会へ報告）。

iv) 水道水中の低沸点有機塩素化合物の指標に関する研究

52年度までに開発したヘッドスペース法による分析法を用い、東京大学、東京医科歯科大学など9機関との共同研究によって全国270カ所の水道水中の低沸点有機塩素化合物の分析を行い、その実態を把握した（環境衛生局水道環境部へ報告）。

3. 水道用品に関する研究

i) 水道用品等規格の設定に関する研究

浄水場において用いられる水処理剤ポリアクリル酸、硫酸銅、過マンガン酸カリウムなどの規格設定とエポキシ樹脂塗料の溶出試験の継続研究を行った（環境衛生局水道環境部へ報告）。

4. 水利用に関する衛生化学的研究

i) 水道原水中の発がん物質に関する研究

環境汚染物質としてのクロムと、水道原水に含まれるトリハロメタンの前駆体成分の分離、同定およびこれら化合物の染色体異常ならびに細胞毒性について検討した（厚生省がん特別研究谷村班へ報告、一誌上発表37）。

ii) 陸水の浄化に関する研究

皇居内苑、外苑濠水質の実態把握と栄養収支について研究を行った（宮内庁管理部、環境庁自然保護局へ報告）。

5. 有害性金属の衛生化学的研究

i) 有害性金属の環境中毒学的研究

Cdの連続投与時（ラット）のCa代謝調節因子におよぼす影響について検討した（一誌上発表38）。

ii) 環境汚染物質としての有害性金属の分析技術の開発に関する研究

電気透析法とDDTC-MIBK抽出-無炭化原子吸光法を組み合わせた方法により、生体および環境試料中のNiの化学形ならびに構成成分との相互作用を明らかにするための微量定量法の研究を行った（特別研究内山班へ報告）。

iii) Cr化合物の生体運命に関する研究

3価と6価Cr化合物の経口、静注時の血液、肝臓

中における挙動ならびに化学形および血液中における膜透過性と化学形との関係について研究した（科学技術庁原子力局へ報告）。

iv) 環境汚染物質の動植物体内における化学形態に関する研究

煎茶浸出液中のNiの化学形およびNiCl₂静注時の生体中、特に血液および腎臓中の存在形態について研究を行った（環境庁公害防止総合プロジェクト内山班報告）。

6. 化粧品分析化学的研究

i) 化粧品の製品規格に関する研究

化粧品の安全対策上、製品規格に関する関心が高まり、厚生科学研究費補助金を受け、現在の化粧品区分について品質および安全性の見地から必要な試験項目の選定並びに試験法の検討を行った（厚生省薬務局審査課へ報告）。

7. 化粧品中のN-ニトロソジエタノールアミン(NDEIA)に関する研究

初めにNDEIAの簡易分析法としてNDEIAを3,5-ジニトロベンゾイル化し、UV吸収モニターを用いた高速液体クロマトグラフィーを用いる定量法を確立した。この方法を用いてニトロソ化の阻害反応などの検討を行った（一学会発表15）。ついでThermal Energy Analyzer (TEA) にGCを接続したTEA-GC法の測定条件を検討した。同時に製品の前処理法を詳細に検討し、TEA-GC法を利用して市販化粧品の実態調査を行った。またこの方法を利用し、ジエタノールアミンのニトロソ化におよぼす阻害および促進因子について検討した。現在さらに市販製品の実態調査の継続と共にNDEIAの生成防止や生成のメカニズムについても検討中である（薬務局委託研究、厚生省薬務局安全課へ報告）。

食 品 部

部 長 内 山 充

概要 所内では全分野にわたって現状の見なおしと将来への展望を真剣に考える雰囲気をもって終始した一年であったが、部内の試験検査および研究業務も、内外の情勢と学界の動向を反映して、より能率的により重点的に対処する方針をとった。GC/MSは電算機も含めて整備を終え作動段階に入り、食品汚染物モニタリングプログラムもほぼ軌道にのった。試験研究の対象としての食品汚染物や変質物について、来るべき問題点を予かじめ捉えて検討すべく準備や計画を行った

のも新しい試みであった。

業務成績

1. 特別行政試験：食品残留農薬実態調査の国内産試料については、イチゴ、キャベツ、ダイコン、ナン、チャの計 76 検体を行ったが、15年間続いた本調査も53年度をもって終了した。外国産試料は、大麦、ソバ、パイナップルの計 56 検体につき農薬残留実態を調査した。

特殊調製粉乳は 10 検体につき重金属の試験を行った。

2. 輸入食品検査：年度当初に脱脂粉乳の異物検査を 48 検体、ついで当年輸入解禁の米国産のチェリーの農薬（塩素系、リン系および臭素）を 8 検体検査した。その他、冷凍魚中のフェニルエーテル系農薬、菓子のステアリン酸カルシウム、えびのホウ酸などの検査が計 6 件行われた。港の監視員事務所の試験体制および指定検査機関の充実により、当所の化学検査の検体数は減少の傾向をたどっている。

研究業績

1. 農薬の残留分析と生理活性に関する研究

i) 食品中の残留農薬分析法の開発と改良として、多成分 (33 種) 有機リン剤の一斉分析法の確立（→誌上発表 41）とその応用（→誌上発表 42）およびクロロタロニル（ダコニール）のベンゼン中での光分解（→誌上発表 43）につき研究した。

ii) 小麦および小麦粉中にマラチオン、フェントロチオンなどが検出される現状に鑑み、調理食品中の実態、加工による変減などを検討した（→学会発表 19）。

iii) 有機リン剤の ChE 阻害力に対して臓器ホモジネートが結合不活化を示すが、その臓器特異性、SH 量やたん白量との非相関性、重金属との相互作用などを検討した（国立機関公害防止総合研究）。

2. 食品中の人工汚染物の化学毒性学

i) 食品の重油汚染に関する研究では、ノルマルパラフィン、イソパラフィン、含硫芳香族、含窒芳香族、多環芳香族およびアルキルナフタレンなどの分別分析、さらに各成分の動態などを検討し、汚染指標としての評価を確立して環境庁プロジェクト研究を終了した（国立機関公害防止総合研究）（→学会発表 17, 18）（*J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 投稿中）。ついで各成分の有する生理活性から安全性指標と生物学的分析法へと展開中である。

ii) 環境・食品内貯留性有機塩素化合物として PCT の長期投与後の動態、HCB および PCN の食品中からの分析法などを検討し、将来の調査、監視に備え、総有機塩素分析の方向を検討しつつある。

iii) 環境汚染の実態から、来るべき食品汚染を監視しその健康影響評価の一環をなすために、生活用品としてのリン酸トリエステル類をえらび、食品汚染分析法の開発を行った。さらにそれらの生化学的反応指標を検索する。

iv) 食物連鎖と生物濃縮および環境保健を考察するのに最もよいモデルとして水棲生態系をえらび、特定の汚染物の影響、動態および検知の研究を開始した。実験条件や水棲生物からの分析法などの基礎的検討を行った。

v) 重金属の動植物体内における存在形態について、放射線化学、環境衛生化学の両部を始め全国 9 大学 4 研究所との共同研究を行い、各種リガンドの化学的検討、体内移行や作用と化学形の関連などにつき研究した（国立機関公害防止総合研究）（→誌上発表 40）。

vi) 重金属および塩素剤による免疫活性の変化を PFC 法で検討し、さらに塩素剤のもつ脂質過酸化促進作用についても検討を加えた。

3. 食品中の天然汚染物に関する研究

i) かび毒の化学分析とその応用として、穀類からの 14 種のかび毒の系統的分析法を確立し（*J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* in press）、またオクラトキシン A の標品製造と供給を行い（厚生省がん研究）（→学会発表 22）、さらにステリグマトシスチンの生体試料からの分析法を検討した（文部省試験研究）（→学会発表 23）。

ii) 食品のかび毒汚染調査研究はアフラトキシンを中心とする汚染調査（環境衛生局委託研究）および赤かび毒汚染に対する分析ネットワークの確立と汚染調査（科学技術庁特調研究）を行った。

iii) コナダミとかびの共生およびダミのかび嗜好性などにつき研究を続行した。

4. 食品汚染物の実態に関する情報処理システムの確立とその応用（環境衛生局委託研究）

i) 全国の食品汚染物モニタリングデータの 1971～1977 年分の電算機入力をほぼ完了、さらに各種出力のプログラムを完成した〔衛生試報. 97, 1 (1979)〕。さらにその中の特定項目につき WHO に報告した（→学会発表 16）。

ii) 日常調理食品中の汚染物摂取量調査 (total diet study) 1978 年は北海道、名古屋市、大阪府、福岡県の協力の下で行われた。さらにその試料は food sample bank に保存した。

5. 食品成分およびその変質物に関する研究

i) γ 線照射による食品成分の変化として、イノシ

ン酸の変動を検討し (*J. Food Sci. in press*) さらに、照射などエネルギー負荷によるたん白質からのフリーラジカル生成につき研究した (*J. Food Sci. in press*)。

ii) 食品成分を始め多くの対象物に応用しうる分析法として、けい光デンストメトリーにおける増けい光法を開発し (→誌上発表 44) さらにその機構について実験的考察を行った (→誌上発表 44, 学会発表 20)。

iii) 脂質過酸化に関しては、加令、 CCl_4 中毒およびビタミン E 欠乏などによる変化と新鮮臓器ホモジネートについての TBA 値との相関について検討した (→学会発表 21)。

iv) 植物多糖の免疫賦活作用を PFC 法で検討した。

v) 食品成分の安全性、新開発食品の評価についての生化学的アプローチを考察した (→誌上発表 39)。

6. 食品の規格・基準に関する基礎研究

i) マヨネーズ、マーガリン、ショートニング中の油脂の酸価、過酸化価の測定法設定と実態調査

ii) 粉乳中の重金属測定法の改良として無炎原子吸光法によるビスマス、鉛の定量法を確立した (食衛誌 in press)。

iii) 各種食品中のホウ素含有量についての考察を行った (環境衛生局委託研究)。

7. 輸入食品の検査法開発として昨年にひきつづきかんきつ類からのクマロン・インデン樹脂の特異分析法 (→誌上発表 45)、ビール中のポリビニルピロリドンの分析法 (食衛誌 in press) が行われ、さらに輸入穀類中の農薬の分析やかび毒の簡易検査などを検討した。

8. 食中毒に関する研究は、鯉による麻痺性中毒の原因物質の単離と構造の解明に関して宮崎県などと協力して行われ、いくつかの新知見が得られた (環境衛生局委託研究)。またクロレラ光過敏症性皮膚炎の予防のため、クロレラ中のクロロフィルアゼやクロロフィル分解物についての規格を考慮する基礎的検討を行った (→誌上発表 46)。

食品添加物部

部長 谷村 顕雄

業務成績

1. 製品検査 (昭和53年1月～12月)
食用色素: 検査件数 362, 合格 362, 不合格 0
2. 洗浄剤の残留試験

ショ糖脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル3品目の家庭用食器、野菜等への残留量を測定する分析法の検討を行い、食品衛生法に基づく使用基準の条件での野菜等への残留量の測定を実施中である。カリ石鹼ではカリウムおよび脂肪酸が野菜中のそれらとの判別が困難であった。

3. 食品添加物標準分析法の作製

「食品中の添加物分析法」第4集が昭和53年9月に完成した。昭和53年度からは名称が「食品添加物分析における妨害物質に関する研究」に変わった。研究内容は従来どおりである。第5集分として亜硫酸塩、銅クロロフィリンナトリウム、パラオキシ安息香酸エステル類 (清涼飲料水中)、ソルビン酸 (チーズ中)、チアベンダゾールが検討された (→誌上発表 47) 昭和54年度は、サッカリンナトリウム (乳酸菌飲料その他の一般食品)、グリチルリチン塩酸塩、銅クロロフィリンナトリウム (こんぶ中)、アセトン、ヘキサノール、亜硫酸塩、流動パラフィン (パン中)、縮合リチン酸塩等の妨害物質に関する研究が継続中である (環境衛生局委託研究)。

4. 標準分析法のクロスチェック

「食品中の添加物分析法」を検討する委員会が組織 (4機関の共同研究) され、昭和53年度はモデル食品としてうどん中の過酸化水素、しょう油中の保存料、サッカリンナトリウム、タール色素を実測した。モデル食品の添加量と検出量を集計した結果ではよく一致し、標準分析法の正確性が立証できた。昭和54年度は洋菓子中のプロピオン酸塩、タール色素、清涼飲料水中のタール色素、甘味料、保存料の共同実験が予定されている。

5. 成分規格の設定

i) オルトフェニルフェノールの規格が設定され、すでに「食品添加物公定書」第4版に収載された。

ii) ビロリン酸第一鉄および第二鉄液、チアベンダゾール、ナトリウムメチラートの規格 (案) を作成し、規格委員会 (食品衛生調査会) の審議が終了し告示された。

研究業績

1. 医薬品のニトロソ化に関する研究

昨年度行ったアミノピリンに続き、今年度はスルピリンのニトロソ化について検討をした。すなわち、スルピリンを経口摂取した場合、消化管内でニトロソ化され、生成する可能性のあるニトロソ化合物二種類を単離し、それらの構造決定を行うとともに、突然変異原性について検討を行った。

2. ニトロソ化反応に影響をおよぼす諸因子につ

いて

エタノール、ブドウ糖、ショ糖など水酸基を有する化合物が、第二級アミンのニトロソ化反応におよぼす影響について研究を行った。上記の化合物と亜硝酸ナトリウムの混合溶液をまず酸性とし、ついでアルカリ性として第二級アミンを加えると、添加した水酸基化合物の量に比例してニトロソアミンを生成することを見出し、第二級アミンのニトロソ化反応の際起こる見かけ上の促進効果について検討を行った（→誌上発表 48, 学会発表 24）。

3. ヒト血液に含まれるニトロソ化合物に関する研究

ヒト血液に含まれる揮発性ニトロソアミンを GLC-TEA を用いて検索し、N-ニトロソジメチルアミンのみを検出、定量した。この経時変化および食事の摂取、食事に含まれる第二級アミン、硝酸塩、亜硝酸塩、ニトロソ化合物の影響は明瞭ではなく、ヒト血液中のニトロソアミンは食事等の外因よりもむしろ消化管内において生成されるニトロソアミンに大きく支配されていることを示唆している（→学会発表 25）。

4. ヒトにおける硝酸塩の尿中排泄について

通常の食事を摂取した男女9名について、24時間尿の硝酸塩量と硝酸塩摂取量とを測定した。また高ならびに低硝酸塩含有食事を摂取した場合の尿中排泄量についても測定し、摂取量との相関性について検討した（→誌上発表 49）。

5. 器具および容器包装関係では、昨年に引き続き、単量体1種類とプラスチック添加剤10種類について樹脂中からの長期溶出を検討した。

単量体は発ガン性、催奇形性のあるアクリロニトリルを、添加剤には塩化ビニリデン樹脂の可塑剤 DOA, DBS, ATBC, 塩化ビニル樹脂の可塑剤エポキシ化大豆油, DOA, DBS, 耐衝撃剤 ABS 樹脂（アクリロニトリル）、酸化防止剤 BHT など汎用されているものを選択し、使用実態にあわせて溶出試験を行った。

またポリオレフィン、ポリスチレンの規格化のためのバックデータを再検討し、それらの規格（昭和54年3月、食品衛生調査会資料）を作成した。

哺乳用乳首からの BHT の溶出に関連して、ゴム製品の衛生的点検を行い、天然ゴム製品と合成ゴム製品との比較検討を行った（依頼研究費）。

また漆器などの塗装品に対する検討を行い、カドミウム末が紫外線照射により、陶磁器同様溶出の増加することを確認した。

牛乳や発酵乳の省令改正にあたり、ポリエチレン、ポリスチレン、離用塗料などの規格について再検討を

行い、省令改正資料を作成した。

6. 着色料に関する研究

単離、精製した付随色素につき、高速液体クロマトグラフィーを応用しての分離、定量に関する研究を行った。強アニオン交換カラム Zipax SAX を用い、種々な条件下での検討を行ったが食用青色1号（B1）と付随色素 B1-B, B1-C の分離は困難であった。しかし、Sorbax ODS カラムを用いる場合、第1液に0.5% 炭酸アンモニウム溶液、第2液メチルアルコール、グラジエント速度 1~5%/min. で第2液を 40~100% とする場合、 $B1 < B1-C < B1-B$ の順で3者は良好な分離を示した。TLC によって単離、精製した B1（1,000 ppm）に付随色素を添加した場合の回収率は添加レベル 10~100 ppm（すなわち 1~10%）で B1-B 95.83~103.30%, B1-C 92.67~105.42% であった。

7. 畜産食品に含まれる合成抗菌剤検査法の作成

飼料添加物として指定されている合成抗菌剤のうち、ナイカルバジンについて、鶏肉中の残留分析法を確立した（→誌上発表 51）。

国際協力事業団（JICA）の外国医療援助の1プロジェクト「タイ国地域保健活動の向上計画」にもとずき、昭和53年8月より1カ年間、石綿章技官が派遣エキスパートとしてタイ国に出張した。また、同じく同計画により、タイ国医科学局食品分析研究所食品分析化学科長 Mrs. Chaweewon Halilamian が、昭和53年4月より3カ月間、当部において研修を実施した。

衛生微生物部

部長 倉 田 浩

概要 部内の人員、設備などで特に新しい事項はなかった。試験研究事項に関しては、ほぼ前年度に引続きの問題をとりあげているが、新しい課題としては、科学技術庁の特調費による総合研究として「動物における微生物叢の役割に関する研究」の1分担課題として消化管微生物叢の化学物質代謝機能に関する研究が認められ、向う3年間に亘って実験を開始する運びになった。また医薬品関係では、原子力予算により「放射線照射による医薬品の微生物汚染防止に関する研究」が新たに承認された。過去5カ年継続で進めてきた医薬品、化粧品、化粧品の微生物汚染調査とその規格基準の設定に関する研究は終了し、その概要は、本衛生試報96号（昭和53年）に総説としてまとめて報告した。保存、殺菌料などの使用基準の再検討に関するプロジェクト研究は、本年度で5年目であるが、引続き研究が進めら

れている。

国際協力事業団 (JICA) のタイ国医療援助のプロジェクト「タイ国地域保健活動の向上計画」に関係する当所の協力事業として、昨年度は同国医学研究所の食品分析部長 Achara Meevasana 女史の受け入れを行ったが、本年は、同研究所同部の微生物科員 Tanyalak Ninbodee 氏を 3 月～10 月まで当部において研修、見学の目的において受け入れを行った。また 4 月～7 月にかけての 3 カ月間に、同研究所同部微生物科長 Busara Varcedee 博士、同部食品分析化学科長 Chaweewon Hamilamian 女史が主として食品添加部と当部において研修、見学などを目的に滞在され、所期の目的を果して帰国された。

業務成績

1. 国家検定 ブドウ糖、リンゲル、インシュリン、ホルモンなど計 1,548 件 (細菌・真菌試験それぞれ 774 検体) の無菌試験を行ったが不合格品はなかった。避妊薬 27 件の殺精試験でも不合格品を認めていない。

2. 輸出検査

腸線縫合糸計 110 件の無菌試験を行ったが、真菌の検出で 1 件が不適と認められた。

3. 輸入食品検査 家畜肉、冷凍卵白、冷凍魚介類、Beef extract など 615 件の細菌試験を行ったが、不適率は 12.5% で、Beef extract に不適品が多かった。真菌検査は本年度は行っていない。

4. 一斉収去試験 点眼薬 149 件の細菌、真菌試験 (合計 298 件) を実施したが細菌試験に 1 件の不適品が認められた。

研究業績

1. 放射線照射による医薬品、化粧品品の微生物汚染防止に関する研究

厚生省審査課の要望課題であった 5 カ年継続した医薬品および化粧品品の衛生微生物学的研究が昨年度終了し、その成績の概要は衛生試報第 96 号 (昭和 53 年) に総説にまとめて報告した。本年度からこれに代わって、医薬品等の放射線照射による微生物汚染防止に関する実験的研究を原子力予算によって開始することになった。

2. 医薬品・化粧品の防腐・殺菌剤の効果に関する研究

近年、チメロサルなどの水銀系殺菌剤が使用できなくなったのでそれに代わるべき有効かつ安全な防腐・殺菌剤の開発利用が急がれている。現在適用されている製剤の再検討と新たに合成されている有望なる製剤について各種微生物の抗菌性、適正使用濃度など

の実験を行っている。

3. 医療用具の滅菌ならびに無菌試験法に関する研究

人工腎臓用ダイアライザーの放射滅菌の効果に関する実験を継続しているが、その他の人工臓器、注射、輸液セットなどの新規な製品に対する無菌試験法の検討と開発を行っている。

4. 大腸菌変異株の性格とその応用に関する研究

ストレプトマイシン依存科とトリプトファン要求性の大腸菌の温度感受性に関する研究を行っている (→学会発表 27)。

5. 酵母菌の衛生微生物としての位置づけに関する研究

ヒト、動物、および食品などから検出される酵母の種属とその検出頻度、分布などに関する調査研究を進め、ヒトの健康障害におよぼす影響を解明する目的での研究が新しく手がけられ、現在では主として食品汚染酵母の同定とその生理活性の検討を行いつつある (→誌上発表 52, 53)。

6. 食品の衛生微生物学的研究

i) 防菌剤、保存料などの使用基準の再点検

本年度は、特にかまぼこ、ちくお漂白および保存性に対する過酸化水素の有効性についての再検討を行った。

ii) 液卵、凍結卵等の細菌学的規格基準設定に関する基準的研究 (→誌上発表 54)。

昨年度に引続き調査を進めたところ、未殺菌卵中の細菌汚染が夏場を中心に高くなること理由は、原料卵が工場に搬入されるまでの期間が最も汚染の危険にさらされるためであることが判明した。そこで、液卵の低温殺菌を厳重にすると共に養鶏場からの新鮮卵 (2 週間以内) の使用を徹底することなどが対策として考えられた。

iii) *Bacillus cereus* の生態学的研究

B. cereus の食品中の分布と毒素産生性に関する研究を進め、本年度は、型別血清の完成を目標に、これと毒素産生性との関係を明白にする。

iv) 生カキの微生物叢に関する生態学的研究

カキ食中毒下痢便由来の大腸菌の血清型別と毒素原性に関する追究を進めている (→誌上発表 55)。

v) サルモネラに関する研究

輸入食品より検出されたサルモネラ菌 77 株の血清型別を行い、62 株は 9 種の血清型に分かれ、*S. typhimurium*, *S. java*, *S. heidelberg* が高頻度に検出された。これとは別に生食用の馬肉のサルモネラ汚染の実体を調査したが、汚染は極めて低率であった。

vi) 腸管内微生物の代謝に関する研究

硝酸ナトリウム投与サル胃内における硝酸、亜硝酸イオンの消毒と微生物叢との関連について実験的研究を行い、胃内容物の pH と胃内 NO_2^- 生成量との間には相関が認められ、特に嫌気性硝酸塩還元菌の関与が著明であることをつきとめた (→学会発表 28)。

一方、先に動物腸管由来の $\text{CHSN}_a \rightarrow \text{CHA}$ 変換菌の分離株を通常および無菌マウスに経口投与し、腸内での定着性と CHA 変換性を確かめた (→誌上発表 56, 学会発表 29)。

vii) 食品中の有害真菌に関する研究

ステリグマトシスチン産生性のケトミウム属、トリコセシン系マイコトキシン産生性の各種 *Fusarium* 属菌の species と毒素産生性の関連を究明する研究が行われた (→誌上発表 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 学会発表 30, 31, 32, 33)。

また、主としてムギ類から検出された *Helminthosporium* 属菌 (完全世代 *Drechslera*) などのマイコトキシン産生性を検討する目的で、先ずそれらの菌株の種属の確認を行っている。また *Aspergillus ochraceus* よりオクラトキシン-A を製造するための菌株の選定、培養条件などの検討を進めた (→学会発表 34, 35)。

マヨネーズ、ドレッシング、マーガリンなどの微生物学的規格基準設定の基礎資料を得るべく真菌試験を行った。

7. 医薬品汚染真菌に関する試験研究

自動ラジオメトリーによる真菌数測定の評価を行い、生薬入り風邪薬、胃腸薬、外用液剤(点眼耳鼻薬)など 45 検体の真菌調査を行った。

8. 真菌の分類と同定に関する研究

東南アジア土壌から分離した *Echinopodospora effusa* ほかに 4 種の子のう菌の同定と記載を行った (→誌上発表 65)。

9. 医真菌に関する研究

眼炎を起因する *Paecilomyces lilacinus* の菌学的研究ならびに喘息患者の環境下における空中真菌の分布調査を行った (→誌上発表 66, 学会発表 36, 37, 38)。

医 化 学 部

部 長 山 羽 力

業務成績

ビタミンの規格・試験法に関する審査を 10 件行った。

研究業績

1. 食品添加物の代謝に関する研究 (厚生省環境衛生局行政研究)

前年度に引き続き着色料、酸化防止剤、保存料等の安全性評価に対する基礎データとして、代謝ならびに生化学的研究を行った。

i) トリフェニルメタン系食用色素の代謝 (→誌上発表 67)

^3H でラベルした緑色 3 号をラットに経口投与し、既に発癌性が認められた紫色 1 号 (使用禁止) の場合の腫瘍発生部位近傍の組織を中心に、放射能の分布および半減期について比較検討を行った。

ii) BHA の代謝

^3H でラベルした BHA をラットに経口投与し、肝、腎、血漿、尿中の代謝産物 (硫酸およびグルクロン酸抱合体) の微量分析を行い、未変化体とこれら代謝産物の分布量を比較した。

iii) ジフェニルの代謝 (環境衛生局へ報告)

^{14}C でラベルしたジフェニルをラット、マウスの肝ミクロゾーム系とインキュベートし、その代謝過程で起こる生体成分との結合性について検討した。

iv) メタ重亜硫酸カリウムの代謝 (→学会発表 39) (環境衛生局へ報告)

ラットの肝分離細胞系を用い、細胞レベルでの毒性、酸化能、各種脱水素酵素活性におよぼす影響等を検討した。

v) 没食子酸プロピルの代謝

vi) と同様、ラット肝分離細胞系を用い、その細胞毒性、代謝産物の検索を行うとともに、腸内細菌による代謝を調べ、宿主での代謝系路への関与について検討した。

2. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究 (厚生省環境衛生局行政研究)

前年に引き続き家庭用品に含まれる化学物質の安全性評価に対する基礎データを得るため、可塑剤、難燃剤、染色助剤等の代謝ならびに生化学的研究を行った。

i) フタル酸エステル系可塑剤の代謝 (環境衛生局へ報告)

フタル酸ジヘプタール (DHP) の主成分である di-isooheptyl phthalate のラット尿および胆汁中の代謝物について、さらに詳細な検討を行った。

ii) アジピン酸エステル系可塑剤の代謝

di-2-ethylhexyl adipate を始めとする一連のアジピン酸エステルについて、その酵素的加水分解を比較検討した。

iii) リン酸エステル系可塑剤の代謝 (環境衛生局へ報告)

前年に引き続きリン酸トリクレジル (TCP) の尿中代謝物について、さらに詳細に検討を行った。

iv) 染色助剤の代謝

^{14}C でラベルした 1, 2, 4-トリクロロベンゼンを合成し、ラットに経口投与し、その吸収、排泄、分布の検討を行った。一方、本化合物の腸内細菌による脱クロル化を中心に、宿主代謝に対する腸内菌叢の関与を検討した。

v) 難燃剤の代謝

^{14}C でラベルした tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate (TRIS-BP), bis (2, 3-dibromopropyl) phosphate, tris (1, 3-dichloropropyl) phosphate を合成した。TRIS-BP についてはラットに経口投与し、その吸収、排泄、分布について検討を行った。

3. N-ニトロソ尿素誘導体の生化学的研究

i) 1, 1'-ethylene (1-nitroso-urea) (EBNU) の生化学的研究 (→誌上発表 68, 学会発表 40)。

尿素炭素およびエチレン炭素を ^{14}C でラベルした EBNU の *in vitro* での L-1210 細胞ならびに各種生体高分子への結合性について検討した。また尿素炭素およびアルキル基を ^{14}C でラベルした MNU, ENU, PNU などのモノ-アルキル-N-ニトロソ尿素を合成し、*in vitro* での生体高分子との結合について、EBNU の場合と比較検討を行った。

ii) 1-propyl-1-nitroso-urea の代謝研究 (文部省がん研究)

[n-propyl-1- ^{14}C]-1-ニトロソ尿素を妊娠末期のラットに経口投与し、マクロオートラジオグラフィにより臓器分布を追跡し、母体と胎仔の濃度は短時間で均一になり、血液脳関門はみとめられないことがわかった。

4. 放射性腎診断薬に関する研究 (→学会発表 45)

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -標識ジメルカプトコハク酸のラセミ体を合成し、動物実験につづいて臨床実験を行い、従来使われているメソ体と同じように極めてすぐれた診断薬であることが明らかになった。臨床例はすでに 180 例以上 (東京慈恵会医科大学泌尿器科) に達していて、現在も臨床実験は継続中である。

5. その他

i) シクロヘキシルアミン (CHA) の代謝

サイクラミン酸の代謝産物である CHA がウサギの腸内細菌により嫌氣的に脱アミノされることを明らかにした (→誌上発表 69)。一方、ウサギ肝ミクロゾームによる CHA および類縁化合物の好氣的脱アミノ機

構について検討した (→誌上発表 70)。

ii) 合成洗剤の代謝 (→誌上発表 71)

既に行政報告を済ませた高級アルコール系洗剤であるオクタデシル硫酸ナトリウムのラットによる吸収、排泄、分布、尿中代謝物の同定について研究のまとめを行った。

安全性生物試験研究センター

センター長 大 森 義 仁

昭和53年1月1日、本センターが発足したが、本所における生物学的安全性研究の進歩と発展、日本薬理学会を中心にした我国の毒性学の発達は池田先生に負うところ多大なものがあり、本センターの設立も先生の20年来の構想が実現したものであるが、7月1日付で池田良雄初代センター長は30年にわたる薬理部長、毒性部長としての時期を含めて多数の業績を挙げられた後退官された。

昭和53年度においても、人員増が進むとともに新庁舎での動物実験も円滑に進行している。本年度にセンター各部で行われた業務は、医薬品、食品、それらの添加物や汚染物、化粧品、食中毒検体、医療用具、家庭用品に使用される諸化学物質、既存化学物質、生体内で生成する、または合成によって得られた発がん物質など広い対象にわたる安全性試験・研究であり、解剖、組織、生理、生化学、微生物学的手法を基礎にした各種手法を駆使して形態・機能各面からの安全性追及が行われている。

本センターの業務として、国家検定、厚生省薬務局、環境衛生局の依託研究、厚生省がん特別研究、文部省がん特別研究、文部省特定研究、環境庁、科学技術庁よりの依託研究、原子力研究や特別研究調整費による諸研究など他省庁よりの研究も分担しており、これらの試験研究においては、所内各部との共同によって推進されるものも増加の傾向がみられ、独自の基礎研究も行われ、センターの業務の充実が努力が続けられている。

新しい機器の導入も52年以後さらに充実がみられ、定量の微量化、自動化、検討項目の拡大に貢献しており、小型コンピューターの利用も著しく増加し、成績の解析、保存の能率化に役立っている。

毒 性 部

部 長 戸 部 満寿夫

概要 53年3月新庁舎へ移転後、庁舎内の整備にかなりの時日を要し、動物実験の新たな開始は8月に持越された。

4月には今や毒性試験には不可欠の機器となった感のある生化学的検査用の自動分析機が入り、毒性評価上で屢々問題となる血清生化学的検査値の基礎的見直しを含めて、その機械を主武器とする新しい機構が活動を開始した。また、54年1月には、血液有形成分の数量を自動測定するコールター SP も入り、毒性試験での血液検査に係わる大武器が揃った。

54年4月から1年間の予定でパングラデシュの原子力委員会所属の Matin, Hossain の両氏が照射食品の毒性試験研修のため、IAEA フェローの資格で当部に参加した。

年間を通じて国の内外から数多くの訪問者を迎え、沢山の讃辞を頂いた。その評価を永く維持したいものである。

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)

THC Tetrahydrocannabinol), DMT および DET について、diazepam 等の抗うつ薬との併用効果を、ウサギの体温を指標として検討した (薬務局へ報告)。

ii) 医薬品添加物の毒性に関する研究

ジメチルアセタミドおよび塩化ベンザルコニウムの経皮慢性毒性、ラウロマクロゴールの経皮亜急性毒性およびチモールのウサギ眼粘膜刺激試験を継続して実施した。また、本年度からセトマクロゴールの急性毒性およびナトリウム EDTA の急性および亜急性毒性試験を行った。

iii) 注射剤の安全性に関する研究 (薬務局委託研究)

厚生省による「注射剤の局所障害性に関する試験法」基準作成に関連する研究で、昭和49年度以来継続してきたが本年度で終了した (薬務局へ報告)。

iv) 輸液パックの安全性に関する研究 (薬務局委託研究)

薬品部、薬理部、病理部との共同研究 (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)
赤色 201, 213, 220, 221 号および黄色 204, 205 号について、主として慢性毒性試験を継続して行った。

3. 照射食品の安全性に関する研究 (原子力研究)

i) 照射米のサルによる長期毒性試験、マウスによる世代および催奇形性試験およびマウスによる発がん性試験

ii) 照射かまぼこのラットによる慢性毒性およびマウスによる慢性毒性、世代および催奇形性試験

iii) 照射ウィンナーソーセージのサルによる長期毒性試験

iv) 照射みかんのマウスによる慢性毒性、世代および催奇形性試験、ラットによる慢性毒性試験およびサルによる長期毒性試験

4. 食品添加物

i) 食品赤色 102 号の催奇形性、慢性毒性および発がん性に関する研究

ii) 着色料の相乗毒性に関する研究

赤色 3 号と 106 号の相乗毒性をラットで検索し、病理検査を行った。

iii) デヒドロ酢酸とソルビン酸の相乗毒性に関する研究

ラットを用いて経口急性毒性による相乗効果を検索した。次いで亜急性試験を実施中。

5. 家庭用品

柔軟剤のソルビタンモノステアレートおよびナトリウムアルキルサルフェイトについて催奇形性試験を、また蛍光増白剤の FBA 24, 52, 90, 162-1 および 225 の経皮慢性ならびに発がん性試験を実施した (環境衛生局へ報告)。

ゴム加硫促進剤のメルカプトベンゾチアゾールおよびジフェニルグアニジンについて経口慢性毒性試験を継続して行い、また新規に防炎剤のトリス (2,3-ジクロロプロピル) ホスフェイトの急性毒性試験、ビス (2,3-ジプロモプロピル) ホスフェイトの急性・慢性毒性および催奇形性試験を開始した。

6. 既存化学物質

既存化学物質の毒性に関する研究 (薬務局行政研究および委託研究)

ジイソプロピルナフタレン、ドデカクロロドデカヒドロジメタノジベンゾシクロオクテン、スチリルキシレン、ヘキサクロロベンゼン、2,4,6-トリプロモフェニル-2-メチル-2,3-ジプロモプロピルエーテルおよびトリエタノールアミンについて毒性試験を実施している。

7. 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)

ii) PCB の生体機能におよぼす影響に関する研究 (環境庁委託研究) (→学会発表 49)

8. その他

毒性試験成績に関する研究空間の差を評価する目的で欧州共同体 (EC) が企画した急性毒性試験の同時実施に参加し、unknown な 5 物質についてラットによる経口実験を実施した。(事務局へ報告)

また、毒性試験で一般に実施される血清生化学的検査の基礎的な研究およびラットでの制限食の影響および腎の自然発生腫瘍に関する研究を自主的に行った (→学会発表 46, 48)。

薬 理 部

部 長 大 森 義 仁

概要 昭和51年度より増加に転じたブドウ糖注射液の国家検定件数はその後も増加傾向をたどっているが、リンゲル液に関して大きな変動はなかった。

本年度より文部省特定研究として発足したゲッチングンミニブタのバイオメディカル研究への有用性に関する研究に実験動物中央研究所、癌研究所、東大医学部内科と共同で参加し、薬理的検討を開始した。また、東京医科歯科大学とプラスチック材質のガス滅菌とその残留に伴う血液におよぼす障害につき療品部とともに共同実験を行った。従来からの他大学との協同研究は継続中である。

新しい機器として、体温自動記録装置、行動測定装置その他を整備した。

ミシシッピー大学メディカルセンターに留学中の小野田主任研究官は、本年4月に帰国し、中枢薬理研究室長に任命され、かわって同室藤森親之助主任研究官が同センター薬理・毒性研究室に留学のため4月に出発した。

昨年度、当部は4室構成が認められ、最近各室の移転も終り、53年4月に九大薬学卒修士井上和秀技官ならびに東大薬学卒修士川西徹技官がそれぞれ末梢薬理と生化学薬理研究室に採用され業務を分担することとなった。また、54年4月には東京医大薬理学教室遠藤任彦講師が中枢薬理研究室主任研究官として採用された。

業務成績

国家検定 ブドウ糖注射液 615 件、リンゲル液 9 件を処理したが、ブドウ糖注射液 1 検体が不適と判定さ

れた。

研究業績

1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) 医薬品の相互作用と薬理効果に関する研究

特別研究の一環として、向精神薬、フェリリン系下熱鎮痛薬、非ステロイド系抗炎症薬につき併用時の薬理作用の変化を安全性の面から検討した (特別研究報告)。

ii) 医薬品添加物の一般薬理学的研究

造影剤などの安定剤として利用される EDTA ナトリウム塩の中樞神経系、循環・呼吸・血液系および交感神経系への作用につき *in vivo*, *in vitro* 試験による検討を加えた (厚生省薬務局報告)。

iii) 薬物性腎障害の発生機序に関する研究

フェニルフタゾンを反復経口投与による腎障害に伴う各種尿中酵素活性の変動を生化学的に電顕を用いて組織学的に検討した (厚生省薬務局報告)。

iv) 注射液中の微粒子の血液凝固におよぼす影響について

薬品部で DEHP 浮遊液を作成しウサギに静注後の凝固に関連する諸パラメタにつき検討を加えた (厚生省薬務局報告)。

v) 注射剤の安全性に関する研究

注射剤の局所障害に関する基準を検討する一環として各種医薬品とその添加物について溶血性を指標として検索を行った (厚生省薬務局報告)。

vi) PCB の生体機能におよぼす影響に関する研究

PCB を胎仔期・新生仔期にラットに投与した際の発達過程における運動機能、行動薬理、肝薬物代謝酵素活性等の変化に検討を加えた (環境庁報告)。

2. 医療用具の安全性に関する研究

ディスポーザブル医療用具に残留するエチレンオキシド (EO) とその反応生成物の溶血性につき検討を加えた (厚生省薬務局報告)。

3. 医薬品・食品添加物等の後世代におよぼす影響に関する研究

i) ラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性の測定法の研究

アイソトープを利用して新たな微量測定法を開発し、誘導剤により胎生期後期の活性を測定し、誘導も起こることを確認した (→学会発表 4)。

ii) 食品添加物の分布・胎仔移行と次世代におよぼす影響に関する研究。食用赤色 106 号についての研究 (→学会発表 53)。

iii) トリス (2,3-ジブロムプロピル) リン酸塩のラット胎仔・新生仔におよぼす影響に関する研究

妊娠期投与による母体および次世代におよぼす催奇形性と行動薬理的検討を行った（厚生省環境衛生局報告）。

iv) ステロイドによる胎仔の男性化作用に関する研究

テストステロンおよびその代謝物によるメス胎仔の男性化の力価を泌尿・生殖器の形態変化から顕微鏡下に計測し、その活性体を検索した（→誌上発表 73）。

v) 化学物質毒性簡易検出法の研究

妊娠周辺期への薬物投与による胎仔の男性化に伴う次世代の繁殖能、性周期、行動ならびに肝薬物代謝酵素活性、血中ホルモンの動態から、適切なパラメータの選定について検討した（科学技術庁研究調整局報告）。

4. N-ニトロソ化合物に関する薬理学的研究

医薬品の *in vivo* におけるニトロソ化について検討を加え、さらにそのニトロソ体について生体への諸影響を追及した。

i) アミノピリンと亜硝酸による研究（厚生省がん研究報告、→学会発表 51）。

ii) ニトロソ化合物生成に及ぼす医薬品・食品添加物の影響に関する検討（→学会発表 52）

iii) 各種シアルキルニトロソアミン類投与と肝・血清酵素活性にみられる種差（→学会発表 50）

iv) シアルキルニトロソアミン類の肝における代謝的活性化におよぼすアルキル側鎖の影響（文部省がん特別研究報告）。

5. 薬理学研究における動物種差に関する研究

多くの動物種間の薬物に対する薬理反応は必ずしも同一ではなく、ブタは肝の代謝能においてヒトにもっとも類似した反応を示すと報告されているが大動物のため、この面での研究が少なかった。本邦においてもミニブタが開発され、本研究は各種薬物に対する反応性を他動物種と比較して検討し、実験動物としての有用性も検討することを目的とするが、バルビツール酸誘導体に対する肝酵素活性の誘導反応はきわめて良好であることが認められた（文部省特定研究）。

病 理 部

部 長 小田嶋 成 和

概要 昨年度来の研究業務を継続するとともに、合成化学研究部、薬品部、食品添加物部、変異原性部等と協力し、文部省がん特別研究班の一員として活動するとともに、厚生省がん助成金による指定研究「突然変異性物質の動物発癌テストに関する研究」班の中心的

役割を果たした。

一方、昭和54年2月に一般病理研究室に東北大学医学部から小久保武君が主任研究官として着任した。

研究業績

1. 実験動物の自然発生腫瘍に関する研究〔文部省がん特別研究(1)〕

呑竜、ウイスター、フィッシャー系ラットの長期飼育中に発生する腫瘍を病理組織学的に検索した。

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(1)〕

各種ニトロソ化合物（ニトロソ尿素、ニトロソウレア、ニトロソアミン等の誘導体）をラットに長期間経口投与し、発癌性について病理学的検索を行った（→誌上発表 74, 75, 学会発表 56, 62, 63, 64, 65）

3. 食品添加物、農薬、医療用材料等の安全性に関する研究

i) 亜硝酸塩、硝酸塩の慢性毒および癌原性の研究（厚生省依頼）

ii) 医療用材料の癌原性に関する研究（療品部と共同研究）

iii) チラムの慢性毒性および癌原性の研究（厚生省がん特別研究）

iv) 臭素酸ナトリウムの慢性毒性および癌原性の研究（厚生省がん特別研究）

v) カラメル慢性毒性および癌原性の研究（厚生省がん特別研究）

vi) 次亜塩素酸ソーダーの慢性毒性および癌原性の研究（厚生省がん特別研究）

vii) 魚粉と亜硝酸の併用投与による発癌性の研究

4. 化学物質の癌原性閾値に関する研究

i) エチルニトロソ尿素の様に強力な発癌性物質に発癌量の閾値が有るか否かを検討する目的で、その低用量を長期間投与し、病理学的検索を行う。

5. 実験動物による発癌性試験法の開発に関する研究〔文部省がん特別研究(1)〕

i) 新生仔投与法に関する研究

新生仔マウス、ラットの皮下に各種化合物を投与し、腫瘍の発生の有無を病理学的に検索した。

ii) 経胎盤に関する研究

各種化合物を妊娠ラットに投与し、出産後の個体に腫瘍が発生するか否かについて検索した。

6. 癌の動物実験モデル確立に関する研究

各種臓器の癌の原因、発生機構を解明し、それ等の動物モデルを確立する。

i) 胃癌発生に関する実験的研究（→学会発表 58, 59, 60）

ii) 肝癌発生に関する実験的研究 (一学会発表 57)

7. 器管培養法による発癌の実験的研究

器管培養法による発癌実験における役割を検討する目的で、組織を *in vitro* で発癌剤で処理し動物に移植して病理学的検索を行う (一学会発表 61)。

8. 白血病の発生機序に関する研究

化学物質の投与により誘発される白血病をモデルとし白血病の発生機序を解明する (一誌上発表 77, 学会発表 65)。

9. 可移植性の細胞病理学的研究

i) 可移植性白血病の増殖、浸潤および転移に関する研究 [文部省がん特別研究(1)]

種々の条件下に腫瘍細胞を移植し、体内における増殖、浸潤、転移の状態を観察した (一誌上発表 78)。

ii) 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(1)]

合成化学研究部で合成された各種化合物について、第一次および第二次スクリーニングを行い、それらの制癌性について検索した (一誌上発表 1)。

iii) 実験胃癌系移植腫瘍の特性に関する研究

実験胃癌由来の移植腫瘍の特性を病理学的、生化学的に検索する。

変 異 原 生 部

部 長 石 館 基

概要 当部の新設初年度に当り、細胞変異研究室 (部長が室長を兼任, 研究員 3 名) および微生物変異研究室 (吉川邦衛室長, 研究員 1 名) における試験研究体制の確立ならびにそれに伴う研究施設の充実をはかってきた。当部においては、微生物および哺乳動物細胞を用いる各種変異原性試験法の技術開発をはじめ、既に確立された試験法によって各種の生活関連諸物質についてスクリーニングを行ってきた。特に厚生省、文部省、科学技術庁の組織する各種研究班に所属し、各種分担研究に従事した。一方、所内においては、合成化学研究部、生薬部、食品部、食品添加物部、薬品部、病理部と共同実験を行った。

研究業績

1. 微生物による癌原物質のスクリーニング (厚生省がん研究班)

サルモネラ菌を用いるエームス法により計 23 種の生活関連物質の突然変異原性を検索した (一誌上発表 79)。

2. 培養細胞の染色体異常を指標とする癌原物質の

スクリーニング (厚生省がん研究班)

チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて、計 23 種類の生活関連物質の染色体異常誘発性の有無を検索した (一誌上発表 80)。

3. 化学物質毒性簡易試験法の開発研究 (科学技術庁研究班)

微生物および哺乳動物細胞を用いて、生活環境中に存在する種々の化学物質の変異原性の有無を検索し、その結果を定量的に評価するとともに、各種試験法相互の比較検討を行った (一誌上発表 81, 学会発表 67)。

4. 照射食品の変異原性に関する研究

照射タマネギおよびジャガイモの有機溶媒抽出物について、サルモネラ菌に対する変異原性、ならびに、チャイニーズ・ハムスター培養細胞による染色体異常誘発性の有無を検索した。

5. 変異原性試験における薬物代謝活性化法の開発

i) 突然変異試験法に用いられる S-9 の検索代謝活性化に用いられる肝ミクロソーム分画 (S-9) について、生化学的吟味を行い、動物種、あるいは誘導物質による変動とサルモネラ菌による変異原性試験結果との相関について吟味した (一学会発表 68, 69, 70)。

ii) 染色体異常誘発試験における代謝活性化の導入 (当所特別研究)

発癌性物質のうち、直接染色体異常を誘発しないものについて、微生物の場合と同様、S-9 分画を加えて検索し得る新しい方法を開発した (一誌上発表 82, 学会発表 71)。

6. 医薬品類の変異原性試験 (薬品部、合成化学研究部と共同)

麻薬・向精神薬を含む医薬品および関連化合物計 71 種類について、サルモネラ菌による変異原性、ならびに、チャイニーズ・ハムスター培養細胞による染色体異常誘発性について検索した (一誌上発表 83, 学会発表 72)。

7. 合成樹脂製器具・容器・包装添加剤の安全性に関する研究 (厚生省食品衛生調査)

アクリルニトリルおよびその類縁化合物につき、微生物による変異原性試験、ならびに哺乳動物細胞による細胞遺伝学的検索を行った (厚生省食品衛生局報告)。

8. 農薬およびそのニトロソ化体の変異原性試験 (食品添加物部と共同, 日米医学協力)

カルバメイト系およびトリアジン系農薬 9 種とそれらのニトロソ化体につき、微生物による変異原性試験ならびに、哺乳動物培養細胞による染色体異常および染色体異常および染色分体交換、誘発試験を行った

(日米医学協力研究会-突然変異-がん原部会報告, →学会発表 73)。

9. 重油分画の変異原性試験 (食品部と共同)

重油の種々分画成分について, チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常誘発性試験 (S-9法) を行った。

10. ラット白血病細胞の染色体分析 (病理部と共同文部省がん特別研究)

PNU および BNU で誘発された種々白血病細胞 (骨髓細胞) について, ギームザ・バンディング法による核型分析を行った。

11. 化学物質による細胞形質変換に関する研究 (文部省がん特別研究)

チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用い, 種々の発癌性物質による染色体変異細胞の分離および体細胞突然変異 (薬剤耐性) 誘導に関する基礎的研究を行った (→学会発表 74)。

12. スチレンの代謝的活性化と突然変異原性に関する研究 (東薬大と共同研究)

S9 mix において, スチレンから代謝されるスチレンオキシド以外の強力な変異活性中間体を想定した (→誌上発表 85, 86, 87)。

13. 変異原物質の細菌細胞内 DNA 損傷型に関する研究

3 種類の N-メチルカルバメイト系殺虫剤を用い, DNA 修復欠損株の殺菌効果および突然変異誘発効果から, これらの殺虫剤は細胞内 DNA 切断作用を示すことが明らかとなった (→誌上発表 84)。

附 属 図 書 館

館 長 石 居 昭 夫

昭和53年度における附属図書館の図書購入費は次のとおりである。() 内は52年度の図書購入費。

外国図書	174 万円 (45 万円)
外国雑誌	1,022 (1,042)
国内図書	70 (9)
国内雑誌	78 (75)
(製本費)	48 (0)
合 計	1,392 (1,171)

52年度までの数年間は図書購入費の増額がなかったが, 53年度は221万円増え, また円高の影響により従来値上りの傾向であった外国雑誌の購入費がやや減少したため, 一般図書の購入費を若干増加することができた。

図書委員会は4回開かれた。ここで検討された主な事項は, (1)図書購入費増額に伴い新しく購入する図書の選定, (2)ワーキンググループによる図書整理などに関することであった。なお昭和53年3月, 新図書館に移転してから, 一部の図書が未整理であったため, 図書委員会の中の一部メンバーがワーキンググループとして長期間その整理作業に当たった。この方たちには誌上をかりて厚く感謝したい。

その他, 国立衛生試験所各部所有図書目録1976年版の追補として1979年版を作成したこと, 日本薬学図書館協議会の関東地区における研究会 (昭和53年7月13日, 昭和54年3月22日) に参加したことなどがある。

昭和53年度における図書館への外来閲覧者は延 251 名, 外部からの文献依頼は 47 カ所, 200 件であった。

また, 日本科学技術情報センター (JICST) が昭和53年7月20日から公衆回線によるオンライン情報検索サービス (JOIS) を始めたことに伴い, 当所においてもタイプライター端末機を調査室に設置し, その利用を開始した。現在, JOIS による文献検索は MEDLARS, CAC, TOXLINE, JICST 理工学文献ファイル, クリアリングファイルの5種類のデータファイルが利用されている。JOIS 利用開始日 (8月1日) から昭和54年3月31日までの利用件数は104件であった。その中では TOXLINE が昭和54年2月1日に遅れてサービスが始まったこともあって, CAC の利用が最も多く, MEDLARS の利用は比較的低いという利用傾向がでている。

昭和53年度における調査室の活動の主なものとは次のとおりである。

1. 調査月報の発行

11 巻 4・5 号 (通巻 97 号) から 12 巻 1・2・3 号 (通巻 102 号) まで, 合計 6 冊を発行し, 所内および関連機関等に配布した。その収載された内容には, “FDA の新組織” “英国医薬品安全性委員会1977年年度報告から”, “フランスの医薬品情報バンク BIAM—1 年間の活動のまとめ—”, “英国の新しい毒物リスト” などがある。

2. WHO 国際医薬品モニターセンターに送付する副作用情報 (770062~770100) 35 件のインプット資料を作成した。

3. 所内および関連行政部門等の所外からの照会に応じて化学物質の情報提供を行った。テメホスのヒト毒性, オイルレッドの毒性, フレクスの毒性などがある。

4. 科学技術庁特別研究促進調整費による“化学物

質の毒性簡易試験法の開発に関する総合研究”の中，“毒性評価システムの研究”に関連して毒性情報検索システムに関する研究を分担した。

5. 医薬品情報の伝達媒体の改善に関する研究一特に医薬品添付文書を中心に—(厚生科学研究費)を分担した。

6. UNEP (国連環境計画) によって設けられた IRPTC (国際有害化学物質登録制度) のわが国におけるナショナルコレスポンデント(窓口)として当所が参加したことに伴い、IRPTC 本部(ジュネーブ)への資料の送付やその他の連絡業務を昭和54年2月から開始した。

なお、昭和53年6月1日付で銚子技官が附属図書館に配属された。

大 阪 支 所

支 所 長 井 上 哲 男

前支所長 朝比奈 晴 世

昭和53年10月1日付をもって朝比奈晴世支所長は多くの業績を残して退官され、井上哲男環境衛生化学部長が支所長に昇任された。

大阪支所における国家検定の処理件数は前年なみで、若干安定化の傾向を示しつつある。製品検査は前年の約 30% 増の件数を処理している。その他、一斉取締試験は前年の約 50% 増、輸入食品検査はほぼ前年なみであった。

その他特別行政試験(国内産収納あへん)、残留農薬実態調査が実施されている。

研究課題は、特別研究、厚生科学研究およびその他の研究について、以下の各部に述べるような内容のものが採りあげられている。

なお、従来からも大阪支所将来計画案なるものが検討されてはいたが、国立衛生試験所将来計画に関する本所の将来計画委員会の動きに呼応して、昨年10月以降に支所内研究委員会のメンバーが改組され、10 数回にわたる検討の結果、大阪支所将来計画(主として現状分析、問題点の抽出、将来への展望など)を作成の上、将来計画委員会に提出した。

したがって、各部の研究課題は、この大阪支所将来構想に基いて、今後も整理、集約されて、研究の実効を挙げることになっている。

以下に、各部の業務成績および研究業績について詳述する。

なお、国際協力事業団の依頼により、国際医療協力

の一環として、テュニジア国に対して、「医薬品の品質管理および検定に関する試験研究」について、昭和53年4月から4カ年間にわたり、プロジェクトベースの医療協力が実施される運びとなった。

昭和54年3月には、テュニジア国保健省薬務局長 Mr. Mangi Fourati および国立栄養研究所々長 Dr. Zouhair Kallal の両氏が高級研修員として、わが国に來訪した。

さらに、今後、一般研修員の受け入れ、わが国からの専門家派遣、機材の供与が行われることになっている。

(当プロジェクトについては、小職が実施協議チームの団長として、昭和52年11月テュニジア国と Record of Discussions の調印を行った経緯もあって記述することにしたものである。)

薬 品 部

部 長 持 田 研 秀

概要 医薬品の有効性と製剤技術の評価にかかわる規格・試験法として、固型製剤の溶出試験に関する課題を積極的に推進した。さらに、脂質単分子膜系を用いて向精神薬の構造と活性相関の相対的評価法を確立した。また、生体試料中の薬物および生理活性物質の超微量分析法として標識イムノアッセイの実用化を進めている。

業務成績

1. 国家検定 年度内の処理件数はブドウ糖注およびリンゲル液 1,227 件、やや安定化の傾向を示しているが、ブドウ糖注の容量別総量に対するプラスチック容器の占める比率は 500 ml 以上 22.5%, 20 ml 66.7% と依然増加がみられる。別にプロチオナミド原末 3 件、同錠 13 件の理化学試験を実施し、いずれも適品であった。

2. 一斉取締試験 脳・末梢血流改善剤シクランデレートを含むカプセル・錠剤 30 件につき、重量偏差および定量試験を実施し、全て適品であった。

3. 特別行政試験 国内産収納あへん 10 件(内訳、和歌山 2 件、岡山 8 件)のモルヒネ含量試験を実施した。

研究業績

1. “薬物と生体膜脂質との相互作用、京大薬学部と共同研究”ここ数年に亘って、両親媒的な性質をもつ phenothiazine 系向精神薬、diphenylmethane 系抗ヒスタミン剤および procain 系局所麻酔剤などの水

溶液中の溶存状態を明らかにしてきたが、これら会合性薬物の物性と薬物活性との相関を評価する指標として、いくつかの物理化学的特性を積極的に結びつけて考えようとする試みがなされた。その一環として、フェノチアジン・二塩酸塩水溶液中の導電率、塩酸フェノチアジン誘導体の水溶液中における酸-塩基平衡、フェノチアジン誘導体のジパルミトイルレシチン単分子膜への侵入（→誌上発表 88, 89, 90）、4種の局所麻酔薬の水溶液における会合体形成〔衛生試報, 97, 67, (1979)〕などがある。さらに、マイクロエマルジョン系を応用した脂肪消化力試験法の開発（→学会発表 77）、アラビアゴムの分子量測定の再検討（→学会発表 76）などに新しい技術の導入が図られた。

2. “薬物および生理活性物質の超微量分析法の開発”すでに、複雑な生体試料中の薬物や生理活性物質について、特異性の高い抗原抗体反応を応用した酵素およびスピン標識イムノアッセイを導入し、起炎症性レクチン、抗炎症性ステロイド剤の生体内挙動の解析に利用している。これらの標識イムノアッセイに共通する問題として、低交叉性の抗体を得ること、実用化を図るための生体試料中の妨害因子を除去することに重点をおいて研究が進められている（→学会発表 78）。

3. 第2次“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”最終年度にあたり、固型製剤の溶出試験に影響をおよぼす変動要因を中心に進められ、とくに、対象品目のジギタリス市販製剤の溶出特性には rotary basket 法, paddle 法を選定することが二元配置による分散分析の結果妥当であることがわかった。さらに、酸性溶出液による加水分解について動力学的解析により一次反応を示す酸触媒反応であった（衛生試報, 97, 226, 1979）。

4. “漢方製剤の薬剤学的研究”黄連中のアルカロイドと甘草中の glycyrrhizin の沈殿反応の薬剤学的意義づけを明らかにするために、berberine-glycyrrhizinate の水および熱水に対する溶解度、octanol-水に対する分配係数および摘出腸管への取り込みを検討した。

5. “医薬品添加物の分析化学的研究”スルホン酸塩の GC、脂肪族および芳香族スルホン酸塩は五塩化リンと反応させスルホニウムクロリドに変え、ついで水素化アルミニウムリチウムで還元し、揮発性チオール誘導体に収率良く変換し、比較的容易に GC 分析することが可能となった。

食 品 部

部長 慶 田 雅 洋

概要 昭和53年5月1日付で峯松陽子事務官が支所庶務課へ配置換えされた。

業務成績

1. 製品検査：タール色素 501 検体について試験を行った。食用黄色 4 号として申請されたもの 2 件が色素含量不足および塩化物・硫酸塩の過剰により不合格となった。昭和54年2月23日および27日、近畿管区行政監察局による行政監察が行われ、タール色素の製品検査を国が行わなければならない理由について質問があり、現行の試験法では副色素の判定などに高度の熟練を要し、個人の官能的判断に委ねられている部分が少なくないので引続き国が責任を以て行う必要がある旨、資料を添えて回答した。なお、現行の試験法は昭和34年の食品、添加物等の規格基準の設定以来ほとんど改訂されていないので、諸外国の例も参考にして、無色の中間生成物の規制をも折込むよう色素試験法などの全面的見直し作業が進行中である。

2. 輸入食品検査：本年度も厚生省食品衛生課の依頼により、神戸港（市谷幸久）、大阪港（鈴木功記）の食品衛生監視員の研修を行った（各2カ月）。

本年度は輸入食品の行政検査依頼は 443 検体、845 件に達した。検体数は前年度（542 検体）よりも少なかったが、件数は前年度（827 件）を越えている。1カ月に平均すると 70.4 件となるが、53年6月、12月および54年2月は検査量が 100 件を越えた。海空港別については、検体数、件数ともに門司港が最高であって、とくに件数では同港が全体の 56% を占めている。次に多かったのは神戸港で、検体数、件数がそれぞれ全体の約 33% と 20% を占めた。他の 5 港は合計で総件数の約 24% を占めるに過ぎなかった。四日市港、名古屋港および福岡空港からの検体の送付はなかった。

種類別では水産物が 150 検体、165 件で検体数の約 1/3 を占めた。韓国産塩蔵たらこ等の亜硝酸、合成着色料の試験（45 検体、57 件）、冷凍えび・塩蔵くらげのほう酸、亜硫酸の試験（59 検体、63 件）が主なものであった。しらすぼしの蛍光物質の問題は解決を次年度に持ち越した。つくだ煮原料魚のカードボード容器および包装紙の溶出試験を行った結果、クロセインオレンジまたはコンゴーレッドの溶出するものがあったが、ポリ袋に包んだ後、包装するように指導して解決

した。香港産プラスチック人形などについておもちゃまたはその原材料の規格の試験およびおもちゃの製造基準の試験を行った (35 検体, 287 件)。塩化ビニル製品でカドミウムの項で不合格になったものが 6 検体あった。インディアン人形の毛髪よりインジゴ染料が溶出したケース、ブロード髪の染料が溶出し、 KMnO_4 消費量および蒸発残留物が基準を超えたものがあった。毛髪を溶出試験の対象とすべきか否かについては今後慎重に検討して決定する必要がある。化学的合成品第一リン酸カルシウムが溶状の項で不合格となった。調べたところ、固結防止のために炭酸カルシウムを添加してあることがわかった。ブラジル産キャンデーから蛍光が検出され、追跡した結果、着色料として使用したグレープフレーバー中のアンスラニル酸メチルに由来することがわかった。高麗人参練茶には安息香酸がエステルなどの結合型で存在するので、保存料の試験によってしばしば検出されることがある。マヨネーズ、ドレッシング、はまぐりスープなどからの EDTA の検出を依頼され、イソタコホレスによる方法を開発した (→学会発表 85)。那覇より送付の検体でズルチンが検出されたもの (sweet cured prune) があった。ベルギー産ホワイトチョコレートから不許可着色料二酸化チタンを検出した (→誌上発表 105)。クラックリングキャンデー (ポップロック) 中の不許可酸味料アジピン酸の試験を行った。コチニールレーキに由来すると思われる色素も検出された。

3. 残留農薬実態調査：国内産品については 48 検体について実施した。内訳は市場調査がいちご (大阪)、きゃべつ (大阪)、大根 (大阪)、緑茶 (兵庫)、日本なし (兵庫) 各 6 検体、生産地調査が大根 (愛知 6)、緑茶 (高知 6；長崎 6) であった。試験項目は次のとおりである。

有機塩素剤 (6 種) : BHC (α , β , γ , δ 異性体), pp'-DDT (DDD, DDE を含む), ディルドリン (アルドリンを含む), エンドリン, ヘプタクロルおよびヘプタクロルエポキシド, ジコホール有機リン剤 (13 種) : EPN, クロルピリホス (ダズバン), クロルフェンピホス (CVP; E 体と Z 体), ジクロルボス (DDVP), ジメトエート, ダイアジノン, パラチオン, フェニトロチオン (スミチオン), フェンチオン (MPP), フェントエート (PAP), ホサロン (ルビトックス), マラチオン, ホレート

試験結果は昭和 54 年 2 月 7 日に厚生省食品化学課に報告した。

外国産品については、53 年度の追加送付分小麦 5 検体 (米国 2, カナダ 2, オーストラリア 1) の測定結

果を昭和 54 年 4 月 13 日に厚生省食品化学課に報告した。試験項目はヘプタクロルおよびヘプタクロルエポキシド, クロルダン, エンドスルファン (benzoepin) であった。53 年度分は大麦 2 (オーストラリア), そば 8 (カナダ 4, 米国 1, 中国 3), パイナップル 12 (フィリピン) 合計 22 検体について実施した。試験項目は前年度どおりである。ただし大麦だけはマラチオンを追加した。本年度は大麦 9 検体, そば 2 検体が未到着となった。試験は鈴木らの方法で行った [衛生試験, 96, 73 (1978)]。結果は 54 年 4 月 18 日に厚生省食品化学課に報告した。

4. 甜菜糖工場の希釈二酸化炭素 (炭酸飽和ガス) の実態調査：前年度の調査結果に基づいて試験法ならびに規格案を作成し、厚生省食品化学課に報告済であるが、純度試験中 3,4-ベンゾピレン (BAP) の項のみが保留になっていた。コークス炉による発生炉ガスを使用している甜菜糖工場を対象として、食品中の BAP の迅速・簡易測定法 [研究業績 1, ii) 参照] を適用して調査した。道内 8 工場 (北見, 道南, 芽室, 中斜里, 十勝清水, 士別, 美幌, 本別) で採取したダストサンプルについて試験した結果, 3 工場不検出, 5 工場から $0.007 \sim 1.571 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の BAP を検出した。なお、試験法を確立したのを契機に当部による実態調査は打ち切り、精糖工業会技術研究所に今後の継続調査を依頼し、残留レベルを下げるよう改善方を要望した。

研究業績

1. 食品中に含有される固有の有害成分に関する研究：有害物質研究班 (厚生省食品衛生調査委託研究；班長倉田浩) の一部として、ほう素 (ほう酸) および 3,4-ベンゾピレンを担当した。

i) ほう素 (ほう酸) : ほう素は天然に存在する微量元素であって、高等植物では必須元素の 1 つとなっている。天然にはほう酸またはその塩の形で存在することが多い。ほう酸は特に殺菌力があるというものではないが静菌作用を有することが知られており、フランスでは 1963 年までマーガリン等に使用が許可されていた。FDA ではほう酸とほう酸ナトリウムは間接添加物として接着剤、包装剤等に限って使用することが認められている。わが国ではほう酸はその毒性故に添加物として許可されたことはない。昭和 30 年代に水産ねり製品の防腐剤またはせんべい等の膨剤として違法使用されたことがあったがその後隠を潜めていた。然し最近、東南アジア産冷凍えびや塩蔵くらげに防腐効果を狙ってほう酸を使用する例が出て来たので、輸入食品監視の点からこれら食品のほう素のバックグラウ

ンド値を定める必要性に迫られた。そこでキチン質や多量の塩類を含む食品にも適用できるヘキサシオール法を開発し（→学会発表 80）、貝類、海藻類、魚類、淡水魚介類、食肉、野菜、果実、茶、ぶどう酒、ミネラルウォーター、はち蜜などについて調査した。ぶどう酒、海藻類について比較的高い値を得た（→学会発表 84）。

ii) 3,4-ベンゾピレン：食品中の本品の定量法は種々報告されているが、測定に長時間を要し操作も複雑である。本研究においては本品の衛生試験法における測定法（蛍光法）につき、抽出・精製行程を7段階に分け、各行程の精製効果について吟味し、不要のものを切捨て、迅速・簡易試験法を作成した。抽出剤には20% エーテル含有ヘキサンを用い、試料から磨砕抽出した。抽出液を濃縮することなく、脱水後直接活性化アルミナカラムにかけた。本法をきゃべつ、玉ねぎ、ほうれん草、のり、茶、削り節、しらすばしなどについて応用した。本品 20 ppb および 2 ppb 添加時の回収率はそれぞれ 79.5~93.8 および 52.7~80.6% で、検出限界は 0.2 ppb であった。すめ、しらすばし、煎茶およびのりよりそれぞれ最高 0.8、1.2、2.4 および 3.9 ppb の 3,4-ベンゾピレンを検出した（→学会発表 82）。

2. 輸入食品の検査法に関する研究（厚生省食品衛生調査委託研究、班長：相模女子大田辺弘也）：輸入食品は国産食品と異なり、原料、製造方法、法的規制が異なるため、国産食品のために定められた試験法を適用できない場合がある。特にわが国で使用が認められていない添加物の検査は重要な分野であるが、その中には検査法の確立していないものも少なくない。これらの試験法を設定し、輸入食品の品質を確保することを目的とする。本年度はアメリカでは許可しているがわが国で不許可の酸化防止剤第三級ブチルヒドロキノン (TBHQ)、金属封鎖剤 EDTA、酸味料アジピン酸の各種食品中の検出・定量法を検討し、確立した（→学会発表 83, 84）。また、食肉中の亜硝酸の測定法を微量化し、塩蔵たらこに適用しうる方法を設定した（→学会発表 79）。1978年8月にチーズに対するソルビン酸の使用が許可になったので、ガスクロマトグラフィーによる定量法を作成した（→誌上発表 98）。

3. 食品中の各種着色料の系統的分析法に関する研究：食品に使用されている許可、不許可の合成着色料および天然物着色料の系統的な分離・定量法を確立することを目的とする。緩和な条件下でできるセライトカラム法および迅速法としての液・液分配法によるクリンアップ法を確立した。現在、分離した各フラクシ

ョンの高速液体クロマトグラフィーによる定量条件および薄層クロマトグラフィーによる定性確認条件について検討中である（→学会発表 86, 87）。

4. 生活関連物質の微量分析新技術の開発研究（特別研究）：キレート剤 2-エチル-1,3-ヘキサシオールを使用する食品中のほう素の微量定量法（→学会発表 80）、乳酸脱水素酵素を使用する酵素法による牛乳および粉乳中の乳酸・乳酸塩含量の測定、ならびに等速電気泳動（イソコホレンス）の食品中の添加物の分析への応用；食品中の EDTA の分析（→学会発表 83, 84）の3テーマについて分担実施した。

5. 衛生試験法の作成および改訂に関する研究：当部では特殊食品試験法、乳・乳製品試験法、食品中の添加物の試験法および香粧品試験法について担当している。本年度は食品中の硝酸根を 2,4-キシレノールと反応させて 6-ニトロ-2,4-キシレノールとした後、FID-ガスクロマトグラフィーにより定量する方法をカドミウムカラム還元法に代わる迅速かつ無公害試験法としてチーズなどの試験法に追加する件（→誌上発表 94）について検討した。また、酸化防止剤 BHT の定量において、乳および乳製品、とくにバターの場合に回収率が上らない原因について追究し、残留する皮膜たん白質の妨害によるものであることを突止め、アンモニア処理することによって皮膜を破壊し、回収率を向上させることに成功した（→誌上発表 107）。

6. 食品添加物の規格・試験法に関する研究：焼ミョウバン、焼アンモニウムミョウバンの水不溶物の試験法の改正、ミョウバン、アンモニウムミョウバンの含量試験法の改正、アセト酢酸エチルの比重の変更、乳酸のシアン化物の試験法等について検討した。

薬理微生物部

部 長 加 納 晴三郎

概要 昨年11月に開かれた第54回日本薬理学会近畿部会を部会長として組織したが、予想以上の盛会となり、学会における支所の面目を新にすることができた。（昨年度の支所の特筆すべきことであった）

本年4月には永年勤続の三宅末子事務官が退職し、新に京大薬学部より尼寺敦子技官を迎えた。

本年度は厚生科学特別研究として発熱物質試験法に関する研究テーマが取上げられた。本所薬理部および当部が参加したが、この問題は当部の永年に亘る主要研究テーマであったため、研究グループに十分な貢献を果すことができた。

研究面では特筆すべき発展はみられなかったが、行政研究の基盤となるべき胎生薬理学に関する研究では、現在文部省特別研究班の一員として参加しており、研究者の意欲と実績が加えられ、次第に当部の主要研究テーマとして成長しつつある。

業務成績

国家検定業務であるブドウ糖注射液およびリンゲル注射液についての無菌試験および発熱物質試験の本年度の処理件数は総計 1,227 件に到した。しかし、不合格件数は皆無であった。

輸入食品の細菌検査業務は本年度は皆無であった。

研究業績

1. Pyrogen に関する研究は昨年度にひきつづき pyrogen の中核におけるレセプターの同定に終始した特筆すべき成果はえられなかった。傍証としての各種の pyrogen 様物質との反応性について確認した。

2. 胎生薬理学に関する研究は食品添加物、農薬および家庭用品などの催奇形性に関する基礎をなすもので現在文部省特別研究発生異常検討班の一員として参加し、薬物代謝酵素の胎仔毒性における意義に関する研究を分担し、併せて胎盤機能、とくにアルカリフォスファターゼと化骨形成異常との相関性についての研究が主である（→誌上発表 114, 学会発表 90）。また、妊娠ウサギに対する pyrogen の効果を検討した（→学会発表 97）。

3. Pyrogen の *in vitro* の検出方法として、近年急速に汎用されている Limulus test については、今後の方向を試験所として誤らぬよう充分考慮して研究を進めている。本年度は市販品の比較と反応阻害物質の一部を明らかにした。

その他、行政研究としては家庭用品として蛍光染料 FBA 269 および食品添加物としての *l*-エリスリトリンの催奇形性を検討したが、認めるべき毒性は検出されなかった。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 本 間 尚 治 郎

概要 昭和53年の融雪期は4月18日で前年より12日早く、耕起始は5月4日であった。農期間における気象の特長は高温少雨である。即ち5月から8月までの月平均気温が平年より2~3℃高く、特に7月は最高気温が月平均28.3℃となり当地方としては珍しい暑い夏であった。しかも6月、7月は雨が少なく畑は旱魃状態となり、この状態は8月中旬まで続いた。その

後は平年並となり10月に入って急激に気温が低下し10月13日初雪、11月2日には根雪となる。高温と早魃の影響はダイオウ、センキュウ、ケン、オウレン等に見られ特にダイオウは暑さのため枯死するものが続出した。これに対しミシマサイコは生育が比較的良好であった。

種子交換については入手した種苗は国内外より103件580種、配布は50件134種であった（春日部扱い分除く）。また本年交換用として採種したものは86種で、調製後、春日部薬用植物栽培試験場に送付した。

野生薬用植物の調査は名寄周辺ほか枝幸、増毛方面等道内13カ所にてシャク、チクセツニンジン、キハダ、チシマセンブリ、エゾノレンリソウ、バックク等13種について実施した。栽培指導は栽培期間を通じ一般見学者、栽培農家、関係研究機関、市町村関係者等に対する説明案内のほか栽培農家の現地指導や講習を実施した。

施設整備として、堆肥舎（約132m²）の新設および温室増築（約78m²）、ボイラーの更新、旧温室の整備を行った。

なお昭和54年4月1日付で澤井清道技官が当栽培試験場に採用になった。

研究業績

1. シャクヤクに関する試験（日本生薬学会北海道支部シャクヤク研究会にて発表（1979. 3. 16）

i) 本畑5年生（株分苗）の花色、花卉新別の比較
目的：本畑5年生の株分苗について花色、花卉数別と生育収量品質の関係を明らかにする。

内容：'73年秋に白一重、白八重、赤混合（一重、八重）の区分で定植したものを'78年秋に掘り上げ、生育収量を調査した結果、生育、収量ともに赤混合>白八重>白一重の傾向を示したが、根数のみは白八重が最も多く白一重は最少であった。

ii) 本畑5年生（株分苗）の草勢と生育収量品質について

目的：現在栽培されているシャクヤクには草勢の異なるものが混在しているが生育、収量、品質の優良な系統を育成するため草勢別に比較する。

内容：'73年秋に定植した本畑5年生（株分苗）について'78年に掘り上げ生育、収量を比較した。草勢は開花最盛期に草丈を測定して80cm以上を大株、79~60cmを中株、59~40cmを小株とし調査した結果、地上部の生育は大株>中株>小株の傾向は明確で、地下部の生育、収量も地上部と同様の傾向で1株当生根重は大株1.21kg、中株0.85kg、小株0.66kgで

あった。

iii) 本畑 5, 6 年生 (株分苗) の収穫期別生育, 収量と品質について

目的: 当地方における栽培法の改良。

内容: 本畑 5, 6 年のものについて収穫期を, I 8 月下旬秋掘り ('77. 8. 31), II 9 月中旬秋掘り ('77. 9. 14), III 10 月上旬秋掘り ('77. 10. 5), IV 5 月上旬春掘り ('77. 5. 4) の 4 区に分けて調査した結果, 収穫期が遅くなるに従い生育, 収量が増大し, 越年して春掘りするとやや低下する。このことから当地方におけるシャクヤクの収穫は気象条件なども考慮して 10 月上旬が適期と思われる。

2. トウキ

系統選抜

目的: 当地方における優良系統の育成

内容: ホッカイトウキは 3 代目, ヤマトトウキは 1 代目のものについて, A (純緑), B (緑に赤混), C (純赤), D (赤に緑混) の 4 区分にしたがって各系統, 各花序順位毎に採種調査した。系統の分布状況はホッカイトウキでは緑系 A (38%), B (39%) が大部分を占め, 赤系 C (2%), D (21%) は僅であり, ヤマトトウキでは B (60%), D (31%), A (9%) の順で C は皆無であった。採種種子も同様の傾向を示した。

3. ミシマサイコ

i) 種子検定, 発芽試験, 1 年生の生育収量。

目的: 当地方に適した系統を育成するために, 産地別種子ならびに当該産種子について種子検定, 発芽試験, 1 年生の生育収量を調査する。

内容: 種子島産 (I), 東京産 (II), 茨城産古種子 (III), 茨城産 (IV), 当該産 (V) の 5 種類のものについて調査した結果, 千粒重では II (1.8g), IV (1.8g) が最も重く I (1.3g) が最低であった。発芽率は II (65.3%) が最も高く, 最低は III (10.7%) で V は 13% であった。V や III の発芽が確認できたことは注目すべきことと思われる。1 年生の生育は地上部, 地下部ともに特に差異は認められなかった。乾根重は III (2.0g) が最高で I (1.1g) が最低であった。

ii) 2 年生生育収量

i) と同じ目的で前年度播種した産地別 (茨城, 京都, 種子島) のものについて掘り上げ調査した結果, 生育, 収量共に京都は茨城, 種子島より劣る傾向を示した。乾根重は茨城 (3.6g) が最高で京都 (2.2g) が最低, 種子島 (3.0g) は中間であった。種子は各区共に少量採種できた。

4. ハナトリカブト

i) 収穫年次による生育収量と品質

目的: 栽培法の改良

内容: '75 年定植した当該系のものについて, '78 年 10 月 20 日掘り上げ 3 年次の生育収量を調査, 1 年次, 2 年次のものと比較した。地上部の生育は草丈, 株張等年次が進むにつれて大きくなる傾向が顕著である。地下部では前者のような大差は認められないが地下重では地上重と同じ傾向が認められた。ブシの収量は 1 年次 (104.3g 生重) に対し, 2 年次 (448.4g) は約 4 倍に増加するが 3 年次 (452.3g) は 2 年次とほぼ同じであった。このことからハナトリカブトの栽培は収穫年次から考えると 2 年次収穫が有利のようである。

ii) 生育収量調査

目的: 栽培の適地, 栽培法の改良。

内容: 道協豊浦地区 (5 カ所), 大滝地区 (1 カ所) と道北名寄地区 (2 カ所) の 1 年生のハナトリカブトについて生育, 収量, 品質について調査した結果, 1 条植のものでは道北のものがブシの長さや径, 生重, 乾重, 数において道南のものより優り, 収量の多いことが判明した。道南における植付法 (1 条植, 2 条千鳥植, 5 条植) による差異については顕著な差異は認められなかった。結果については気象条件によるものか, 土壌条件 (道南は火山灰土壌, 道北は砂質壤土, 粘質壤土) によるものかさらに検討する必要がある。

5. オウレン

畑栽培 9 年生, 林間栽培 9 年生, 7 年生の生育収量

目的: 当地方における栽培法の確立

内容: 畑栽培では苗の大きさ別日覆の有無別に 9 年生のものについて, 林間栽培では 9 年生, 7 年生のものについて生育収量を調査した。日覆の有無については無日覆区は日覆区に比べて草丈, 株張はやや劣っていたが収量は大差がなく, 苗の大きさ別でも生育, 収量に差異はみられなかった。全般に株が老齢化して欠株が急激に多くなり各区共に欠株率は 50~60% になった。収量は 1 株当たり各区平均 10.3g であった。林間栽培のものは畑栽培に比べて生育が劣り収量も 7 年生のもの 2.1g, 9 年生のものは 2.9g であった。このことから畑栽培の場合は 5~6 年生で収穫するのが適当であり, 林間栽培では 10 年以上要するものと思われる。

6. ケシ

標準栽培

目的: 栽培技術ならびに種子保存。

内容: 一貫種はか 5 系統のケシについて栽培, 種子を保存する。本年の一貫種のアヘン収量は 30 m² 当 24.9g, モルヒネ含量 6.8% といづれも前年より少なかった。

7. ボタン

薬用種実生苗株分苗の生育開花調査

目的：当地方における栽培法の改良

内容：'75年9月に茨城県（大國氏）より入手定植した、実生1年苗（Ⅰ）、株分1年苗（Ⅱ）、株分4年苗（Ⅲ）の3年生および'77年秋に定植した公社系（国芸種）の1年生について生育調査を行った結果、各区共に前年より増大しⅠ＞Ⅱ＞Ⅲの傾向がみられた。定植後3年目で約半数の株が開花したがⅠが最高（78%）でⅢは最低（26%）であった。

8. キバナオウギ

i) 種子検定・発芽試験

目的：当地方における優良系統の育成

内容：株令の異なる當場産種子および他より導入したもの8種類のものについて種子検定、発芽試験の結果、千粒重は水谷氏より入手したもの（入手番号8202）が最高で6.8g、最低は52年当場2番口で5.5gであった。発芽率の最も高かったのは当場7年生で61.7%、最低は52年当場2番口で23.7%であった。発芽は全般に低いが老齢株より採種したものの方が若齢株のものより良好であることが判明した。

ii) 除草剤試験

目的：栽培法の改良

内容：2年生キバナオウギに対しニップ乳剤（200倍、100倍、50倍）を散布した場合いかなる影響をおよぼすかを調査した結果、生育収量において散布区の方が無散布対照区より良好なる傾向を示し、薬害は認められなかった。

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、ハカマオニゲシについては窒素施用量の相違が生育、収量におよぼす影響および葉枯病の原因菌の試験を、ハブソウについては多収性を持つ早、中、晩生系統の選抜育成を、ミシマサイコについては多収、良品質の品種育成の第一段階として目標とする選抜形質を決定するため各特性間の相関の調査を、それぞれ行った。このほかセンブリについて倍数体の育成を、ステビアについて優良系統の選抜を行った。ケンについては晩生種育成のための交配試験を引き続き実施し、さく果の切傷とアルカロイド含量の変化についての検討を薬品部と協力して行ったほか、施肥とさく果収量の関係を試験した。

種子交換は入手40件、延べ150種、配布80件、

延べ600種であった。なお、5栽培試験場共同の種子交換用リストの1979年版を作成し世界各国300カ所の関係機関に発送した。

昭和11年より当場に勤務された作業長清水源八技官が53年10月1日付で退職され、後任作業長には同日付をもって金子政次技官が発令された。

移転予定先の筑波薬用植物研究施設（仮称）については53年12月6日地鎮祭が行われ、研究本館ならびに付属棟の建設が54年11月完成を日途として開始された。なお、圃場の整備を現地谷田部町農協に委託して引続き行っているほか、春日部より薬木類約200本の移植を行った。

研究業績

1. ハカマオニゲシ

栽培法確立の基礎資料を得るため、窒素施用量の相違が生育、収量におよぼす影響についての試験および葉枯病についての試験を行った。

i) 窒素施用量試験

WG-1（西ドイツより入手した系統）を用い3年間にわたる圃場試験を行った結果、窒素施用量の相違による影響は苗条、生葉数に現われ、いずれも多窒素条件下で多かった。また茎数、開花数、さく果数も窒素多施用区で多く、さく果の長さや直径および平均一果重については区間に差は認められなかった。なお、多窒素条件の場合、病害による茎葉の萎縮、枯死あるいは未熟さく果の腐敗、枯死が多発したためアール当りのさく果収量は頭打ちの様相がみられた。

ii) 葉枯病の試験（東京農大植物病理研究室と共同研究）*Pseudomonas* 属（花卉分離細菌）*Erwinia* 属（茎部分離細菌）による病害2種については前年度同定を行ったが、その後茎葉が軟化腐敗する細菌病と葉緑から褐黒色に枯死する苗類病の発生を認め、後者の病原菌の性質を検討した。

罹病株は、葉緑が黄～褐～黒変し、葉脈間に発生する紫褐～黒色の斑点は拡大し、葉枯症状にいたる。分離培養した菌の胞子の形態および培養特性がケン葉枯病 *Dendrophion papaveris* (Sawada) Sawada の分生胞子世代とよく一致することから、本菌を *Dendrophion papaveris* (Sawada) Sawada と同定し、病名をハカマオニゲシ葉枯病と呼ぶこととした。

本病の防除に効果的な薬剤を検索するため、市販殺菌剤の抗菌力を室内および圃場で試験した結果、ポリカーバメート、マンネブ、TPN が優れ、キノン銅がこれにつぐことを認めた。茎、さく果の細菌病に対する防除効果もあわせて調査した結果では、ポリカーバメート剤がこれら細菌病の同時防除にもっとも有効と

認められた。

2. ハブソウ

多収性の早、中、晩生品種の育成のため、52年に供試した5系統より、開花始、一株収量および結莢率を対象として白花早生5、早生3、中生6、晩生4個体を選抜し、これらの開花始を調査した。その結果晩生は7月28～30日にモードをもつ分布を示したが、他の系統はバラツキが大きかった。

早、中、晩生の各系統について生育の規則性を調査した結果、早生では3葉と12葉に出葉転換点を認めた。個葉の寿命はいずれの場合も下位葉で長く、中位葉で短く、上位葉で再び長かった。生長は下位葉は緩慢で早くとまり、中位葉は早く期長も長く、上位葉は中位葉と同程度かややおそく期間は短い。開花は早生では播種後80日頃にはじまり、110日頃まで続く。密植の開花速度は疎植にくらべ後半やや遅くなる。1株当たり花数、莢数は疎植で多いが、着花帯一結莢帯は両栽植密度ともよく似ている。

3. センブリ

倍数体を育成する目的で、種子および2年生苗の生長点のコルヒチン処理を行い、得られた種子の播種、育苗を行った。

4. ミシマサイコ

多収、良品種の品種を育成するための第一段階として、目標とする選抜形質を決定するための各特性間の調査を、前年度に引き続き収穫期に採取した個体について行った。

その結果、一次分枝数、二次分枝数は他器官との相関が高く、本作物の生育、収量を支配する要因であると推測された。開花時の調査では二次分枝数は特に見るべき相関がなかったが、これはまだ生育が不十分であったためであろう。分枝長は分枝数、節数などと相関が高かった。根径は分枝との相関が認められるが、最も高いのは根重との相関であった。根長は他器官との相関が低く、支根数は根重と相関が低かった。根重が最も高い相関を示したのは茎重で、地上部の生育が盛んなほど根の生長もすすむことが認められた。

5. ステビア

配糖体含量および収量の高い優良系統を選抜するため、2倍体および4倍体63系統につき、葉面積、葉厚の測定ならびにレバウディオサイドAおよびステリオサイドの定量を行った。

6. ケシ

さく果を多収獲するための施肥技術を確立する目的で、一貫種を用い、基肥と追肥の組み合わせにつき圃場試験を行った結果、追肥がさく果収量の増加に有効

であることを認めた。最も効果のある時期は伸長期、ついで開花期花芽分化期の順であった。

晩生種の育成については、前年度に引き続き、交配、選抜、採種を行った。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 宮 崎 幸 男

概要 本年度の主な業務は研究業績の項に記したようなズボイシア、ハカマオニゲシ、ミシマサイコ、センナ、ステビアなどについての栽培研究であるが、ほかに下記のような種苗交換に関する業務も行われた。

種苗交換 採集種子 68 種

入手 23 件、延べ 162 種

配布 21 件、延べ 67 種

研究業績

1. ズボイシア

優良系統の選抜を当面の目標とし、つぎのような研究を行った。加温ビニールハウス内鉢栽培の植物22個体について、53年8月に採葉し、葉の特性調査を行った後、52年採取の葉とともに検体を千葉大学薬学部に送り、成分の分析を行った。

2. ハカマオニゲシ

栽培適地の環境条件の解明を目的とし、土壤条件のうち土壌粒子の大きさと土壤水分をとりあげ、それぞれポット試験を行い、これら条件がハカマオニゲシの幼植物の生育におよぼす影響について検討した（→学会発表 102）

3. ミシマサイコ

暖地栽培の立場からの栽培法の確立を目的とし、つぎのようなポット試験と圃場試験を行った。

i) 異なる温度条件のもとでの2年生植物の生育、収量、52年度より継続のポット試験で、戸外、無加温ビニールハウス、加温ビニールハウスの異なる温度条件のもとで、本年度は2年生植物について生育、収量の比較研究を行った。

ii) とり播き圃場栽培1年生植物の生育、収量。52年11月採取の種子を用い、とり播き圃場栽培を行い、1年生植物の生育、収量について研究した。

4. センナ

栽培適地の環境条件の解明および栽培法の確立を目的とし、温室内で育成した実生苗を5～6月に圃場に定植し、1年生植物の生育、収量について研究した。

5. ステビア

栽培法の概要を明らかにすることを目的とし、52年度より継続の圃場栽培試験において、本年度は2年生植物の生育、収量について研究した。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 大 野 忠 郎

概要 昭和53年の気象状況は2月の気温がやや低く、降水量は1月から5月まで平年に比して少なかったが（平年の41～77%）ケシの各系統の生育は極めて順調であった。ケシ早生系統のさく果生育期および採汁期（4月下旬～5月上旬）の気象条件がやや悪く、一貫種系統のさく果生育期（5月中旬）における日照時間がやや少なかった（平年の79%）ほかは気象経過が順調で、両系統共に平年に比しモルヒネ収量が約20%の増収であった。その後も降水量は平年に比し少なかったが（年間降水量は1,305mmで平年の69%）、その他の試験植物、標本植物も生育は良好であった。

業務成績

1. 薬用植物栽培質疑応答 28件
2. ケシその他薬用植物種苗分譲 29件
3. 植物調査採集採種 近隣の和歌山県内で4回実施計 85種採集
4. ケシ耕作者栽培講習会2回
岡山県、香川県各1回

研究成績

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12の試験を行った。
i) 品種および系統の保存、特性調査
目的：各地の品種および系統を栽培し、その特性を調査し、これを保存し、品種改良の材料に供用する。
内容：67系統を栽培し全系統を保存した。
ii) 系統選抜試験
目的：栽培地から観察によって優良な系統を選抜し、その生産力を検討する。
内容：モルヒネ収量が一貫種に比し多い1系統（南広3号）を選抜し得た。また種子収量が一貫種に比し多い1系統（系統5501）を選抜した。
iii) 一貫種個体選抜系統の検定試験
目的：一貫種の個体選抜によって得た系統につきそ

の生育、生産力を検定する。

内容：あへん収量では当场栽培の一貫種の基準よりも多いもの3系統、あへん中のモルヒネ含量の高いもの1系統、モルヒネ収量の多いもの9系統を選抜し得た。系統5610はあへん収量、あへん中のモルヒネ含量、モルヒネ収量のすべての点において優れている。また種子収量の多い1系統（系統5632）を選抜し得た。

iv) 早生型育成交配系統の選抜検定試験

目的：愛知系統と一貫種との交配によって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：一貫種に比しあへん収量の多いもの16系統を確保した。また一貫種に比し種子収量の多いもの1系統（AR×I₆₋₄₉₋₆）を選抜し得た。

v) 耐病性育成交配系統の選抜検定試験

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：あへんおよびモルヒネ収量が一貫種よりも多いもの12系統を確保した。

vi) 耐寒性育成交配系統の選抜検定試験

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：あへん収量が一貫種よりも多いもの7系統、あへん中のモルヒネ含量が一貫種よりも高いもの2系統、モルヒネ収量が一貫種よりも多いもの11系統を選抜し得た。系統IXT₆₋₂₋₂₋₁₋₁₋₄₋₃はあへん収量、あへん中のモルヒネ含量、モルヒネ収量のすべての点において一貫種よりも優れている。

vii) 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する。

内容：本年は気象条件が割合に良かったにもかかわらず開花後21日採汁開始区のあへんおよびモルヒネの収量が低下した。原因究明にはさらに研究を要するものと思われる。

viii) 採汁方法試験

目的：切取法と宵切朝掻法を比較し、労力関係を考慮して再検討する。

内容：昭和50～53年の4年間の平均を比較したが、あへん収量、あへん中のモルヒネ含量、モルヒネ収量のすべてにおいて切取法と宵切朝掻法との間に有意差は認められなかった。

ix) 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の効果を比較する。

内容：本年もボルドー合剤、マンネブダイセン、トップジン、ジュネブダイセン、ダコニール、オーソサイドについて昨年と同様の方法で試験した。本年度は収量において各薬剤処理区は無処理区に比し少い結果を得た。さらに試験を要するものと思われる。

x) 早生多収型育成 F₃ の検定試験

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：44 系統を播種し、いずれも生育良好であった。あへん収量では 5 系統を除く他のすべての系統は一貫種よりも多く、またモルヒネ収量では 4 系統を除く他のすべての系統が一貫種よりも多かった。種子収量では 34 系統が一貫種に比し多かった。開花日の幅は F₂ に比し著しく狭くなった。

xi) 気象感応試験

目的：気象要因とケシの生産力との関係を明らかにする。

内容：5 月の平均（合計）各気象要因とケシ一貫種のあへん収量との重相関、偏相関を検定した。その結果 5 月の各気象要因の中で降水量が最も強く一貫種のあへん収量に影響をおよぼし、次に日照時間が影響をおよぼす。最高温度、気温較差、温度、雲量の影響は有意であるが、その程度は降水量、日照時間に比し弱いことがわかった。

xii) 優良系統の増殖

目的：一貫種よりも生産力の高い系統の分譲用種子の増殖をはかる。

内容：耐病性系統は 1.495 kg 耐寒性系統は 1.750 kg の種子を得た。

2. 大麻に関する試験

目的：系統を保存し、鑑定の資料にする。

内容：12 系統共結実し、保存の目的を達し得た。

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。

i) 除草剤試験

目的：最も適する除草剤を決定する。

内容：10 a 当り風乾根収量（生育 2 年株）においてはロックス区は無処理区に比し劣る結果を得た。

ii) 肥料 3 要素試験

目的：肥料 3 要素が生育、収量におよぼす影響を明らかにする。

内容：窒素が最も肥効があり、カリがこれに次ぎ、リン酸の順に肥効が認められる。

4. オウレンに関する試験

目的：当地方における栽培法の確立

内容：生育 5 年目の収量は 10 a 当り 191.1 kg で普

通の収量（120～150 kg）を越えていた。

5. ハカマオニゲンに関する試験

目的：栽培法の確立

内容：WG-1 はさく果収量が最も多かった。

6. ハブソウに関する試験（春日部試験場に協力）

目的：選抜系統の特性調査

内容：収穫時における節数は晩生が早生および中生より多い。また第一次分枝数は晩生は中生および早生より多く、また中生は早生よりも多い。

7. 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、34 種、温帯産 193 種を栽培。

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 高 城 正 勝

概要 例年は最低極温が 0.5℃ 前後に下降するのに本年は 2.0℃ で例年より高かった。しかし春季の気温が最高、最低ともに 0.9～1.6℃ 低温であったため試験植物のほう芽が遅れた。梅雨期の降水量が例年より少なく、台風も無く、年間降水量も例年の 12% 減で、夏季はかんばつの傾向が見られた。

栽培試験はミシマサイコに重点をおき、トウスケボウフウ、ハズ、ウィタニア・ソムニフェラ、パチュリー等について行い、系統保存および展示栽培としては *Rauwolfia* 属植物、ガジュツ、ウコン、クミスクチン、コカ、キナおよびステビア等であった。

ミシマサイコについては種子分譲および栽培指導の依頼が多く、文書回答 7 件、栽培地での指導 7 件を数えた。水田転換作物に薬用植物を取入れたいと希望している農家が増えていることは事実である。

交換用種子は 75 種を採集し、野生植物の採集調査は島内全域および奄美大島において実施した。

研究業績

1. トウスケボウフウ

i) 土壌試験

目的：異なった土壌による生育、収量、成分および品質等について比較研究し、本邦暖地における栽培法を確立する。

内容：53 年 3 月 17 日圃場に播種し、発芽苗を 2 千分の 1 アールポットに 5 本宛植付けた。試験区は埴埴土、火山灰土および砂質壤土の 3 区とした。植付後は各区とも順調な生育を示したが夏季に病株が発生し、埴埴土区が 80.0%、火山灰土区が 56.0%、砂質壤土

区が 40.0% の欠株率を示した。

収獲は53年11月8日に実施した。根頭部直径は埴壤土が 12.4 mm, 砂質壤土が 8.6 mm, 火山灰土が 7.9 mm, 根長は埴壤土が 59.9 cm, 火山灰土が 50.7 cm, 砂質壤土が 40.4 cm を測定し, 風乾根重は埴壤土が 9.73 g, 砂質壤土が 5.61 g, 火山灰土は 3.06 g を計量した。

ii) 圃場栽培試験

目的: 種子島における実際栽培の適否を知り栽培法を確立する。

内容: 53年3月17日に条播した。発芽率は 68.25% で順調な生育を示したが, ハイイロヒョウタンゾウムシの発生が見られたのでダイアジノン微粒剤を散布した。また病害による枯死株は8~10月の生育期間中に多く発生した。

収獲は5月以降毎月1回実施した。地下部の肥大は8月から9月にかけて最大を示した。風乾根重は5月が 0.008 g, 6月 0.22 g, 7月 1.12 g, 8月 1.98 g, 9月 4.55 g, 10月が 5.52 g を計量した。

iii) 挿木繁殖試験

目的: 根挿法による繁殖の可否および活着率を調べ栽培法を確立する。

内容: 1年生根を用い, 根の太さにより L, M および S の3区を設けた。L区は直径 12.4~7.3 mm, M区は 7.2~4.0 mm, S区は 3.9~1.8 mm とし長さは 3 cm に切った。各区の萌芽率は L区は平均 75.8%, M区は 82.3%, S区は 91.4% の成績を得た。本試験により根挿法で容易に繁殖することが認められた。

2. ミシマサイコ

i) 土壌試験

目的: 異なった土壌による生育, 収量, 品質等について比較栽培法を確立する。

内容: 53年4月25日に発芽苗を2千分の1ポットに5本ずつ植付けた。試験区は埴壤土, 火山灰土および砂質壤土の3区を設け4連制とした。収獲は54年1月22日に実施した。風乾主根重は1株平均埴壤土が 3.42 g, 砂質壤土が 3.33 g, 火山灰土が 2.45 g で, 風乾細根重は砂質壤土が 6.1 g で最高を示し, 埴壤土が 3.41 g, 火山灰土が 3.33 g を計量した。

ii) 播種用量試験

目的: 播種の適正量を知り栽培法を確立。

内容: 10a 当りの播種量を 300~1,200 g の7区を設け, 53年3月24日播種した。収獲は54年1月14日に実施した。1/17a の風乾主根重は 800 g 区が最高で 180.3 g, 1.0 kg 区が 152.1 g, 500 g 区が 132.4 g, 300 g 区が 115.2 g, 400 g 区が 110.7 g, 1.2 kg 区

107.7 g, 600 g 区が最低で 100.7 g であった。本試験の結果, 10a 当りの適正量は 600~800 g であることが判明した。

iii) 播種期別試験

目的: 栽培法の確立

内容: 52年9月に採種した種子を室内常温で保管して52年9月16日を第1回播種日とし, 53年3月25日まで毎月5日, 15日および25日を播種日と決め, 1/10a を1区として各区4gを播種した。

発芽日数は9~11月および3月中下旬の播種は17~30日間を要し, 12~1月上旬は30~40日間, 1月中旬~2月下旬に播種すれば40日以上を要することも判明した。種子島においては周年播種可能であるものと考えられる。

収獲は54年1月5~12日に実施した。風乾主根重は, 2月15日区が最高で 268.3 g, 以下1月14日区 229.3 g, 2月4日区 224.6 g, 3月5日区 220.9 g, 1月5日区 200.4 g, 9月26日区 97.4 g, 10月15日区 91.9 g, 11月5日区 69.9 g, 11月25日区 62.5 g で最低は12月5日区で 30.9 g であった。

播種期を異にした本試験において9月16日~12月5日の各区が極めて低い数値を示したことは, それらの区のみ石灰窒素を散布したのに因るか, 或は12月初旬までは害虫の活動期であったかいまだ究明できない。したがって本試験は再び実施する必要があると考えられる。

3. ハズ (巴豆)

i) 2年生植物の生育および収量

目的: 南西諸島における栽培法の確立。

内容: 52年夏~秋に採種した種子を11月に発芽試験を実施した結果, 47% の発芽率を得た。植付は53年4月19日で, 植付時の樹高が 15.8 cm で約6か月後に 123.2 cm に伸長した。開花始めは7月13日に観察された。

種子の収量は1樹当たり平均 134.2 g を計量した。10a 当りは 122.12 kg である。

4. ウィタニア・ソムニフュラ

i) 発芽試験

目的: 南西諸島における栽培法の確立。

内容: 53年10月採種し, 11月1日に発芽試験を実施した。播種後13日間で発芽開始, 12月8日の最終調査で発芽率は 100% を記録した。

5. パチュリー

i) 土壌試験

目的: 種子島における栽培法の確立。

内容: 丸葉種を挿木により増殖したものを53年5月

25日 2 千分の 1 アールポットに 1 株ずつ植付けた。土壌は埴壌土、火山灰土および砂質壤土を用い 2 連制とした。

収穫は53年12月19日に行い、風乾葉重は54年 1 月23日に測定した。草丈は火山灰土、砂質壤土、埴壌土の

順で火山灰土は徒長気味な傾向を示した。

乾葉重は砂質壤土が 66.68 g, 火山灰土が 42.57 g, 埴壌土が 20.88 g で砂質壤土が最も優れていることが認められた。

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，第二次

(昭和51～53年)

世話人 江 島 昭

本特別研究は昭和48年度から同50年度までの3年間を第一次とし，同51年度から同53年度までの3年間を第二次とし，昭和54年3月に終了した。第二次研究は第一次研究の場合と同じ研究班が，同じ項目について，第一次とは異なる薬剤を取上げて行われたが，第一次の継続的研究も含まれている。

本特別研究を実施する機会を得たことにより，各種製剤の化学的特性と安全性との関連についての理解が深まり，近年医薬品の使用についての反省が行われている時期において，この研究を足がかりとし，生物学的有用性の観点に立った医薬品製剤の品質ならびに適用，薬理作用，相乗毒性などの研究が発展することが期待されることは，大きな収穫であったと考えられる。

混合製剤中のフェノチアジン系 薬物の分析に関する研究

薬 品 部

1. 高速液体クロマトグラフ法による総合感冒剤中の鎮がい剤，きよたん剤および抗ヒスタミン剤の定量¹⁾

〔目的〕 さきに著者らは医薬品特別審査対象品目の解熱鎮痛剤および感冒剤の比色定量法を確立したが，これらの方法は操作がはん雑で製剤中の目的成分の定量に長時間を要する欠点があった。混合製剤のじん速簡易定量法の確立を目的とし，高速液体クロマトグラフ法による感冒剤中の微量配合成分（鎮がい剤，きよたん剤および抗ヒスタミン剤）の定量法を検討した。

〔実験および結果〕

酒石酸アリメタジン，塩酸プロメタジン，塩酸イソ

チベンジル，ノスカピン，塩酸ジフェンヒドラミン，塩酸アロクラミドおよび臭化水素酸デキストロメトルファンなどにつき，ポーラスポリマー系充填剤を用い分離定量する方法を確立した。製剤からの目的成分の抽出は，メタノールまたは塩酸添加メタノールを用いた。定量条件は Table 1 に示すとおりで製剤中に共存する多量の解熱鎮痛剤およびカフェインによる妨害はなく，約15分以内で分離定量が可能である。これら各成分の調製試料からの回収率は 99.2%～100.7%，標準偏差は 0.82～2.26 で良好な結果を得た。又本法による市販製剤の定量も可能であった。

発 表 報 文

- 1) 立沢政義，橋場茂子，江島昭：分析化学，26，706 (1977)
2. 新共重合型充填剤を用いた高速液体クロマトグラフ法による感冒剤中の鎮がい剤，きよたん剤および抗ヒスタミン剤の定量¹⁻³⁾

〔目的〕 ポーラスポリマー系充填剤は，比較的単純な溶媒系で良好な分離能を示すため高速液体クロマトグラフィーに多く用いられる。極性の小さいポリスチレンゲルは単環系芳香族化合物の分離に，又極性が中程度のメタアクリレートゲルは多環系異項環化合物の分離に適している。著者らは，単環系および多環系いづれに対しても高分離性を有する充填剤の開発を目的としてポリメチルメタアクリレート-ジビニルベンゼン共重合体 (MCL-DVB) およびこれにメチロール基を導入したもの (MCL-DVB-O) を試作し，これを用いた感冒剤中の多環系異項環鎮がい剤，きよたん剤および抗ヒスタミン剤のじん速かつ高分離性のある方法を確立した。

〔実験および結果〕 通常，感冒剤にはん用されるアセトアミノフェン (PA)，エトキシベンズアミド (EB)，カフェイン (CF)，クロルフェニラミン (CP)，

Table 1. Analytical method of antitussive, expectorant and antihistaminic drugs in anti-cold preparations by high speed liquid chromatography

Drugs	Concentration of sample solution (mg/ml)	Column support	Carrier	Detection UV (nm)
Alimemazine	0.1	3011-O	I	250
Promethazine	0.1	3011-O	I	250
Isothipendyl	0.1	3011-O	I	250
Noscapine	0.1	3011-O	I	230
Diphenhydramine	0.2	3011	I	230
Alloclamide	0.2	3011	II	230
Dextromethorphan	0.2	3011-C	I	230

Column support : 3011 (Styrene-divinylbenzene copolymer)

3011-O (Hydroxymethylated styrene-divinylbenzene copolymer)

3011-C (Carboxylated styrene-divinylbenzene copolymer)

Column size : 50 cm×3 mm id

Carrier : I, Methanol-28% NH_4OH (99 : 1)

II, Methanol- H_2O -28% NH_4OH (95 : 3 : 2)

Flow rate : 1.0 ml/min

フェノチアジン (PZ), プロメタジン (PR), イソチペンジル (IT), アリメマジン (AL), フェネサジン (FZ) およびチオリダジン (TZ) につき市販のポーラスポリマーおよび試作した充てん剤を用いて分離能および分離度を確かめた結果, Table 2 に示すとおりで試作品の MCL-DVB-O は極めて良好な結果を示した。

本充填剤は多環系異項環化合物に対して高分離性を有するから感冒剤中のデキストロメトルファン, ノスカピン, AL, PR および IT の定量に用いた, 定量条件は Table 3 に示すとおりで, これら成分の試料からの回収率は 99.7~100.1% 標準偏差 0.1~0.5 の良好な結果を得た。又本法による市販剤の定量も可能である。

発 表 報 文

- 1) 日本分析化学会第 26 年会発表講演要旨集, P.524, 1977
- 2) 日本薬学会 98 年会発表, P.513, 1978
- 3) 立沢政義, 山宮卓二, 江島昭, 高井信治: 分析化学, 27, 753 (1978)

3. ポーラスポリマー充填剤を用いた高速液体クロマトグラフ法による医薬品の分析¹⁾

〔目的〕 高速液体クロマトグラフ法による感冒剤および新医薬剤の分析法の確立を目的とし, 解熱鎮痛剤, 抗ヒスタミン剤, フェノチアジン系, アザタジン系およびイミノジベンジル系精神安定剤を対象

にポーラスポリマー系充填剤の市販品および試作品 (MCL-DVB-O) のカラム特性を検討した。

〔実験および結果〕 日立ゲル 3011 (スチレン-ジビニルベンゼン, 10 μ), 日立ゲル 3011-O (3011 にメチロール基導入, 10 μ), 日立ゲル 3030 (ポリメチルメタクリレート, 20 μ) および MCL-DVB-O (10 μ) の各充填剤を長さ 50 cm, 内径 5 mm の肉厚ガラス管に充填したものを用いた。上記の充填剤は全面多孔性球形である,

各成分の充填剤に対する親和性は 3011>3011-O $\geq$ MCL-DVB-O>3030 の順で極性の強い固定相ほど親和性が弱くなる。またアルキル基の炭素数およびベンゼン環の増加により疎水性固定相に強く保持されるようになる。

Table 4 に示すとおり移動相に酸または塩基を添加した場合, 酸性物質 (例えばアスピリンまたはサリチル酸) は酸の添加で, また塩基性物質 (例えばマレイン酸クロロフェラミンまたはフェノチアジン系化合物) は塩基の添加により k' は大となる。特にフェノチアジン系化合物のような多環系のもは 3011 に対して強い親和性を示すが, MCL-DVB-O に対しては親和性が弱く k' が極めて小さくなるためこれらのじん速分析に適している。

Table 5 はフェノチアジン系その他の化合物の極性の小さい固定相 (3030または3011-O) と MCL-DVB-O に対する分布因子 (k') およびカラム効率 (HETP)

Table 2. Capacity factors, numbers of theoretical plates and resolution values of anti-cold drugs

Hitachi Gel 3011										
	PA	EB	CF	CP	PZ	PR	IT	AL	FE	TZ
k'	0.60	1.37	2.56	3.36	5.83	8.52	8.92	10.18	10.45	34.50
N	1402	1361	1299	1033	718	711	782	651	675	402
R _s	3.58	3.65	1.71	3.16	2.20	0.28	0.79	0.17	5.43	
Hitachi Gel 3030										
	PA	EB	CP	CF	IT	PR	AL	FE	PZ	TZ
k'	0.45	0.78	0.88	1.67	1.76	2.11	2.25	2.32	3.60	4.00
N	1102	1145	762	1080	610	560	552	660	923	386
R _s	1.68	0.40	2.65	0.25	0.72	0.24	0.15	2.27	0.50	
Hitachi Gel 3011-O										
	PA	EB	CP	CF	IT	PR	AL	FE	PZ	TZ
k'	0.72	1.13	1.47	1.83	3.28	3.49	3.77	4.59	6.66	9.06
N	1600	1568	1080	1316	619	587	518	500	708	287
R _s	2.11	1.33	1.16	2.90	0.30	0.35	0.89	1.92	1.37	
MCL-DVB-O										
	PA	EB	CP	CF	IT	PR	AL	FE	PZ	TZ
k'	1.16	1.51	1.78	2.22	3.56	3.94	4.19	4.47	7.35	8.15
N	5776	7744	4582	6602	3455	2996	2799	3676	4956	1802
R _s	3.00	2.00	2.67	5.73	1.15	0.67	0.74	6.91	1.19	

Column size : 50 cm×5 mm, Flow rate : 1.0 ml/min, Mobile phase : MeOH-NH₄OH (99 : 1)

PA : Acetaminophen, EB : Ethoxybenzamide, CP : Chlorpheniramine, CF : Caffeine, IT : Isothipendyl, PR : Promethazine, AL : Alimemazine, FE : Fenethazine, TZ : Thioridazine

Table 3. Analytical method of antitussive, expectorant and antihistaminic drugs in anti-cold preparations by high speed liquid chromatography

Drugs	Concentration of sample solution (μg/ml)	Support	Carrier	Detection UV (nm)
Dextromethorphan	600	MCL-DVB (1 : 2)	I	230
Noscapine	400	MCL-DVB (1 : 1)	I	230
Alimemazine	40	MCL-DVB-O (1 : 1)	I	250
Promethazine	40	MCL-DVB-O (1 : 1)	I	250
Isothipendyl	40	MCL-DVB-O (1 : 1)	I	250

Column : MCL-DVB (Methylmethacrylate-styrene-divinylbenzene copolymer)

MCL-DVB-O (Hydroxymethylated Methacrylate-styrene-divinylbenzene copolymer)

Column size : 50 cm×3 mm id

Carrier : Methanol-28% NH₄OH (99 : 1) (1)

Flow rate : 1.0 ml/min

Table 4. Capacity factors (k') of some drugs with basic and acidic methanol

Drugs/ Column	Eluent	MeOH-28%NH ₄ OH (99 : 1)		MeOH-HOAc (99 : 1)	
		3011	MCL-DVB-O	3011	MCL-DVB-O
Salicylic acid		0.05	0.08	0.86	—
Aspirin		0.05	0.88	0.60	2.98
Acetaminophen		0.60	1.16	0.33	1.20
Ethoxybenzamide		1.37	1.51	0.85	1.38
Caffeine		2.56	2.22	1.71	1.87
Chlorpheniramine		3.36	1.78	0.05	0.03
Alimemazine		10.18	4.19	0.03	0.01
Promethazine		8.52	3.95	0.0	0.01
Fenethazine		10.48	4.47	0.04	0.0
Isothipendyl		8.92	3.56	0.08	0.02
Phenothiazine		5.83	7.35	3.87	5.88
Thioridazine		36.54	8.15	0.38	0.01

Column size : 50 cm × 5 mm

Linear flow rate : 5.0 cm/min

Table 5. Capacity factors (k') of some drugs on a porous polymer column with basic methanol

Drugs/ Column support	3030	3011-O	MCL-DVB-O
Protizinic acid	0.0	0.0	0.28
Promethazine	2.09	3.53	4.00
Alimemazine	2.22	3.78	4.20
Fenethazine	2.25	4.57	4.41
Chlorpromazine	2.57	5.52	4.45
Phenothiazine	3.52	6.48	7.29
Fluphenazine	1.41	2.15	2.08
Propiclidazine	2.22	3.04	2.97
Perphenazine	2.24	4.10	3.55
Thioridazine	3.95	9.30	8.09
Isothipendyl	1.75	3.31	3.60
Imipramine	1.67	3.06	2.61
Rophepramine	4.92	9.56	8.06
Flupentixol	1.51	2.23	2.14
Melitracene	1.58	2.68	2.64
Piroheptine	1.66	2.77	2.61
Clocapramine	2.57	3.75	3.58
Azatazine	0.83	1.46	1.42
Amoxapine	2.50	3.39	3.13
Clothiapine	2.72	4.49	3.91
Height of theoretical plates	0.318~0.778	0.378~1.479	0.077~0.36

Column size : 50 cm × 5 mm, Mobile phase : Methanol-ammonia water (99 : 1), Linear flow rate : 2.5 cm/min, Detection : UV (254 nm)

を比較したもので、MCL-DVB-O は極めて高い HETP を示した。

MCL-DVB-O は他の充填剤に比べて線速度によるカラム効率の変化は少なく高流速分離にも適している。

pH に対する分布因子 (k') の変化を見るとエトキシベンズアミド、カフェインおよびフェノチアジン (N位の側鎖なし) の如き中性または弱酸性物質は、pH の影響を受けず、疎水性または π - π 相互作用により保持されるが、N位に側鎖を有するフェノチアジン類の如く塩基性物質は pH により k' が変動し、高い pH で強く保持される (Fig. 1)。

スチレン・ジビニルベンゼンは単環系化合物に対し分布因子が小さいから感冒剤中の解熱鎮痛剤の分離に適し、MCL-DVB-O は多環系化合物に対し、分布因子が小でかつカラム効率が大であるから、フェノチアジン系抗ヒスタミン剤のじん速分離に適している。また、フェノチアジン系 (プロチジン酸、プロメタジン

およびフェノチアジン) またイミノジベンジル系 (アザタジン、ピロヘプチン、アモキサピンおよびロフェブラミン) 精神安定剤の同時分離が可能である。

発表報文

- 1) 松田りえ子, 山宮卓二, 立沢政義, 江島昭, 高井信治: *J. Chromatogr.*, **173**, 75 (1979)

医薬品の安定性に関する研究

薬品部

1. 塩酸クロルプロマジンおよび塩酸プロメタジンの光分解

〔目的〕 塩酸クロルプロマジン (I) および塩酸プロメタジン (II) は向精神薬としては用いられているが、ある種の化合物は特に光に対して不安定である。したがって酸化分解および光分解に関する報告も数多くある¹⁻⁶⁾。これら化合物の安定性は、10 位および 2 位の側鎖の種類により異なることが知られており、著者らは構造と安定性の関係を確認するため先づ最も不安定とされている I および II につき光分解の検討を行った。

〔実験および結果〕

A. 溶存酸素存在下

1) 塩酸クロルプロマジン (I) の光分解

(I) の水溶液またはメタノール溶液 (約 0.1%) に光照射を行い、(I) の残存率を経時的に検討した結果、約 30 分で水溶液は 5%, メタノール溶液では 55% で前者の方が分解速度が大であった。又経時的に分解生成物を TLC および UV スペクトルの測定により追跡した結果、水溶液中では、5 分照射ですでに数ケのスポットを認め、スルホキンドが生成し、5 時間後で消失し、さらに 2 位のクロルの脱離したプロマジンを認めた。

2) 塩酸プロメタジン (II) の光分解

分解速度は、いずれの溶媒中においても (I) に比べて極めて遅く水溶液中、100 分間で 50% (I は 30 分で 5%) の残存率を示し、メタノール溶液の方が若干早い分解速度を示した。

水溶液中における光分解生成物は、30 分照射で 10 位の側鎖の脱離したフェノチアジン (a) および (II) のスルホキサイド体を認めさらに 250 分において a は消失し 3-H-フェノチアジン-3-オンを認めた。

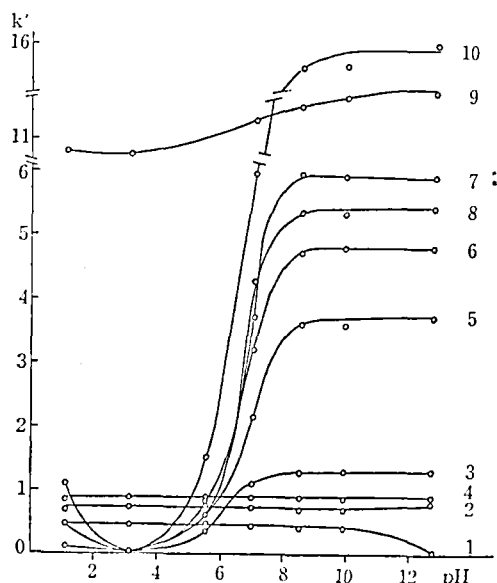


Fig. 1. Relationship between capacity factors (k') and pH of the mobile phase

Stationary phase: MCL-DVB-O, Column size: 50 cm × 5 mm i.d., Mobile phase: methanol-buffer solution (9:1), Linear flow rate: 5.0 cm/min

1. Acetaminophen, 2. Ethoxybenzamide, 3. Chlorpheniramine, 4. Caffeine, 5. Isothipendyl, 6. Promethazine, 7. Alimemazine, 8. Fenethazine, 9. Phenothiazine, 10. Thioridazine

B. 脱溶存酸素下

1) 塩酸クロルプロマジン (I) の光分解

経時的に安定性を検討した結果、メタノール中では10分間における残存率は数% (水中で 70%) で、比較的速かであった。分解物は、10分間でプロマジンを認め、スルホキシドの生成を認めなかった。

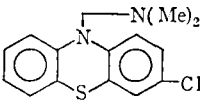
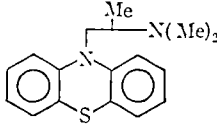
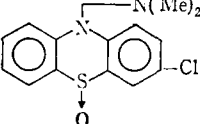
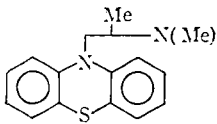
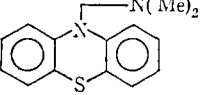
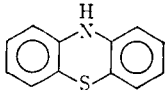
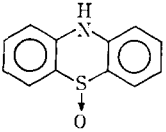
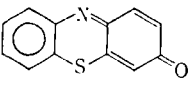
2) 塩酸プロメタジン (II) の光分解

脱溶存酸素状態下ではいずれの溶媒中でも安定 (100分間で残存率 80%) であった。

各分解物を単離し、UV, IR, MS (MAS) を測定した結果 Table 1 に示すとおりであった。

以上の結果 (I) は溶存酸素存在で水溶液中でフェナザチオニウムイオンとなり、速やかにスルホキサイドを生成するが、脱溶存酸素下ではクロルの脱離が主反応となりプロマジンを生成する。(II)は溶存酸素存在下で一部プロメタジンスルホキシドを生成し、大部分は 10 位が脱離しフェノチアジンとなり酸化により 3-H-フェノチアジン-3-オンとなる。2 位の側鎖のクロルおよび 10 位の側鎖が 3-ジメチルアミノか 2-ジメチルアミノかの相違による。(I) は 2 位が脱離し、また (II) は 10 位が脱離する反応経路をとることが確かめられた。

Table 1. UV spectra, IR spectra and parent peak of mass spectra of the photodegradation products of chlorpromazine and promethazine

Compounds	UV(nm)	IR(cm ⁻¹)	MS (m/e)	Compounds	UV (nm)	IR(cm ⁻¹)	MS(m/e)
Chlorpromazine	257	1460	319	promethazine			287
	310	800					
Chlorpromazine sulfoxide	239	1580	335	Promethazine sulfoxide	235	1020	300
	277	1010			267		
Promazine	255	1460	284	Phenothiazine	254	3320	199
		750			310	1480	740
Unknown	242	1590		Phenothiazine sulfoxide	228	1090	215
	275	1460			266		
	297	1400		3H-phenothiazine-3-one	304		
	334				332		
					238	1620	213
					266		
					289		
					385		
					530		

文 献

- 1) 藤沢正計, 河村光雄, 川端詔子: 薬誌, 86, 708 (1966)
- 2) A. Felmeister, C.A. Discher: *J. Pharm. Sci.*, 53, 756 (1964)
- 3) C.L. Huang, F.L. Sands: *ibid*, 56, 259 (1967)
- 4) T. Iwaoka, M. Kondo: *Bull. Chem. Soci. Japan*, 47, 980 (1974)
- 5) H. Poseboom, J.H. Perrin: *J. Pharm. Sci.*, 66, 1395 (1977)
- 6) W.J.M. Underberg: *ibid*, 67, 1128 (1978)

2. 非ステロイド系抗炎症薬フェニルブタゾンの固体状態における安定性に関する研究

〔目的〕 フェニルブタゾン (PB) は非ステロイド系抗炎症薬として、広く固形製剤として用いられているが、酸化および加水分解を受けやすいことから、その安定性が問題となる。そこで固体状態における PB の分解反応の速度論的解析を行い、分解生成物の検索を行うとともに、分解に影響を及ぼす諸因子の検討を行った。

〔実験および結果〕 バレイショデンプンを賦形剤としたフェニルブタゾン散 (4% w/w) について、80°, 相対湿度 (RH) 61, 70 および 81% の虐待条件下で検討した結果、PB は自触媒反応様式の分解を示し、湿度は分解速度に対して大きな影響を示さなかった。RH 81% において温度の影響を検討した結果、分解速度は 60° から 80° の温度範囲で Arrhenius の式を満足し、活性化エネルギーは 33kcal/mol と算出された。

分解生成物として 1,2-diphenyl-4-*n*-butyl-4-hydroxypyrazolidine-3,5-dione が単離され、PB は主

として酸化を受けることが示された。

3. スルピリンの安定性 (第一次の継続研究)

I. 水溶液中における銅イオン触媒酸化反応

銅イオン (II) 存在下におけるスルピリンの酸化分解反応の速度論的検討を行った。

スルピリンは Chart 1 に示すように、4-methyl-aminoantipyrine (MAA) に加水分解し、次に MAA が 4-aminoantipyrine (AA) を経て antipyrinyl-4-peroxide (AP) に酸化された。pH 4 以下の酸性領域では、MAA が AP に酸化される段階が律速であり、それ以上の pH 領域では、スルピリンが MAA に加水分解する段階が律速であった。

MAA から AA への酸化反応、および AA から AP への酸化反応はいずれも自触媒反応様式を示し、速度は銅イオン濃度に関して 1 次、酸素分圧に関して 0.5 次の関係を示した。

II. 水溶液中におけるブドウ糖との反応

スルピリン注射液にブドウ糖を添加すると著しいスルピリンの安定性低下がみられた。スルピリンとブドウ糖の反応生成物として、aminopyrine (Am), 4-formylmethyaminoantipyrine (FMAA), および N-[2-(5-hydroxymethyl-2,3,4,5-tetrahydro-2,3,4-trihydroxy)-furyl]methyl-N-methylantipyrine (MAAG) が単離された。

反応生成物を高速液体クロマトグラフィーにより分離定量し、生成反応を速度論的に検討し、反応機構の考察を行った結果、スルピリンは Chart 2 に示すように、MAA に加水分解し、その MAA のメチルアミノ基がブドウ糖のホルミル基と可逆的に反応して、中間体 (MAA-glu) を経て MAAG が生成され、更にこの MAAG が分解して Am が生成されることが明

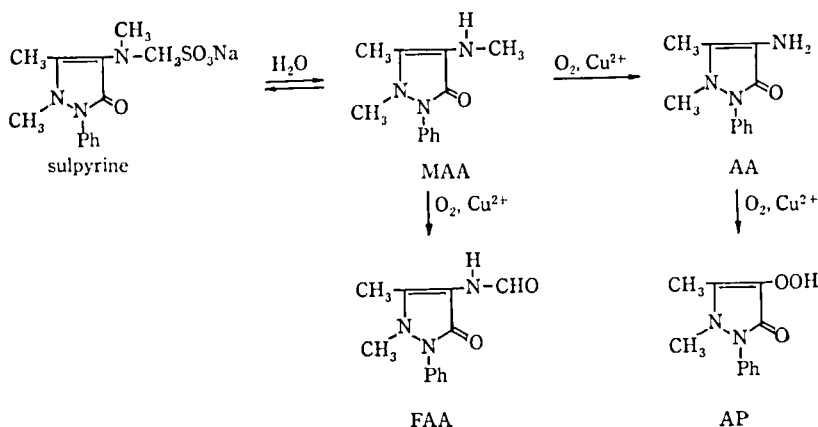


Chart 1

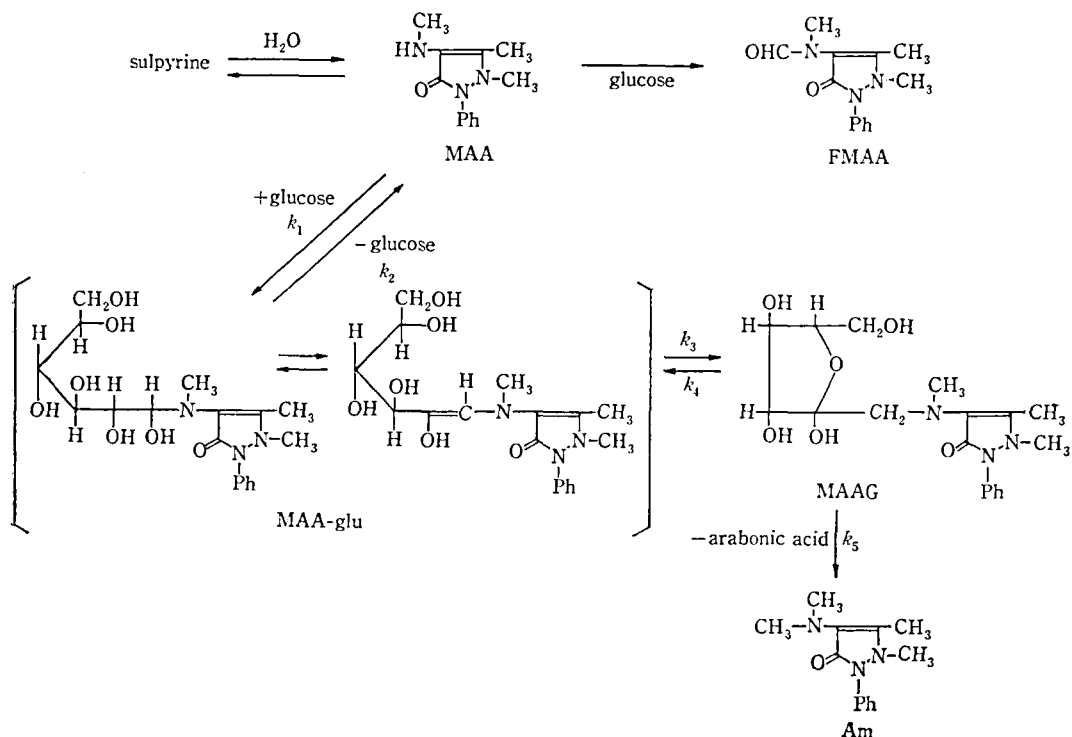


Chart 2

らになった。ここで k_3 , k_4 および k_5 は pH 依存性を示し、これらの反応は特殊酸触媒作用をうけることが示された。

発 表 報 文

- 1) S, Yoshioka, H. Ogata, T. Shibazaki and A. Ejima: *Arch. Pharm.*, **312**, 81 (1979)
- 2) S. Yoshioka, H. Ogata, T. Shibazaki and A. Ejima: *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2723 (1978); **27**, 907 (1979)

非ステロイド系抗炎症剤の有効性 —フルフェナム酸カプセルの溶出 試験と Bioavailability

薬 品 部

経口的に服用される医薬品の bioavailability が注目されるようになって久しいが、ヒトにおける bioavailability を予測出来る簡易な試験法の出現が待たれている。薬物が消化管内で溶解し、吸収されるまでの過程は、投与剤形あるいは主薬の物理化学的特性に

よって異なり、bioavailability と相関する *in vitro* 試験法もまた夫々に異なると考えられる。今回、溶解度の極めて小さい弱酸性薬物の bioavailability の簡易試験法を検索する目的で、市販フルフェナム酸 (FA) カプセルを用い、溶出試験とヒトにおける bioavailability 試験を行い、比較検討した。

〔実験〕

試料 市販 FA カプセル 31 銘柄

溶出試験装置: JPIX 崩壊試験変法 (OB), 回転バスケット法 (USP), パドル法 (PAD), Sartorius Solubility Simulator (SSS). 溶媒: 1, pH 7.6 緩衝液, 2, pH 変化法 pH 1.2 (30分)→pH 6.4 (90分)→pH 7.6, 3, 同 pH 1.2 (5分)→pH 6.4 (90分)→pH 7.6, 4, 1 の溶媒に 0.5% tween 80 を添加, 5, 2 の溶媒に 0.5% tween 80 を添加, 6, 3 の溶媒に 0.5% tween 80 を添加。

4つの装置を用いて上記の溶媒を組み合わせる溶出試験を行った。

Bioavailability 試験 健康成人女子 15 名 (20~21 歳, 体重 40~59 kg) を被験者とし, 5 群に分け 5 銘柄の FA カプセルをラテン方格に割りつけた。投与間隔は 2 週間とした。一晩絶食後, 早朝水 200 ml と共に

FA カプセル (FA 100 mg 含有) を 1 カプセル 服用し、以後 4 時間目まで飲食を禁じた。経時的に採血を行い、血清を分析時まで凍結保存した。ケイ光法により血清中の遊離 FA を定量した。

〔結果及び考察〕市販 31 銘柄の FA カプセルについて数種類の溶出試験を行い、異った溶出特性を示し

た 5 銘柄を選択、更に溶出試験を行うとともに bio-availability 試験の試料とした。

Table 1 に各々 3 回の溶出試験の平均 50% 溶出時間 (T_{50}) を示した。A はいずれの方法においても速やかに分散、FA の溶出速度も大きい。B は顆粒から成り、分散は速いが 100% 溶出するのに時間を要した。

Table 1. Results of Dissolution Tests

a) Medium, pH 7.6		Average Time to Dissolve 50% (min)				
Formulation	OB-1	USP-1	USP-4	Pad-1	Pad-4	Sar-1
A	3.4	6.5	4.4	5.8	5.6	9.0
B	11.9	33.9	12.2	19.9	9.8	21.0
C	3.0	4.9	3.4	4.5	3.6	9.0
D	8.0	158.8*	17.1	161.8**	11.3	24.0
E	7.6	>180	37.5	166.8*	24.6	60.0

b) Medium, pH 1.2—6.4—7.6		Average Time to Dissolve 50% (min)					
Formulation	OB-2	OB-3*	USP-2	USP-5*	Pad-2	Pad-5*	Pad-6*
A	31.5	4.2	31.8	9.3	32.2	5.6	7.0
B	72.8	12.0	146.3	128.7	122.2	59.0	22.8
C	35.3	17.7	88.2	34.0	43.8	11.9	6.2
D	32.6	33.0	129.0*	35.0	68.2	27.7	10.3
E	33.4	27.0	>180	121.3	129.7	31.3	34.8

* The value of one capsule

** The average value of two capsules

Table 2. The Bioavailability Parameters of Flufenamic Acide in Human

Parameters Plasma Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Formulations					
	A	B	C	D	E	
0.75 (hr)	7.95	5.04	3.62	4.14	4.10	<u>A>B>D>E>C*</u>
1.5	8.79	7.90	7.12	6.34	5.44	n.s.
2.5	6.64	5.42	6.27	7.34	6.60	n.s.
4.0	3.23	2.87	3.89	4.58	3.98	<u>D>E>C>A>B**</u>
6.0	1.10	1.23	1.80	1.77	2.12	<u>E>C>D>B>A*</u>
8.0	0.49	0.41	0.65	0.75	0.89	<u>E>D>C>A>B**</u>
$T_{\max}$ (hr)	1.50	1.53	2.08	1.97	2.42	n.s.
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	11.28	8.87	9.36	9.19	9.02	n.s.
AUC_8 (hr· $\mu\text{g/ml}$)	30.31	25.34	27.80	29.90	28.19	<u>A>D>E>C>B**</u>
AUC_{∞}	31.37	26.43	29.32	31.68	30.23	<u>D>A>E>C>B**</u>
k_{el} (hr^{-1})	0.478	0.513	0.477	0.463	0.451	n.s.

** Significant at $P=0.05$

* Significant at $P=0.01$

n.s. Nonsignificant at $P=0.05$

CはpH変化法においてAよりもFAの溶出速度が遅く、D、Eは特に界面活性剤を含有しない USP、PAD法において極端に分散が悪く溶出が遅れた。

Table 2 に各銘柄について、bioavailability のパラメーターの平均値並びに分散分析の結果を示した。0.75 および 4 時間目以降の FA 血中濃度に有意差が認められ、また血中濃度下面積 (AUC) にも有意差があった。これらのことより、吸収速度においてはAが優れ、EおよびCが劣ること、吸収量においてはBが悪いことが判明した。

全般的に bioavailability のパラメーターと各溶出試験における pH 変化法による結果との間の相関係数が高く、一方 pH 7.6 で行った溶出試験の結果との間のそれは低かった。吸収速度を示すパラメーターのひとつとして考えられる 1.5 時間目の FA 血中濃度と USP-5 (T_{20})、OB-3 (T_{50}) との間に、また吸収量に比例する値である AUC と PAD-5 (T_{70})、USP-5 (T_{70})、OB-2 (T_{20} , T_{50}) との間に有意の相関性が認められた。したがって、溶解度の極めて低い弱酸性薬物の溶出試験はいきなり中性の溶媒で始めるより、まず第一液で行った後に中性付近の pH に持っていく方がよいと考えられる。このことは、この種の薬物が胃では崩壊するが溶出せず、腸に達して始めて溶出、吸収されることを思い起こせば理にかなっていると言える。

今回、tween 80 を添加しないで行った USP 法と PAD 法の結果は bioavailability 試験の結果とはかなりかけ離れたものとなった。カプセルの溶出試験をこれらの装置を用いて行う場合には、溶媒に界面活性剤を添加して、粉末の濡れをよくする工夫が必要である。

グリセオフルビン製剤の Bioavailability と *in vitro* 試験の関連について

薬 品 部

難溶性の医薬品においては、溶解速度がその薬物の *in vivo* における吸収速度、吸収量に影響することが知られている。

グリセオフルビン (GF) は水に対する溶解度が約 $30 \mu\text{g/ml}$ (37°) と極めて小さく、粒子径を減少させることにより比表面を増大し、それにより薬物の溶解速度を大きくすると生物学的利用率が増大することが報告されている。

今回、我々は市販の微粒子型グリセオフルビン錠、

およびポリエチレングリコール (PEG) 分散体となっている超微粒子グリセオフルビン錠を用い、難溶性薬物の *in vitro* 溶解速度、崩壊時間と bioavailability との相関性について検討を行った。

〔実験〕

試料：市販グリセオフルビン錠、10 銘柄、PEG 分散型グリセオフルビン錠、1 銘柄。各製剤共、1 錠中 125 mg の GF 含有。

1) *In vitro* 試験

a) 溶解速度の測定

a-I, Sink 方式：ビーカー法 (溶媒 18 l, 攪拌速度 512 rpm)

a-II, Non sink 方式：JPIX 崩壊試験法 (溶媒 950 ml), 回転バスケット法 (溶媒 900 ml, 120 rpm)。

溶媒は pH 7.2 緩衝液, $37.0 \pm 0.5^\circ$ で行い、溶解量は吸光度 (290 nm) から計算。

b) 崩壊試験, JPIX 崩壊試験法に従い、溶媒として pH 7.2 緩衝液を用いた。

2) *In vivo* 試験

試料は PEG 型 GF 錠 (A), および溶解速度の異なる市販 GF 錠, 3 製品 (B, C, D) の計 4 製品を選んだ。

実験計画：健康成人男子 (22~51 歳) 12 名を被験者とし、4×4 ラテン方格クロスオーバー方式で行った。

投与方法：被験者は一夜絶食後、試料 1 錠を水 200 ml で服用、以後 4 時間迄は飲食を禁じた (アルコール類は服用前日から、他の薬剤は服用一週間前からその摂取を禁じた)。休業期間は 2 週間とした。

サンプルの採取と分析：薬物投与後、1, 3, 5, 8, 23.5, 33, 47.5 時間に血液 5 ml を採取し血清中の GF を ECD ガスクロマトグラフィー (5% OV-17 on chromosorb W, ϕ 3 mm×1 m, 245°) で分離定量。

〔結果と考察〕

I. *In vitro* 試験

Table 1 に bioavailability 試験に用いた 4 種の錠濃の溶解試験、崩壊試験の結果を示した。

崩壊時間は $B > A > D > C$ であるのに対し、溶解時間は $D > C \gg A > B$ の全く相反する結果となり、錠剤の崩壊が即、溶解を示し得ない結果が得られた。

II. *In vivo* 試験

血中濃度一時間曲線を Fig. 1 に、各時間における血中濃度、最高血中濃度 ($C_{\max}$)、およびその到達時間 ($T_{\max}$)、血中濃度下面積 (AUC)、更に統計的解

Table 1. Dissolution Rate and Disintegration Time of Griseofulvin Tablets

	Formulation			
	A	B	C	D
Disintegration Time (min)	11.4	15.7	0.5	3.08
Dissolution				
Beaker Method T_{50}^* (min)	13.8	8.1	117	211
Rotating Basket Method T_5 (min)	3.8	3.7	14.4	24.1
JP. IX Disintegration Method T_5 (min)	4.9	4.8	12.9	18.7

* Time required for 50% dissolution

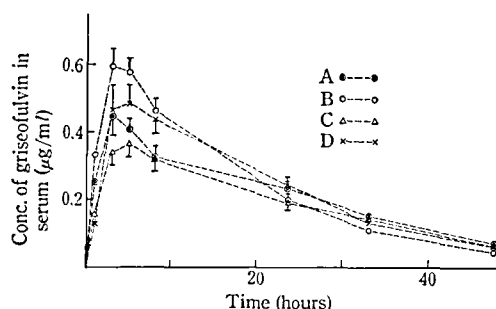


Fig. 1. Mean serum levels of Griseofulvin after oral administration of 125 mg Griseofulvin Tablets to Humans

The vertical lines indicate standard errors

析を Table 2 に示す。

血中濃度は 1 時間値を除き 8 時間迄の間 (GF の吸収時期に相当すると推定される) はいずれも $B > D > A > C$ の順で、また C_{max} も全く同一の傾向を示し、 $B > D > A > C$ の順に吸収速度が大きいことが推測された。

しかし、吸収速度を推定させるもう一つのパラメーターである T_{max} においては B 製剤が他の製剤より早い T_{max} を示したが、統計的に有意な差は認められなかった。 T_{max} に対しては製剤の溶解速度以外に、胃内容排泄時間等の生理的要因が大きく影響してくるために、製剤間の差が検出しにくいと思われる。

AUC においては $AUC_{0-47.3}$ で比較すると $B, D > C$ という結果が得られたが $AUC_{0-\infty}$ に差はみられず、したがって吸収量に関しては 4 種の製剤共、等価とみなしてよいと思われる。

III. Bioavailability と *in vivo* 試験の相関性について

崩壊時間と bioavailability のパラメーターとの相関

性を調べた結果、Table 3 に示したように $AUC_{0-47.5}$ 、 C_{max} との間に正の相関関係がみられた。これでは崩壊が遅い製剤程、吸収速度、吸収量が良いという関係になってしまい、理論的に矛盾を生じる。したがって、GF 製剤の生物学的同等性の評価に JPIX 崩壊試験法を用いることは適当でないと思われる。

溶解試験の結果と *in vivo* の結果との相関性を Table 4 に示す。溶解速度のパラメーターとしては T_{50} 、 T_5 (50%、および 5% 溶解時間)、またはその逆数を使用した。

いずれの溶解試験法でも *in vivo* データとの相関性は小さく、ここに取りあげた試験法では *in vivo* での bioavailability を正しく評価するのは困難と思われる。 $AUC_{0-47.5}$ と溶解試験との間の相関性を比較すると、回転バスケット法の T_5 が、また C_{max} との間では回転バスケット法の T_5 、およびビーカー法の $1/T_{50}$ が少し良い相関性を示しただけで他は良い相関関係が得られなかった。 T_{max} は崩壊試験法の T_5 、 $1/T_5$ 、ビーカー法の T_{50} 、 $1/T_{50}$ との間に比較的良い相関関係が得られたが回転バスケット法の間での相関係数は小さかった。

これらのことから、GF の bioavailability に対しては、その溶解速度が一つの大きな要因になっていることは間違いないと思われるが、それ以外に生理的要因、または製剤的要因と生理的要因の相互作用も考えられ、より正しく *in vivo* の結果と対応しうる *in vitro* 試験法の開発を進めると共に、溶解速度が単純に bioavailability の結果と結びつくかどうかについての検討も必要と思われる。

Table 2. Serum Concentration, Peak Level (C_{max}), Time to Peak (T_{max}) and Area Under Curve Following Oral Administration of 125 mg Griseofulvin Tablets to Humans

Parameters		Tablets				ANOVA	Turkey's Multiple Range Anal. ($p < 0.05$)
		A	B	C	D		
Serum Conc. ($\mu\text{g/ml}$) at	1 Hour	0.250 $\pm$ 0.200	0.331 $\pm$ 0.166	0.155 $\pm$ 0.088	0.127 $\pm$ 0.079	$p < 0.01$	$B > C, D$ $B > A > C > D$
	3	0.447 $\pm$ 0.225	0.594 $\pm$ 0.181	0.340 $\pm$ 0.141	0.463 $\pm$ 0.256	$p < 0.01$	$B > A, C, D$ $B > D > A > C$
	5	0.408 $\pm$ 0.123	0.577 $\pm$ 0.156	0.366 $\pm$ 0.130	0.486 $\pm$ 0.216	$p < 0.01$	$B > A, C$ $D > C$ $B > D > A > C$
	8	0.325 $\pm$ 0.117	0.462 $\pm$ 0.134	0.321 $\pm$ 0.120	0.439 $\pm$ 0.141	$p < 0.01$	$B > A, C$ $D > C$ $B > D > A > C$
	23.5	0.234 $\pm$ 0.072	0.199 $\pm$ 0.077	0.192 $\pm$ 0.066	0.243 $\pm$ 0.086	$p < 0.05$	$D > B, C$ $D > A > B > C$
	33	0.152 $\pm$ 0.064	0.109 $\pm$ 0.051	0.147 $\pm$ 0.068	0.133 $\pm$ 0.083	NS	
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	47.5	0.071 $\pm$ 0.039	0.046 $\pm$ 0.022	0.072 $\pm$ 0.036	0.062 $\pm$ 0.037	$p < 0.05$	$C > B$ $C > A > D > B$
		0.502 $\pm$ 0.169	0.661 $\pm$ 0.159	0.395 $\pm$ 0.125	0.550 $\pm$ 0.238	$p < 0.01$	$B > A, C$ $D > C$ $B > D > A > C$
T_{max} (hours)		5.3 $\pm$ 5.8	3.6 $\pm$ 1.1	6.0 $\pm$ 5.7	7.9 $\pm$ 7.5	NS	
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$)	0-1 hr	0.125 $\pm$ 0.100	0.166 $\pm$ 0.083	0.078 $\pm$ 0.044	0.063 $\pm$ 0.040	$p < 0.01$	$B > C, D$ $B > A > C > D$
	0-3	0.821 $\pm$ 0.499	1.092 $\pm$ 0.39	0.573 $\pm$ 0.245	0.653 $\pm$ 0.336	$p < 0.01$	$B > C, D$ $B > A > D > C$
	0-5	1.677 $\pm$ 0.807	2.263 $\pm$ 0.577	1.279 $\pm$ 0.466	1.602 $\pm$ 0.771	$p < 0.01$	$B > A, C, D$ $B > A > D > C$
	0-8	2.777 $\pm$ 1.115	3.822 $\pm$ 0.776	2.308 $\pm$ 0.784	2.990 $\pm$ 1.253	$p < 0.01$	$B > A, C, D$ $D > C$ $B > D > A > C$
	0-23.5	7.111 $\pm$ 2.205	8.950 $\pm$ 1.849	6.280 $\pm$ 1.865	8.282 $\pm$ 2.038	$p < 0.01$	$B > A, C$ $D > C$ $B > D > A > C$
	0-33	8.946 $\pm$ 2.558	10.418 $\pm$ 2.226	7.887 $\pm$ 2.154	10.068 $\pm$ 2.029	$p < 0.01$	$B > A, C$ $D > C$ $B > D > A > C$
	0-47.5	10.565 $\pm$ 2.952	11.547 $\pm$ 2.623	9.471 $\pm$ 2.505	11.481 $\pm$ 2.381	$p < 0.01$	$B, D > C$ $B > D > A > C$
	0- ∞	11.829 $\pm$ 3.920	12.303 $\pm$ 2.966	11.269 $\pm$ 3.165	12.762 $\pm$ 2.809	NS	

Table 3. Correlation of AUC, C_{max} , T_{max} and Disintegration Time

	r
$AUC_{0-47.5}$	0.557
C_{max}	0.881
T_{max}	-0.789

Table 4. Correlation of AUC, C_{max} , T_{max} and Time for 5% or 50% Dissolution (T_5 , T_{50})

	Disintegration Method (JP. IX)		Rotating Basket Method		Beaker Method	
	T_5	$1/T_5$	T_5	$1/T_5$	T_{50}	$1/T_{50}$
$AUC_{0-47.5}$	-0.029	0.249	-0.772	0.458	0.010	0.448
C_{max}	-0.338	0.507	-0.790	0.647	-0.311	0.732
T_{max}	0.918	-0.860	0.380	-0.744	0.913	-0.894

医薬品の溶出試験法に関する研究 —各種溶出試験法の特長および変 動要因について—

大阪支所薬品部

医薬品製剤の生物学的利用能とその支配的因子である溶出の問題が重要視されて以来、種々の *in vitro* の溶出試験法が考案されているが、公定書収載を目的とした USP XIX の回転バスケット法 (rotating basket method, RB 法), パドル法 (paddle method, PD 法), NF XIV の崩壊試験法 (disintegrating method, DT 法), とこれに代わるシングルバスケット法 (single basket method, SB 法) などの操作条件について検討を加え、遭遇した問題として各種溶出試験法の特長と変動要因の解析を試みた。

さらに、bioequivalency に問題となったジキタリス製剤の溶出試験法の設定を行った。

〔1〕 RB 法, RD 法, DT 法および SB 法の溶出特性

1) 溶出速度におよぼす攪拌強度の影響について

製剤の溶出特性に最も適合した溶出試験装置を選択する場合、薬物の溶出速度に影響を与える要因の一つとして、攪拌強度が挙げられる。アマランス・KBr 試作錠 (Fig. 1) とブレドニゾロン市販錠の溶出速度 (T_{50} %) と回転数の関係を両対数プロットで示した

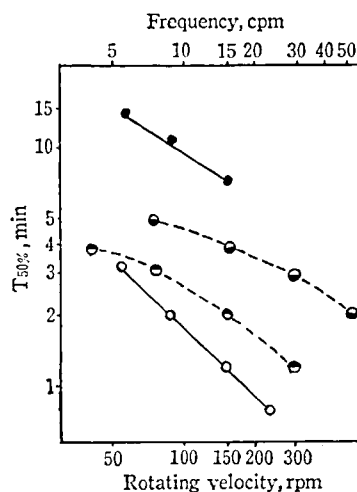


Fig. 1. Effects of rotating velocity or frequency on 50% Dissolution time, T_{50} %, of amaranth from amaranth-potassium tablets

RB method —●—, PD method —○—, DT method --●--, SB method, --○--

場合、攪拌方法が RB 法あるいは PD 法のような回転運動では比例し、DT 法あるいは SB 法のような上下運動では比例しない。さらに、同じ攪拌速度では RB 法より DT 法の方が溶出速度は大きく、攪拌効果は増大している。

2) 装置間の溶出特性の相関性

各装置間の溶出特性を比較する方法として、プレドニゾロン市販錠について、RB 法の 100 rpm における溶出率 (x) に対し、RB 法以外の各攪拌強度における溶出率 (y) との相関曲線を求めた¹⁾。Fig. 2 に示すように、RB 法と一致するときは原点を通る傾き 1 の直線となるが、一致しないときは (0, 0), (100, 100) を通る曲線となる。相関性を表わす方法として、 $y=x$ との偏り、すなわち斜線面積と $y=x$ 下の面積比を求め RB 法より速い場合は (+), 遅い場合は (-), 交叉する場合は (±) で表わし、図中の数字は比を示した。

SB 法の 30 cpm は RB 法の 100 rpm のときの溶出特性と優れた相関性が観察された。DT 法の 30 cpm は攪拌力が強いいため溶出は速く、7.5~15 cpm では RB 法の 100 rpm に近似した相関図が得られる。一方、PD 法は各回転数の片対数と面積比のプロットからプレドニゾロン錠では 80 rpm、インドメタシンカプセルでは 50~70 rpm が RB 法の 100 rpm と良く相関した。RB 法と SB 法の良好な相関性は、basket 内外の攪強度が同等であることを示している。

[2] ジキタリス製剤の溶出試験法の設定

1) 溶出液の選定と定量法

JP 10. 対象のジキタリス製剤の溶出試験法は、この薬物の bioavailability—小腸上部で大部分の薬物が吸収される—を考慮すると、BP 1978 の水を溶出液として用いる方が妥当であろう。しかし、ジギトキシンの希薄水溶液は屢々ガラス容器、器具およびメンブランフィルターなどに吸着し、低い定量値を与えるので、あらかじめ界面活性剤 Tween 80 を器具に被覆して回収率の向上を図った (Table 1)。

一方、USP XIX では希塩酸を溶出液に採用しており、ジギトキシンのゲニンを生成するという報告²⁾にみられるように、ジギトキシムも 37°, 希塩酸溶液中で半減期 24 分で容易にジギトキシゲニンに加水分解されるが、高速液体クロマトグラフィーによると生成したゲニンは 2 時間以内では安定である³⁾。この希塩酸溶液中でのゲニンの生成は蛍光定量値に影響を与えない。このような事実から溶出液を希塩酸溶液に規定する方が定量法にとって適切であると考ええる。

市販のジギトキシム錠は 0.1 mg, 0.025 mg/T の二種類あり、蛍光定量法には前操作として抽出濃縮による増感度が必要であり、ジギトキシンのクロロホルム

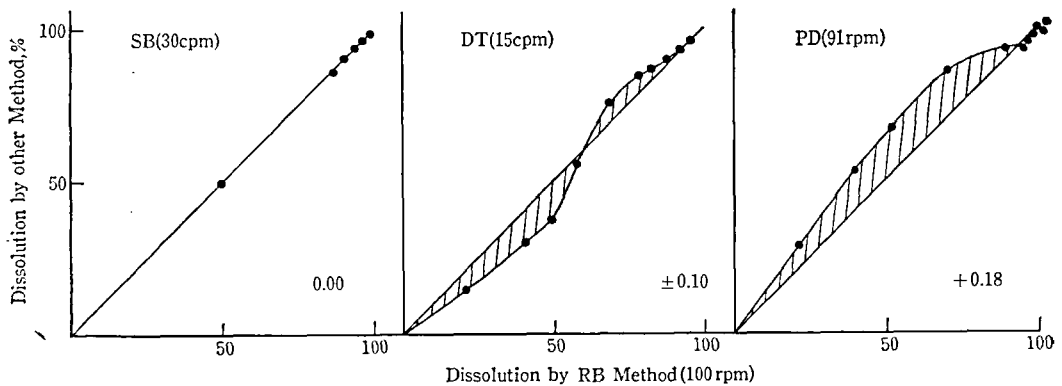


Fig. 2. Similarity of Dissolution Curves for Prednisolone Tablets

Table 1. Recovery of digitoxin on addition of Tween 80

Conc. (%) of Tween 80 in standard soln.	Recovery (%)	S.D.	Glassware treated with 0.05% Tween 80
0	86.07	1.56	unused
0	98.63	2.97	used
0.01	34.75	4.14	unused
0.001	95.74	0.60	unused
0.0001	96.03	1.32	unused

Table 2. Content of digitoxin tablets* by proposed method

Dissolution medium	d-HCl (3 in 500)		H ₂ O**	
	$\bar{x}$ (%)	SD (n=6)	$\bar{x}$ (%)	SD (n=6)
(1) Standard soln.	100.0	1.69	100.0	2.00
(2) Filtrate of standard soln.	99.4	1.55	96.4	1.67
(3) Supernatant of sample soln.	97.4	2.56	98.5	2.37
(4) Filtrate of sample soln.	96.7	2.70	95.4	2.16
(4)/(2)×100	97.3	2.75	99.0	2.23
(4)/(3)×100	99.2	2.77	96.9	2.19

* Sample A : 0.1 mg/Tab., Lot No. 2300, Cu- $\bar{x}$ % 99.2, SD 2.33 (n=10)

** Glassware treated with 0.05% Tween 80

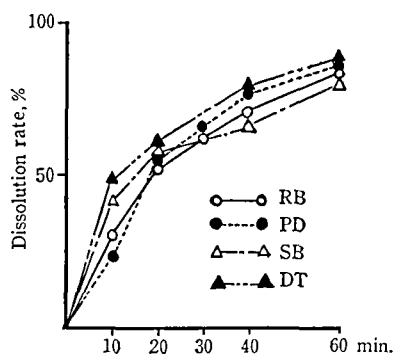


Fig. 3. Dissolution curves of digitoxin tablets
B Dissolution medium d-HCl (3→500)

抽出率は約 90% であるのに対し、ゲニンの抽出率はほぼ 100% を示すことから、希塩酸溶出液中で 37°, 2 時間 incubate 操作を追加し、クロロホルムで 1 回抽出し濃縮後、アスコルビン酸-塩酸溶液と過酸化水素試液による蛍光定量法を確立し、Table 2 に希塩酸溶液と水を溶出液とした場合の回収率を示した。

2) ジギトキシン錠の装置間の溶出特性について

ジギトキシン市販錠について、RB 法 (100 rpm), PD 法 (100 rpm), DT 法 (15 cpm) および SB 法 (30 cpm) の溶出曲線を Fig. 3 に示した。DT 法は溶出が速く、SB 法はバラツキが小さいが、崩壊粒子が溶出液中で均一に分散される RB 法あるいは PD 法が最適であろう。このことは共通試料を 4 機関で実施した結果を二元配置による分散分析 (JIS. Z 8402-1974, Grubbs の方法) を行い室間精度に有意差のないことから実証された。

参 考 文 献

- 1) 増川健二: 医薬品研究, 10, 219 (1979)

- 2) L.A. Sternson, R.D. Shaffer: *J. Pharm. Sci.*, 67, 327 (1978)

- 3) 辻 澄子, 伊阪 博, 持田研秀: 衛生試験, 97, 154 (1979)

たん白質製剤 (酵素剤) の抗原性に 関する研究

生物化学部

酵素製剤の中には酵素すなわちたん白質を腸管よりそのままの形で吸収させその効果を期待する腸溶性の経口剤がある。カリクレイン製剤や多くの消炎酵素剤がこれである。この場合、たん白質の腸管吸収が問題となるが、例えばカリクレイン、インシュリンなどでは活性でみて投与量の 0.3~3% が腸管から吸収されるといわれている^{1,2)}。これはたん白質が腸管から吸収され得るという主張を裏付けるものであるが、ここでもし腸管吸収にたん白質に対する選択性がないとすれば、混在する不純たん白質にも当てはめて考えねばならぬことで、一部で考えられているように経口投与剤であるからとの理由で不純たん白質の混在を軽視することは安全性の面から問題となる。一方、たん白質や臓器抽出物などの注射用製剤には抗原性試験 (全身アナフィラキシー試験) が不可欠の試験項目として挙げられている。しかし実際に採用されている規格試験のほとんどは、デキストラン 40 注射液に適用されている方法に準じてはいるが、感作および惹起量、感作の回数およびその間隔、陽性の対照として用いる物質およびその用量などの細目についてはかなりまちまちである。

そこで、ブタすい臓性カリクレインをモデル物質として、その純度と抗原性との関係、混在たん白質成分

の腸管吸収性などについて安全性の面から検討し、たん白質製剤の今後の規格設定に役立てるため、つぎの項目について検討した、

1) 夾雑たん白質と抗原性（全身アナフィラキシー反応）との関係

Table 1 に試験条件および成績を示したが、これから次のような結論を得た。

- ① カリクレイン標品中にはカリクレインそのものよりも強い免疫原性を示すたん白質が存在した。
- ② 陽性対照に用いる馬血清の投与量は、多量過ぎるとその意味がなく、原血清を約 100 倍程度に希めて用いるべきであろう。
- ③ 陽性対照とは別に、動物の反応性および試料自体の薬理作用等によるショック様症状の発現をチェックするため、例えば前者については感作・惹起ともに生理食塩液を、後者には感作に生理食塩液、惹起には試料を投与するなどした陰性の対照も置くべきであろう。

2) 各種カリクレイン標品中の混在たん白質

各種の調製法および比活性の異なるカリクレイン12

種類（それぞれの比活性は Fig.1 を参照）について、DISC 電気泳動法ならびに免疫電気泳動法を用いて混在たん白質成分を分析した。

DISC 電気泳動法によって得られた泳動図は、ほぼその比活性に対応した種類と量の混在たん白成分の含有を示していた。

免疫電気泳動法によって得られた結果を Fig.1 に示す。この結果より、極めて純度の低い（比活性、0.5 単位/mg）カリクレインにより調製したウサギ抗血清に対して反応性を示すたん白質成分、すなわち免疫抗原となりうる混在たん白質が各標品に存在し、また、免疫原性たん白質の種類や量は必ずしも比活性とは関係なく、むしろその調製法に依存していると思われる場合もあった。このことは、比活性は純度に関する一つの目安ではあるが、免疫原性に関する目安とは必ずしもなりえない、すなわちそれだけでは安全性と結びつけることができないことを示唆している。

3) 混在たん白質成分の腸管壁透過性

混在たん白質成分を多く含むカリクレイン（比活性、5 単位/mg）を試料とし、混在たん白質の腸管壁

Table 1. 全身アナフィラキシー試験成績
— 試料及び 1 群 5 匹中の陽性反応動物数 —

試料 用量 (mg/kg)	馬血清*	カリクレイン (単位/mg)						
	(+) 対 照	K-7 (0.5 u)	K-1 (5 u)	K-20 (22.2 u)	K-100 (105.5 u)	K-J (175.6 u)	K-O (1, 105 u)	KO-SP** (2, 000 u)
0.1	d0 h0	b0	—	c0	e0	e0	—	—
0.2	f2 h1	—	a3	—	e0	e1±1	—	—
0.5	c3 e4 h3	b3	b5(3)	c4(1)	d3(3)	f5(3)	e0 f2 e4(1)	e0
1	d4 e5 h5(3)	—	b5(4)	—	—	—	—	—
2	c5(3)	a5(4)	—	c5(3)	c2(1)	f5(5)	e3(2) f4(2) e2(1)	e0
5	—	—	—	d4(3)	d4(2)	—	—	—

動物：ハートレー系モルモット（♂），体重 200～300 g

注射：第 1，3 日感作（I.P.），第 18 日惹起（I.V.），投与容量：当日の体重 100 g につき 0.1 ml

a～h は同じ日に行った実験を示す。（ ）内は陽性反応中の死亡数を示す。

* MILES, Horse Serum, Lyophilized (60 mg/ml→原血清)

** KO-SP は、SP セファデックスにより K-O を精製したもの

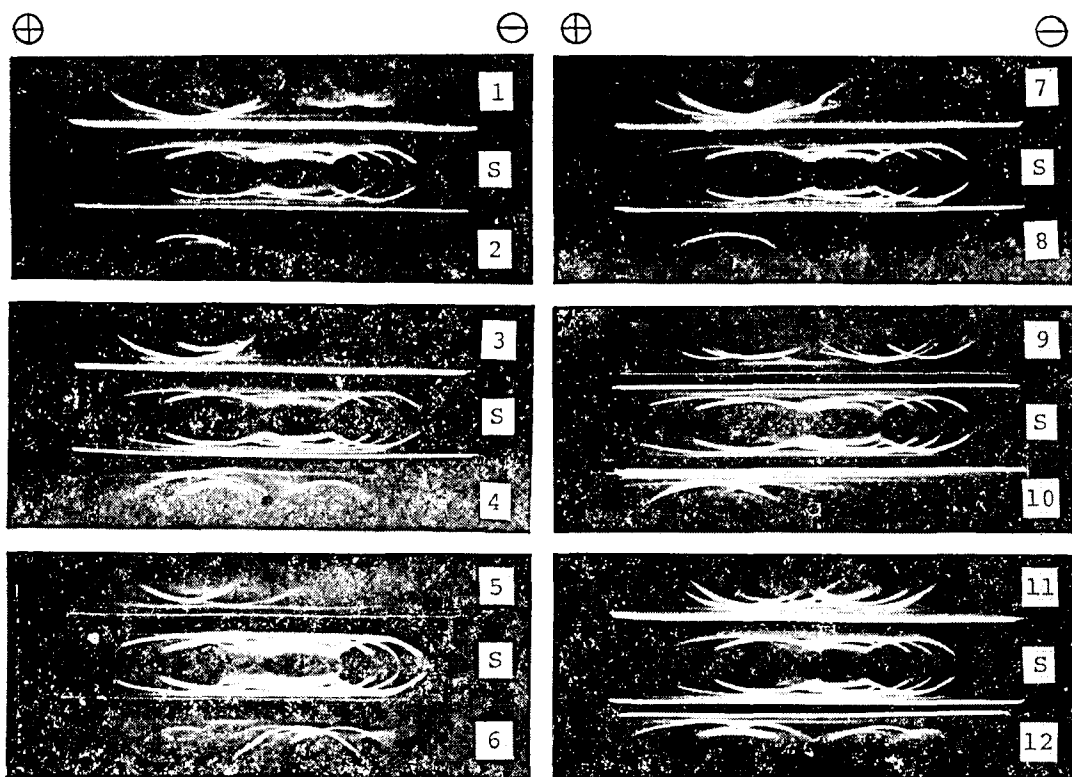


Fig. 1. 各種カリクレイン (1~12) の免疫電気泳動

抗血清：比活性の低い標品 (0.5 単位/mg) で調製したもの。

S, 5 単位/mg; 1, 1105 単位/mg; 2, 50 単位/mg; 3, 309 単位/mg; 4, 176 単位/mg; 5, 37 単位/mg; 6, 5.5 単位/mg; 7, 63 単位/mg; 8, 15 単位/mg; 9, 37 単位/mg; 10, 21 単位/mg; 11, 33 単位/mg; 12, 23 単位/mg

透過性の有無をモルモットを用いて in situ 腸間膜灌流法³⁾ および摘出反転腸管法⁴⁾ により検討した。透過の有無は免疫電気泳動法により各たん白質成分を確認することで判定した。

その結果、この両方法において、試料に含まれる混在たん白質成分が腸管壁を透過すること、さらにその透過には各成分に対してなんら選択性がみられないことが確認された。したがって、混在たん白質も腸管から吸収される可能性があり、さらに、実験の結果が示すように、これら混在たん白質に抗原性が存在する可能性がある以上、経口投与剤といえども混在たん白質の含量を規制することが安全性の上から望ましい。

参考文献

- 1) 山口裕子, 森脇千秋: 現代医療, 10, 1489 (1978)
- 2) M. Laskowski, Jr., H.A. Haessler, R.P. Miech, R.J. Peanasky, M. Laskowski:

Science, 127, 1115 (1958)

- 3) C. Moriwaki, K. Yamaguchi, H. Moriya: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1029 (1974)

- 4) R.K. Crane, T.H. Wilson: *J. Appl. Physiol.*, 12, 145 (1958)

向精神薬、非ステロイド系抗炎症剤、アニリン系解熱鎮痛剤等の連用および併用時における安全性に関する研究

薬理部

薬物の連用または他剤との併用によって薬物の薬効・毒性が変化し、その多くは薬物代謝活性の変動と密接に関係していることがよく知られており、また腎機能の変化も関与している可能性がある。このような作用は製剤中に配合されている薬物によって起こるだ

けでなく、製剤中に含む医薬品添加物によってもひき起こされる可能性も考えられる。そこで、クロルプロマジンとヘキサバルビタールの薬物相互作用、インドメタシン、フェニルブタゾンおよびフェナセチンを連続投与した場合または医薬品添加物である抗酸化剤、保存剤、懸濁化剤、着色剤等を投与した場合の肝薬物代謝活性の変化と腎機能におよぼす影響を検討した。

薬物代謝活性は、ヘキサバルビタール (HB) の睡眠作用、HB の代謝、P-450 含量、P-450 と HB またはアニリンとの結合差スペクトル、NADPH チトクローム c 還元酵素活性 (NADPH cyt. c red.), NADPH 脱水素酵素活性 (NADPH DH), アゾ色素の還元酵素活性を指標とした。腎機能の変化は、尿中、グルタメイト-オキザレイト-トランスミナーゼ、グルタメイト-ピルベイト-トランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素、アルカリ性フォスファターゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ、 γ -グルタミルトランスベプチダーゼ、カテプシン D 活性の変動を指標とした。

1) クロルプロマジン (CPZ) とヘキサバルビタール (HB) の相互の薬理作用におよぼす連続投与の影響

20 mg/kg の CPZ を連続投与すると 2.5 mg/kg の CPZ の運動協調機能 (Rota rod) の低下作用は 5 日間で変わらず、11 日間投与で抑制 (耐性) を示した。11 日間投与は 30 mg/kg の HB の運動協調機能の低下作用に影響をおよぼさなかった。100 μ g/rat の CPZ 脳室内投与による血糖上昇作用は 4 日以上で連用で低下した。CPZ の血糖上昇作用は 50 mg/kg の HB の 1 分前腹腔内投与で抑えられるがこの HB の作用は CPZ 20 mg/kg ip または HB 50 mg/kg ip の 11 日間連続投与により変動しなかった。一方肝ミクロゾームの P-450 含量は 11 日間 CPZ または HB を投与した群でも増加は認められなかった。これらの結果から CPZ の血糖上昇作用は抑制系神経の抑制による興奮系機能の発現で、HB は興奮系神経までも抑制するものと思われる。CPZ の連続投与による耐性は HB に対して交叉はなく、代謝酵素の誘導により惹起されたのではない。

2) 薬物を連続投与した場合の肝および腎機能の変化

1) インドメタシン 2 mg/kg を 10 日間、経口投与した場合、肝ミクロゾームの NADPH cyt. c red. 活性が軽度で低下した以外は薬物代謝系の変化はみられないが、4 mg/kg、10 日間の投与で、NADPH cyt. c red. 活性および P-450 の含量の低下が著明であった。

4 mg/kg では 4 日目より尿排泄量が減少し、2 mg/kg を 1 日 2 回投与した場合尿中諸酵素活性も増加し、腎機能の変化もみられた。

2) フェニルブタゾン 75 mg/kg をラットに 10 日間の連続投与で P-450 含量、NADPH cyt. c red., NADPH DH が有意に増加し、300 mg/kg での増加はさらに著明であり、P-450 と HB またはアニリンとの結合差スペクトルも有意に増加した。尿中の蛋白および諸酵素活性の増加も著明であり、腎機能の変化も考えられる。

3) フェナセチン 6 mmole/kg をラットに 3 日間投与すると薬物代謝活性の増加がみられるが、フェノバルビタール 0.3 mmole/kg 投与群より軽度であった。

フェナセチン 1.5 g/kg の投与群において 2 ~ 4 日後に尿中諸酵素活性の上昇もみられた。

3) 医薬品添加物を連続投与した場合の薬物代謝活性におよぼす効果

抗酸化剤ジブチルヒドロキシトルエン (BHT), 1 mmole/kg をラットに 3 日間経口投与した場合、薬物代謝活性の有意な上昇がみられたが、ブチルヒドロキシアニソール (BHA), δ -トコフェロール, エリソルビン酸, アスコルビン酸, 没食子酸エステル (メチル, エチル, プロピル) の 1 mmole/kg の投与群においては薬物代謝活性の有意な変化はみられなかった。

2) 酸性保存剤

ソルビン酸 1 mmole/kg を 3 日間経口投与しても薬物代謝活性の変化はみられなかった。

3) 結合剤、懸濁化剤、乳化剤等に使用されているカルボキシメチルセルロースナトリウムを 100 mg/kg 3 日間経口投与しても薬物代謝活性の有意な変化はみられなかった。

4) 着色剤

赤色 2 号、赤色 102 号を 1 mmole/kg、7 日間マウスに経口投与しても HB の代謝および HB の睡眠作用に有意な変化はみられなかった。しかし現在は使用禁止されている赤色 1 号、赤色 5 号、赤色 101 号を 1 mmole/kg、3 日間経口投与した場合、HB の代謝が有意に低下し、HB の睡眠作用が著明に延長した。これら色素を 1% 含む飼料を 3 週間与えても赤色 2 号では薬物代謝活性の有意な変化はみられないが、赤色 1 号、赤色 101 号を投与した場合、薬物代謝活性の有意な低下がみられ、ラットに投与した場合より、マウスに投与した場合の方がより著明であった。赤色 101 号は腸内細菌により、アゾ結合が還元され、2,4-キシリジンを生成し、これが腸管から吸収され、肝で N-水

酸化され、代謝活性化を受け、薬物代謝酵素系に影響をおよぼすものと考えられた。

生活関連諸物質の微量分析新技術の開発研究 (第1次)

(昭和51~53年)

世話人 内 山 充

生活環境中の各種有害物質および因子の健康影響評価を主眼とする本所の試験研究は、その分野が物理的、化学的あるいは生物学的手法を主として用いることでいくつかに分かれてはいるが、基本的には「分析」の技術が操作の大半を占めている。

これまで化学と生物の領域における学問研究の水準は、永年の努力の積み重ねによって漸進的に発展して来たというよりも、分析技術の新しい開発によって飛躍的に、段階的に進歩して来ていることは、ワールブルグ検圧計やトレーサー技術あるいはクロマト技術の貢献をあらためて例に出すまでもなく明らかである。

しかもそれらの新しい技術は、分析法や分析機器の専門家によってというより、むしろ分析法のユーザーである化学者や生物学者によって開拓されて来ている。

われわれは日常業務として多くの物質を対象として分析操作を行いつつあるが、そこには幾多の問題点が残されている。それらは感度であったり精度であったり再現性に関することであったり、あるいは前処理とかクリーンアップに関することであったりしている。それらを日常業務の中で漸進的に改良し進歩させることは、当然われわれに課せられた継続的使命であるといえる。

しかし、本所の如く物理、化学、生物学にわたって広い分野の研究者がそれぞれ同じ目的をもって試験研究にたずさわっているところでは、他分野の研究者の研究成果に身近に接しそれを自らの試験研究に取り入れることが極めて容易であるという利点を有している。そして分析操作上かかえている問題点を時には新しい発想の下で転換して解決することを試みなければならぬ。

本特別研究は以上のような観点から分析技術の発展をはかるために昭和51年度から3ヶ年計画で始められた。分担は食品部、療品部、環境衛生化学部、食品添加物部、衛生微生物部、医化学部、病理部(変異原性

部)、支所食品部の8部である。第1次の3ヶ年を終えるに当たりこれまでに得られた成果の概要をそれぞれの課題について示した、ここに現われた成果はそれぞれ自己の関連の分野において新技術といえるものであるのと同時に、他分野の研究者に応用されて何等かの有用性を発揮することができればそれこそ本研究の目的とするところである。なお研究成果の詳細については、それぞれの分担者が既に刊行した文献を参照されたい。

TLC-けい光分析における高感度 検出法の開発

食 品 部

〔目的〕 TLC-けい光濃度法は実用微量分析法として各分野で繁用されており、さらに検出感度の向上が望まれている。プレート上のけい光物質に流動パラフィンのような粘性有機溶媒を噴霧するとけい光強度が増加し長時間にわたって安定であるという新知見を得たことから、TLC-けい光濃度法の増けい光による高感度検出法を開発した。

〔方法〕 薄層クロマトグラフィー (TLC) において、けい光スポットを展開したのち、展開溶媒を1時間以上暗所、室温で放置し揮散させる。つぎに原点から等 R_f 値の位置に増けい光剤が均一にかかるように噴霧し、さらに1時間放置したのちけい光密度メーターでスポットのけい光強度を測定する。なお、同時に同一プレート上標準溶液をスポットし同様に操作したのち検量線を求め定量する。

増けい光剤は極性溶媒系としてグリセリン-エタノール混液 (1:1) および無極性溶媒系として流動パラフィン-*n*-ヘキサン混液 (2:1) を主として使用した。

均一噴霧装置は速度調整器付きベルトコンベアー、窒素ガス圧力調整器付き噴射びんおよびスリット付き噴霧箱を有する装置を考案し使用した。

〔結果と評価〕

1. 増けい光に関する物性

けい光物質として 5-dimethylamino-1-naphthalene sulfondimethylamide (DNS-DMA) を用いて検討した結果、プレート上の増けい光作用は薄層に対する光の透過性と直接関係がなく、噴霧剤のけい光物質に対する溶媒効果と推定された。その結果最適増けい光剤は極性、粘度および酸性度などの因子によって決定され、DNS-アミンにおいては無極性で粘度が高く酸性物質を含まない流動パラフィン-*n*-ヘキサン混液 (2:1) が有効であった。

2. DNS 化によるアンモニア, monomethylamine (MMA) 及び DMA の定量

アンモニアおよび揮発性アミンの回収方法、DNS 化法、TLC などとは既報 (食衛誌: 17, 345 (1976)) に従い操作した後、流動パラフィン-*n*-ヘキサン混液 (2:1) を均一噴霧装置で噴霧すると DNS-アミン類のスポットは一樣に増けい光し、アンモニア、MMA および DMA に関して試験溶液の濃度で表わすと各々 $1 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-4}$ M の範囲で濃度とけい光強度の間に直線性を示した。したがって増けい光剤を噴霧しない場合の定量下限 1×10^{-4} M に比べて 10 倍も感度を高めることができた。

Fig. 1 は市販の冷凍エビ中のアンモニアおよび揮発性アミンの TLC-けい光濃度法による結果を示したものである。Fig. 1(B) は本法の増けい光剤を噴霧した後、けい光強度を測定したスキャノグラムである。この結果から明らかにように増けい光剤を噴霧したものは大きくけい光強度が高まっており、微量の DMA も精度よく含量を求めることができた。

3. その他のけい光物質に対する増けい光

この粘性有機溶媒をもちいる増けい光は DNS-アミン類だけでなく他のけい光物質にも有効であった。

まずベンゾ (a) ピレンについて本法を応用したところ、増けい光剤、流動パラフィン-*n*-ヘキサン混液 (2:1) で実に 35 倍もけい光強度を高めることができた。なお Fig. 2 に示すように透過型および反射型けい光濃度計による測定において、両者とも増けい光して観察された。

一方、マイコトキシンについて、オクラトキシンはグリセリン-エタノール混液 (1:1) を噴霧することにより 2 倍に、アフラトキシン B₁ は流動パラフィン-*n*-ヘキサン (2:1) で 2.5 倍に増けい光することが判明した。

今後、同様な効果が種々のけい光物質についても期待できるので、簡易微量分析法である TLC-けい光濃度法の有力な増けい光法として本法は実用価値があると考えられる。

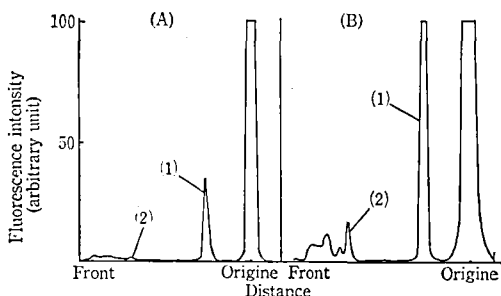


Fig. 1. TLC-fluorodensitometry of DNS-volatile amines derived from frozen shrimp (A) Before spraying; (B) After spraying; (1) DNS-ammonia; (2) DNS-DMA; Fluorescence-enhancing reagent: Liquid paraffin-*n*-hexane (2:1)

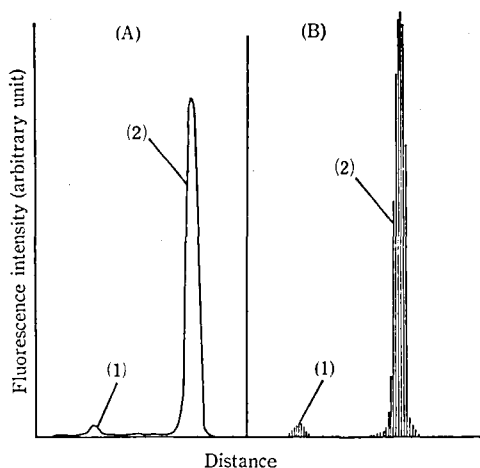


Fig. 2. Fluorescence-enhancing effect of the liquid paraffin solution on benzo(a)-pyrene spot on a silica gel plate

(A) Measured by transmission method; (B) Measured by reflection method; (1) Not sprayed; (2) Sprayed; Each spot: 0.4 μ g; Fluorescence-enhancing reagent: Liquid paraffin-*n*-hexane (2:1)

発表論文

- 1) 内山貞夫, 近藤竜雄, 内山充: 分析化学, 26, 762 (1977)
- 2) S. Uchiyama, M. Uchiyama: J. Chromatogr., 153, 135 (1978)

異種化合物を内部標準物質とする マスフラグメントグラフィー

療 品 部

マスフラグメントグラフィーは通常の質量分析法と比較して検出感度がいちじるしく高いので定性分析というよりは多くの場合微量定量分析法として利用されているが、定量精度に関しては種々の機器分析法のうちすぐれているものとはいえない。著者らは標準マススペクトル集などを参照することによって、目的化合物の持つイオン（フラグメント・イオンを含む）と同一質量数のイオンを有するうえ、ガスクロマトでの保持時間が分析条件に適當である化合物を試料溶液に混合して、内部標準物質法を適用する定量法について検討を行った。

データの収集・処理に関しては、1) イオンマルチプライヤー (IM) 出力を直ちにマスフラグメントグラム (MFG) に画かせる。2) IM 出力をデジタル変換した後直ちにアナログ変換して MFG を得る。3) $2 \times 10^{-4} \sim 8.192 \times 10^{-1}$ sec の範囲で IM 出力を時間積分したうえ平滑化処理をほどこして実験する。の 3 法について得られる S/N について比較した。

塩化ビニル単量体、ビフェニルの定量について至適な内部標準物質の例として、前者では分子イオンの等しいジメチルサルファイドが、後者ではベースピークがビフェニルの分子イオンと等しい 2-クロロ-6-ニトロトルエンがあげられることがわかった。Fig. 1 にジメチルサルファイドを内標準物質として塩化ビニルのエタノール溶液の、常温におけるヘッドスペース分析法による FID-GC および両者の分子イオン m/z : 62 による MFG を示す。FID ではスケールアウトするエタノールのシグナルは MFG では現われず MF が分析妨害物質の除去に有用であることがわかる。エタノールの溶出部位にみられるピークはマーカプトエタノールに由来することが確認された。

また設定磁場の微小の変動その他装置関数に由来するとみられる定量誤差の要因はこれらの内部標準物質の添加により除去されて定量誤差は小となったが、検量線の勾配に関して、作製する日時が違うときには FID-GC における検量線の作製時には生じない勾配のばらつきが認められた。Fig. 2 に各種の定量操作により得られる塩化ビニルの検量線を示す。FID と MF はいずれも質量依存型検出器であるが、両者での勾配の差異は検出原理の差によるものと考えられ、また 3

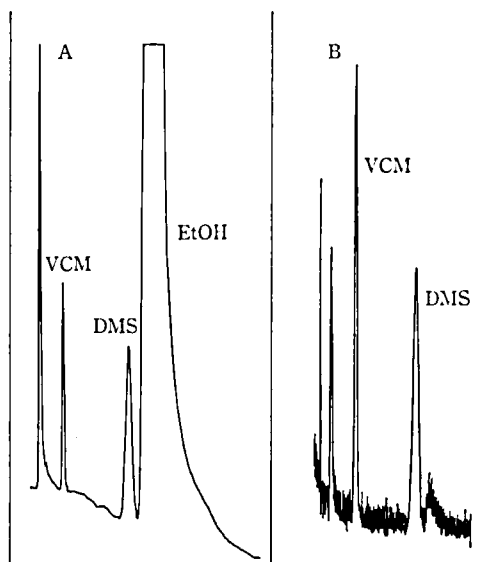


Fig. 1. FID gas chromatogram (A) and mass-fragmentogram (B) of ethanol solution of vinylchloride and dimethylsulfide

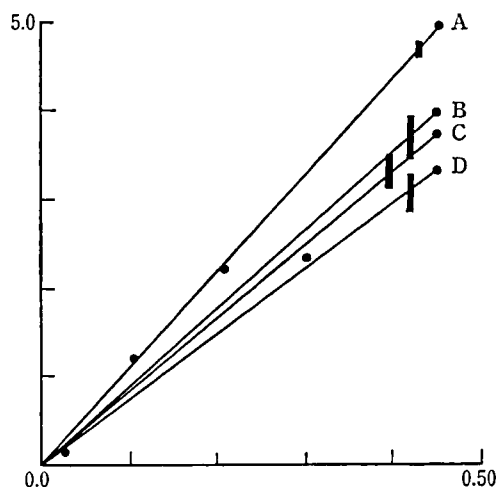


Fig. 2. Calibration curve of VCM using dimethylsulfide as an internal standard
A : FID, B : Direct mass fragmentography, C : AD/DA method, D : Smoothed data method

種の MF での差異についてはデジタル計算機の利用の有無によって前増幅器、AD 変換器の介入の有無も変わり、ペン記録計と AD 変換器と比較すればレスポンスが大きく異なることに起因するのであろう。ただミニコンを利用する 2 法での勾配の差が時間積分の有無のみに由来するとは考えにくく、その理由は明らかで

はない。

日時を異にするときの MF での検量線勾配の差異に関しては、特定イオンを検出するための質量分析計分析管磁場強度を再現性よく設定することが困難なことが主たる理由となっている。イオンコレクターに入射する被検出イオンの濃度分布はコレクター中心部で最大となるのが望ましいが、たとえば塩化ビニルの分子イオン 62 を検出するよう機器を設定するには、まずパーフルオロクロセンを常時イオン源に微量流しながら、そのベースピーク $m/z: 69$ を選び出し次いでこれより質量数が 7 小さいイオンが最大値となるよう磁場を調整する。次いでパーフルオロクロセンの分析管への流入を止め、塩化ビニルをガスクロマトのカラムを経由して分析管に入れ $m/z: 62$ のイオンが正しく設定されているか否かを再調整するのであるが、イオンのピーク・トップがイオンコレクター中心部に位置したか否か確認する手段がないので、実験日時の差により異なる勾配が得られるものと考えられる。装置をウォーム・アップして後作製した検量線は、数時間後にも再利用できることは実験により確められたので、検出器の安定性は高いと思われる。このような理由から実験日時を異にするときには、新たに検量線を作製すべきとの結論に達した。

3 種の分析法の優劣に関しては、GC/MS のみによる MFG のノイズレベルが最も大きく、IM 出力を電算機によって収集・処理するときは AD 変換その他の任意パラメーターの設定を必要とするから、得られるデータは加工がほどこされてしまうが、Table 1 で示されるように GC/MS のみの実験時での S/N と較べて、IM 出力を単に AD 変換 DA 変換するときは約 7.5 倍、時間平滑化するときには最大値約 60 倍の向上がはかられることが認められた。この時のビフェニルの検出限度は約 2 pg (S/N=2 として計算) であっ

た。

MFG データの磁気テープへのファイリングについても考案した。

ニッケルの生体・環境試料からの 微量分析に関する研究

環境衛生化学部

〔目的〕 重金属の定量法は一般に総金属量として定量されているのが現状である。そのため、生体および環境試料中に含まれる重金属の化学形を明確にした微量分析法の確立を目的に、電気透析法と無炎原子吸光度法を組合せた新たな方法についてニッケルをモデル金属として検討を行った。

〔方法〕 生体あるいは食品などの可溶性画分 2 ml を、両極槽に 0.1 N 酢酸アンモニウム溶液 10 ml を入れた電気透析装置の試料槽中に入れ、電圧 100 V 一定下、2 分間通電し透析する。この後、陰極槽の electrodialyzed-Ni と試料槽の non-electrodialyzed-Ni に分画する。ここで得た electrodialyzed-Ni 画分を DDTC-MIBK 抽出—無炎原子吸光度法を用いてニッケルの定量を行った。

〔結果とその評価〕 無炎原子吸光度法の各種測定条件の検討を行い、下記の条件で測定することが最も良好であることを認めた。

〔測定条件〕

試料量：20 μ l

乾燥温度および時間：110°, 30 秒

灰化温度および時間：1,200°, 15 秒

原子化温度および時間：2,600°, 3 秒

波長：232.0 nm

また、DDTC-MIBK 抽出条件を設定したのち、

Table 1. Comparison of sensitivities of three methods of mass fragmentography

	Direct MF	AD/DA Conversion	Smoothed MF
Biphenyl (pg)	4000	665	133
Peak height (AU)	31	39	63
Response ratio to Direct MF	1.0	7.6	61
2-Chloro-6-nitrotoluene (pg)	6000	1000	200
Peak height (AU)	8	10	16
Response ratio to Direct MF	1.0	7.5	60

GC Condition : 5% OV-17, 137°

MS Condition : 01SG-2, main slit ; 500 μ m, collector slit ; 250 μ m

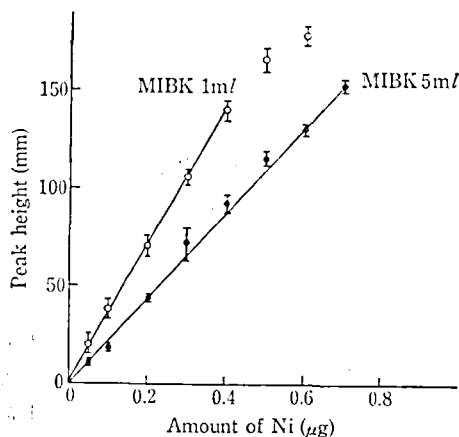


Fig. 1. Calibration curve of Ni on the DDTC-MIBK method

DDTC-MIBK 抽出—無炎原子吸光光度法の至適条件における検量線の検討を行った。Fig. 1 に示すごとく、MIBK 5ml/ 使用した場合は 0~700 ng まで直線性を示し、MIBK 1ml/ の場合は 0~400 ng まで直線性を示した。これらはいずれも標準偏差が 0.24~7.48 とバラツキも少なく再現性の良好なことを認めた。また、MIBK 1ml/ を用いた場合は検出限界が 25 ng (S/N=2) で、精度および感度の高い測定法であることを認めた。

一方、生体あるいは環境試料中に存在するニッケルの存在形態を破壊しない形で分離分析の可能性について、電気透析法を用い、electrodialyzed-Ni と non-electrodialyzed-Ni に分離し、これを無炎原子吸光光度法によって定量する方法について検討した。すなわち、電気透析の測定条件としては、電圧 100 V 一定で 120 秒通電することによりニッケルイオンがほぼ 100% 透析されることを認めた。また、Fig. 2 に示すごとく、ニッケルイオンの 0~6 μg が定量的に、しかも、従来から用いられている透析法より簡便かつ迅速に測定しうることを認めた。

また、Table 1 に示す電気透析時の試料中の共存物質による影響について検討した結果からみると、分離された electrodialyzed-Ni は試料中に存在したニッケルイオンおよびアミノ酸などと弱いキレートを生成して存在するニッケルを含むことが考えられる。これに対し、EDTA など強いキレート生成したニッケルおよび透析不可能な高分子物質と結合したニッケルは non-electrodialyzed-Ni として透析されないことが考えられる。

つぎに、生体および環境試料中ニッケルを電気透析

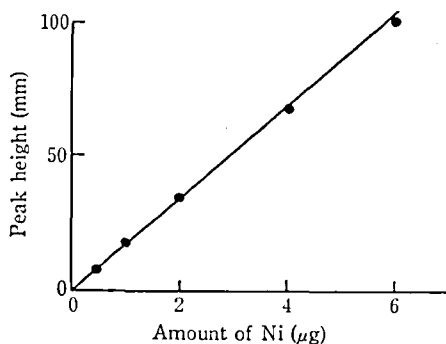


Fig. 2. Electrodialysis of Ni^{2+} ion from nickel solution

Ni is determined by the direct method

Condition : outer solution, 0.1 N $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 10 ml

inner solution, Ni solution 2 ml

voltage, 100 V constant

time, 120 sec

—無炎原子吸光光度法で測定するため、実際試料として茶煎液およびラット肝ホモジネート 105,000 g 上清を用い添加実験を行ったところ、Fig. 3 および Fig. 4 の結果を示した、すなわち、茶煎液およびラット肝ホモジネートにおいて、electrodialyzed-Ni はニッケル添加量のそれぞれ 50~80%、20~40% であり、添加ニッケルが全てニッケルイオンの形で存在せず、これらの構成成分とニッケルが結合あるいは錯体形成した状態で存在していることが考えられる。これら結果から電気透析—無炎原子吸光光度法によって、生体あるいは食品の可溶性成分中の微量ニッケルをニッケルイオンと弱く錯体を形成するニッケルを含む electrodialyzed-Ni、また一方、高分子成分に結合したニッケルと強く錯体を形成するニッケルを含む non-electrodialyzed-Ni に分離し、簡便、迅速、正確に微量分析が可能であることを認めた。

以上のことから、この電気透析—DDTC-MIBK 抽出—無炎原子吸光光度法は生体および食品に含まれるニッケルをはじめとする重金属の化学形および構成成分との相互作用を追究するための簡便で、かつ有用な微量定量法となるものと考えられる。

発表論文

- 1) 中室克彦, 松井啓子, 佐谷戸安好, 井上哲男 : ニッケルの生体・環境試料からの微量分析に関する研究, 日本薬学会第 98 年会, 講演要旨集, p. 393, 5P 1-4 (1978)

Table 1. Effect of co-existing materials on electro dialysis of nickel

Material	Concentration (M or %)	Ni added (μg)	Peak height (mm)	Dialysis ratio (%)
—	—	10	122	100.0
—	—	5	56	100.0
Sucrose	0.2%	5	59	105.4
	0.1%	5	56	100.0
	0.05%	5	55	98.2
Gallic acid	0.2%	5	51	91.1
Isoamylester	0.1%	5	51	91.1
	0.05%	5	52	92.9
Cystein	0.2%	5	36	64.3
	0.1%	5	38	67.9
	0.05%	5	40	71.4
EDTA·2Na	0.005 M	10	3	2.5
EDTA·4Na	0.005 M	10	4	3.3
CyDTA	0.005 M	10	1	0.8
Dimethyl glyoxime	0.5%	10	2	1.6
DDTC	0.5%	10	2	1.6
NaCl	0.225%	10	122	100.0
	0.45%	10	92	75.4
	0.9%	10	65	53.3
	1.8%	10	17	13.9
HCl	0.1%	5	27	48.2
	0.2%	5	26	46.4
	1.0%	5	13	23.2
NaOH	0.2%	5	0	0
	0.4%	5	0	0
	2.0%	5	0	0

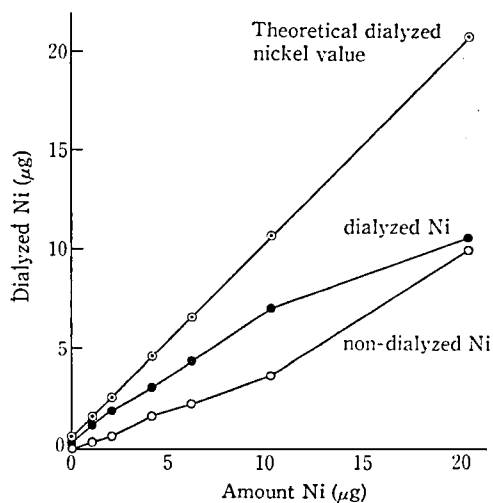


Fig. 3. Electro dialysis of Ni^{2+} ion from tea extract water solution added nickel

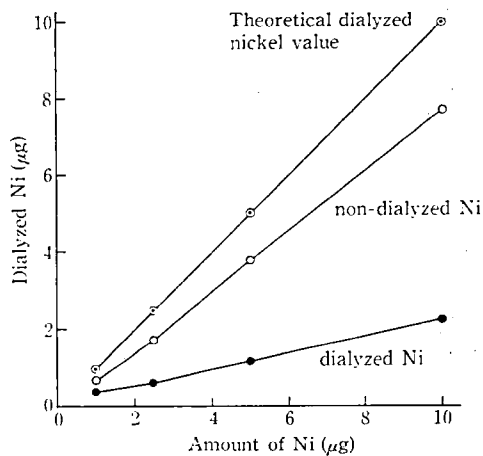


Fig. 4. Electro dialysis of Ni^{2+} ion from 105,000g supernatant of rat liver added nickel *in vitro*

食用色素に含まれる付随色素の分離、定量

食品添加物部

食品の着色に用いられる食用色素は、食品衛生法によって、現在 11 品目の色素が指定されている。食用色素の品質規格に関しては、含量規定などのほか、他の色素の項の規定があり、主として、製造工程中に副生する付随色素がチェックされている。付随色素については、わが国の規格は色素の一定濃度溶液を一定量用いて口紙クロマトグラフ法によって試験がなされているが、米国 FDA あるいは FAO/WHO の規格では付随色素の混在量は数値によって規制されている。

近年、食用色素の安全性の問題に関連して、中間体、付随色素の混在が注目されてきており、食用色素の品質面からの規格検討の必要性も生じているため、食用色素のなかでも付随色素の混在量が比較的多い、トリフェニルメタン系色素である食用青色 1 号ならびに食用緑色 3 号につき、付随色素の単離、構造の確認、さらに、これらの付随色素の分離、定量につき検討を行った。

1) 食用青色 1 号ならびに食用緑色 3 号の付随色素

食用青色 1 号から単離した 2 種の付随色素のうち、付随色素 B1-B は *o*-sulfobenzaldehyde, ethylbenzylaniline sulfonic acid, ethylbenzylaniline よりなる色素であり、付随色素 B1-C は B1-B の ethylbenzylaniline が ethylaniline に置き換えられた色素であることを確認した。

なお、食用緑色 3 号については、付随色素 G3-C ならびに G3-E を単離したが、構造は未確認である。しかし、後で述べる高速液体クロマトグラフィーの結果などから考察するとき、食用青色 1 号から単離した付随色素に類似する構造を有するものと推定される。

2) 高性能薄層クロマトグラフ法による分離

付随色素 B1-B と B1-C ならびに G3-C と G3-E の分離に適する展開溶媒につき、種々検討を行った結果、メチルエチルケトン+水 (20 : 1.0) の混液が良好な結果を与えることを認めた。なお、本法は試料の塗布量が 10~100 nI であり、展開に要する時間も 2~10 分であるなど、色素の微量分析に適するものと考えられる。

3) 二波長分光測光法による分別定量

食用青色 1 号と付随色素 B1-C の混合系においては対照波長 λ_1 645 nm, 測定波長 λ_2 614 nm を用いる

とき、食用青色 1 号の 12 ppm 溶液中に B1-C が 3~12 ppm 添加された条件で、検量線は直線性を示した。これらの結果から、食用青色 1 号中の B1-C の定量限界は 0.25% と推定される。なお、本法はクロマトグラフ的手段を用いることなく各成分を分別定量することができるが、食用青色 1 号と付随色素 B1-B の混合系では、両者の吸収スペクトルが極めて近似しているため、B1-B の定量限界は高い値を示した。

4) 高速液体クロマトグラフ法による分離、定量

色素の分離用カラムとして、ゾルボックス ODS カラムを用い、溶出液として第 1 液に 0.5% 炭酸アンモニウム溶液、第 2 液にメチルアルコールを用い、グラジエント速度 5%/min. の条件で第 2 液を 40~100% 混和することによって、食用青色 1 号、付随色素 B1-C, B1-B の順に分離することができた (Fig. 1)。これらの色素は吸収極大波長を検出器の測定波長として用いれば、UV 検出器による場合よりもピーク面積ならびにピーク高さにおいて感度よく分離、定量することができた (Fig. 2~4)。

本法による測定限界は、食用青色 1 号について 2.5 ng, 付随色素 B1-B について 3 ng, 付随色素 B1-C について 5 ng であった。食用青色 1 号の市販品について本法を適用させたところ、付随色素 B1-B はこん跡程度混在するにとどまるが、付随色素 B1-C は

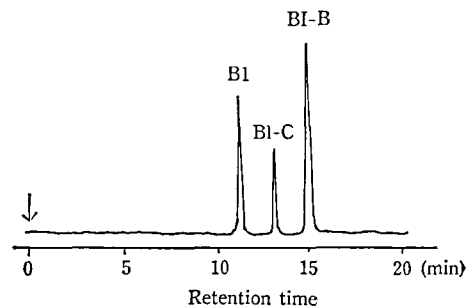


Fig. 1. High pressure liquid chromatogram of Food Blue No. 1, Subsidiary Dyes B1-B and B1-C

Condition ;

Column : Zorbax ODS

Eluant : Primary, 0.5% (NH₄)₂CO₃

Secondary, Methyl Alcohol

Gradient : 5%/min. Linear, Secondary 40~100%

Pressure : 70 kg/cm²

Detector : 628 nm (Shimadzu UV 202), AUFS : 0.01×8

Apparatus : Shimadzu-Dupont LC 830

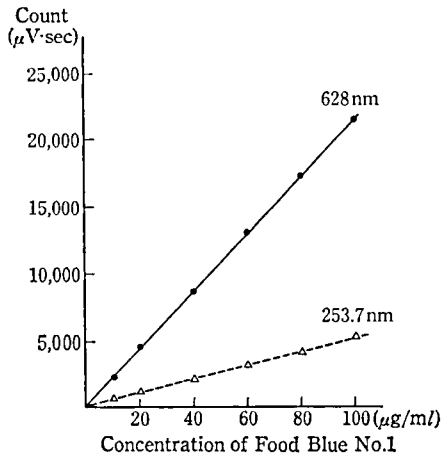


Fig. 2. Calibration curves of Food Blue No. 1

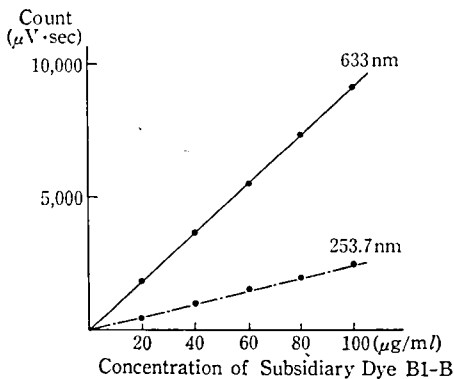


Fig. 3. Calibration curves of Subsidiary Dye B1-B

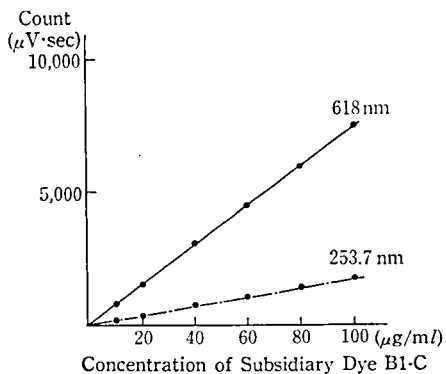


Fig. 4. Calibration curves of Subsidiary Dye B1-C

3. 33~10.43% の範囲で混在することがわかった。

なお、食用緑色 3 号から単離された付随色素 G3-C ならびに G3-E は、上記の条件によって、食用緑色 3 号、付随色素 G3-C、G3-E の順に分離することができた。

発表論文

- 1) 日本食品衛生学会第 37 回学術講演会

文献

- 1) C. Stein: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 52, 34 (1969); 53, 677 (1970)
- 2) S. Bell: *ibid.*, 56, 947 (1973)

嫌気性細菌の検出技術の開発と適用

衛生微生物部

研究目的: 近年、微生物の検出技術は格段の進歩をみせているが、特に嫌気性菌グループの検索は種々の工夫が試みられているもののいまだに満足のいく方法が確立されていない。最新の手法にさらに改良を試みる目的で、実際に腸管内嫌気性菌フローラの検索に適用しながら検討を進めた。

方法: 光岡らの開発した嫌気性菌検出法に新しく Preduced media を用いた Plate-in-bottle 法を導入し、餌料を変えたサルの糞便ならびに腸管内容物中の嫌気性菌群の検索をくり返し実施した。

研究結果:

1. サルの糞便ならびに腸管内容物の生菌数が、従来の方式であると 10^9 程度しか検出されなかったのに対し、変法を用いることにより 10^{11} まで検出精度が高くなった。

2. 同様の試料から、従来の方式では検出されなかった *Spirillaceae*, *Spirochaetaceae* やある種の *Bacteroides* などの菌種の出現が認められた。

3. 従来の方式では、検出にバラツキの多かった *Bifidobacterium* や *Veillonella* などの菌が変動なく検出されることがわかり、腸管内微生物フローラの生態学的研究に有効な方法であるとの確証を得た。

オートラジオグラフィーを利用した 臓器代謝物の微量分析法

医化学部

〔目的〕 従来、全身オートラジオグラフィーの結果は、写真による肉眼的観察だけで終わっているため、その定量化と臓器中の代謝物の微量分析の開発について検討する。

〔方法〕 比放射能の高い ^3H -BHA (約 500 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$) を製造し、ラットに経口投与後全身オートラジオグラフィーを行うとともに、放射能分布の高い臓器について未変化体および主代謝物であるグルクロニド (BHA-G), サルフェート (BHA-S) を沓紙電気泳動を応用した微量分析法で定量した。

〔結果と評価〕 1, 3, 6, 24時間の全身オートラジオグラフィーの結果から、肝、腎、脾に 1, 3 時間において放射能が高かったため、Table 1 にこれら臓器と血漿の単位重量当たりの放射能 ($\text{m}\mu\text{Ci}/\text{g}$ または mI) ならびに、 ^3H -BHA の比放射能から求めた BHA としての含量 (ppm) を示した。例えば投与後 1 時間では肝では 2.3 ppm, 腎では 4.9 ppm, 脾では 0.5 ppm, 血漿では 0.8 ppm となる。

また肝、腎、脾、血漿、尿中の BHA, BHA-G, BHA-S の分布状態を表わす沓紙電気泳動図を Fig. 1 に示す。これらから求めた三者の比率を Table 1 にまとめてある。これからわかるように、肝ではグルクロニドの量はサルフェートに比して圧倒的に多く、遊離の BHA もかなりの量を占めている。一方腎ではグルクロニドに対するサルフェートの割合は肝と大差は

ないが、1 時間では BHA の遊離の形は極めてわずかである。脾は前述したように血漿より放射能の分布は低く、特に顕著な蓄積は認められないが、代謝物の比率は肝に類似している。

血漿中では大部分が抱合体の形で存在しており、しかもサルフェートの量が臓器に比べてかなり高いことは興味ある事実である。これはサルフェートが血液中での輸送形としての役割を考えるとうなずける。尿中にはほとんどグルクロニドの形で排泄されている点もこの観点から見ると興味があるが、その詳細については更に検討する必要がある。

本研究においては、全身オートラジオグラフィーの試料と臓器分布の試料を別の動物で試みたが、本実験に用いた程度の比放射能を持った ^3H -BHA を使うと、例えば投与後 1 時間の肝臓 1 mg (湿重量) 当たり約 2,400 dpm に相当することになる。したがってオートラジオグラフィーに用いた凍結断動物の臓器約 10 mg を摘出し、放射能の測定とメタノール抽出液の沓紙電気泳動による代謝物の定量を行うことは十分可能である。この実際的な適用は、目下他の生活関連物質も含めて検討中であるが、全身オートラジオグラフィーの特徴である各臓器をそのままの形で肉眼的に観察しつつ、必要な臓器の一部 (例えば腎の髄質と皮質など) をサンプリングし、その中の代謝物を同定、定量することができる。

オートラジオグラフィーはフィルムを感光させるのに若干の日時を要する欠点はあるが、最終的にこのような定量化と臓器内の代謝物の分布まで含んだデータを合わせて判断すると、その評価も極めて意味を持つ場合も多いと思われる。

Table 1. Distribution of BHA, BHA-G and BHA-S

Tissue		Total amount (as BHA)		Per cent		
		$\text{m}\mu\text{Ci}/\text{g}$ or mI	ppm	BHA	BHA-G	BHA-S
Liver	1 hr	1098 $\pm$ 98.1	2.3	26.9 $\pm$ 6.5	65.8 $\pm$ 5.9	3.5 $\pm$ 0.5
	3 hr	1075 $\pm$ 245.1	2.2	31.7 $\pm$ 13.3	52.2 $\pm$ 13.6	4.2 $\pm$ 1.2
Kidney	1 hr	2396 $\pm$ 665.3	4.9	2.9 $\pm$ 0.6	88.8 $\pm$ 2.1	5.8 $\pm$ 1.6
	3 hr	1524 $\pm$ 392.8	3.1	3.0 $\pm$ 1.0	81.4 $\pm$ 3.4	10.8 $\pm$ 3.6
Pancreas	1 hr	246 $\pm$ 54.3	0.5	23.5 $\pm$ 2.8	61.7 $\pm$ 4.0	7.0 $\pm$ 2.4
	3 hr	258 $\pm$ 22.7	0.5	36.3 $\pm$ 14.2	45.4 $\pm$ 14.6	7.7 $\pm$ 2.8
Plasma	1 hr	408 $\pm$ 94.2	0.8	3.0 $\pm$ 0.5	71.9 $\pm$ 5.8	22.6 $\pm$ 6.5
	3 hr	426 $\pm$ 96.3	0.9	5.8 $\pm$ 1.2	61.7 $\pm$ 4.9	27.5 $\pm$ 3.7

Animal: male Wistar rat (110~160 g)

Dose: 420 μCi (862 μg) ^3H -BHA/rat

Each value is a mean of five rats (with $\pm$ S.E.)

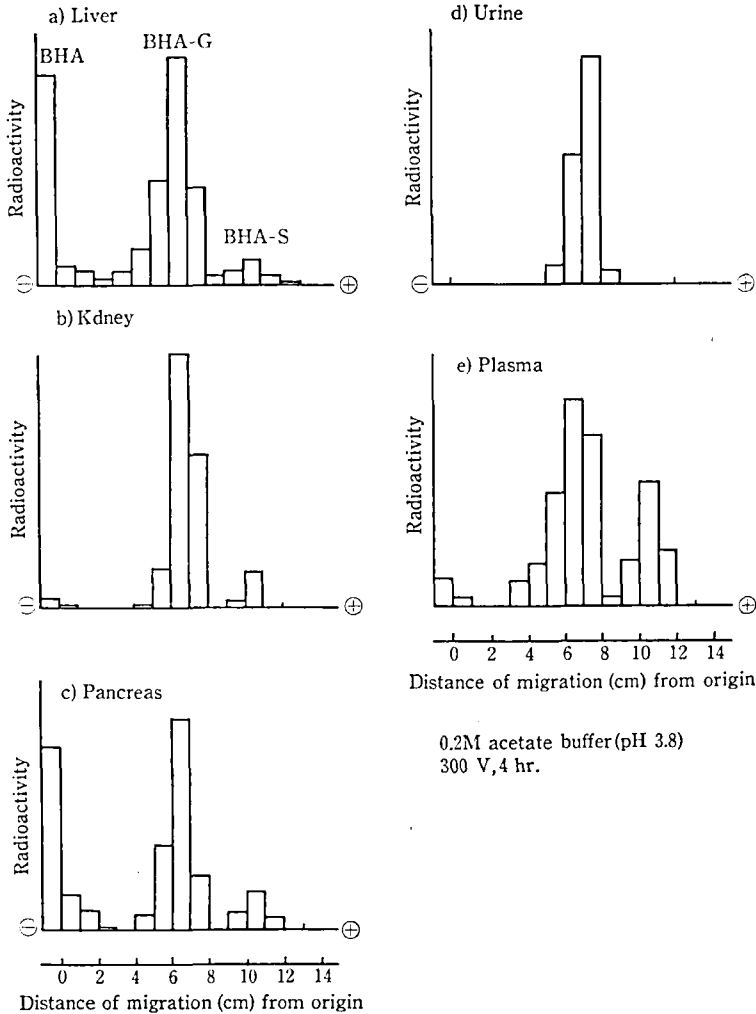


Fig. 1. Paper-electrophoresis of tissue extracts

発 表 報 文

- 1) 渡辺光夫, 山羽力: 日本薬学会第 97 年会発表 (昭52. 4)

生活関連物質の代謝活性化 (結合性) の微量定量法

医 化 学 部

〔目的〕 多くの化学物質の毒性発現には、これら物質が生体内で活性化を受けたのち、核酸、タンパク質、グルタチオンなどの生体成分と共有結合することが考えられる。したがって種々の生活関連物質の代謝

活性化 (結合性) を微量定量する方法を確立する必要がある。

〔方法〕 比較的比放射能の高い ^{14}C -ジフェニル (約 $2 \mu\text{Ci}/\text{mg}$) を合成し、*in vitro* の肝ミクロゾーム-NADPH 系で結合実験を次のような条件で行った。

反応液組成: NADP $0.5 \mu\text{mole}$; グルコース 6-リン酸 $10 \mu\text{moles}$; MgCl_2 $25 \mu\text{moles}$; グルコース 6-リン酸脱水素酵素 5 単位; ^{14}C -ジフェニル $43 \mu\text{g}$ ($188,000 \text{ dpm}$)/ 0.1 ml メタノール; 肝ミクロゾーム約 3 mg (タンパク質として)/ 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.4); 全容 1 ml . 37° で一定時間インキュベート後、氷冷 10% トリクロロ酢酸 (TCA) 1 ml を加え 45 分間放置する。沈殿物を遠沈後、5% TCA で 2 回、80% メタノール、熱メタノール、メタノール: エー

テル (1:1 v/v), 80% メタノールで各 1 回洗浄した。これをソルエン® 100 1 ml に溶かし、その一部をトルエンシンチレーターで放射能を測定した。

〔結果と評価〕 まず、このような実験を行うに当たって、動物種、反応系、誘導剤の影響などの基礎的な条件検討を行った。

予備実験の結果、ラットではジフェニルの結合性がほとんど認められなかったので、以下の実験はすべてマウスで行った。

未処理、ベンゾ[a]ピレン処理、KC-500 処理の 3 群 (各群 3 匹) についてジフェニルの結合性の時間的経過を調べたところ、データのバラツキはあるが、未処理のものでも結合性は認められた。ベンゾ[a]ピレンで誘導をかけたものは若干結合性の増加が認められたが、KC-500 で誘導をかけたものはむしろ低下をきたした。これらの結合性は、ミクロゾーム系から NADPH-generating 系を除くとほとんど認められなくなるので、結合性にはモノオキシゲナーゼ系による代謝活性化が関与していることが示唆される。

ベンゾ[a]ピレンによる誘導をさらに確認するため、7~8 匹のマウスを用い、短時間のインキュベーションを行い対照群と比較したところ、両者のジフェニル結合量には明確な有意差が認められなかった。例えば 30 分間のインキュベーションでの結合量は対照群で 0.28 nmol/mg タンパク質、ベンゾ[a]ピレン処理

群で 0.30 nmol/mg タンパク質であった。

毒性の低いジフェニルの場合、PCB と比較してその結合性に質的、量的な差異があることは興味深い。今後さらに種々の物質についてデータを積み重ねることにより、毒性発現と結合性の関連を明らかにすることができよう。

哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常誘発試験

—In vitro 代謝活性化の技術開発

変異原性部

〔目的〕 従来行われてきた *in vitro* における哺乳動物細胞染色体異常誘発性試験に、新たに、ラット肝マイクロゾーム分画 (S-9) による代謝活性化法を導入する手法を開発する。

〔方法〕 チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL) を用い、従来の直接法で、直接作用させても染色体異常を誘発しなかった種々の生活関連諸物質 (既知発癌性物質を含む) について、以下の実験を行った。

- 1) 検体および S-9 処理時間の吟味
- 2) S-9 組成の吟味
- 3) 処理後の培養時間の吟味

Table 1. Chromosome tests on dialkyl nitrosamines

Compound	Dose		Incidence of chromosomal aberrations (%)			
	mg/ml	mM	Without S9 mix	Judge ^a	With S9 mix	Judge ^a
DMN	1.0	14	0.3 g ^b	—	40.0 g, b, t, r ^b	++
	2.0	27	0.7 g	—	54.7 g, b, t, r	+++
	4.0	54	0.3 g	—	77.3 g, b, t, r	+++
DEN	1.0	9.8	0.7 g, t	—	4.7 g, b, t	—
	2.0	20	0.3 g	—	7.0 g, b, t, r	±
	3.0	29	1.0 g, t	—	21.3 g, b, t, r	++
DPN	0.1	0.77	1.3 g, b	—	4.3 g, b, t	—
	0.2	1.5	0.7 g, b, t	—	14.7 g, b, t, f	+
	0.4	3.1	0.7 g	—	9.0 g, b, t	±
DBN	0.05	0.32	1.3 g	—	3.7 g, b, t	—
	0.1	0.63	2.7 g, b, t	—	4.3 g, b, t	—
	0.15	0.95	2.3 g, b, t	—	8.7 g, b, t	±

^a The judgement was made as follows: —, negative (less than 4.9%); ±, suspicious (5.0~9.9%); +, positive (10.0~19.9%); ++, (20.0~49.9%); +++, (more than 50%)

^b Types of aberration: g, gap; b, break; t, exchange; r, ring; f, fragmentation; italic, aberrations predominantly observed

Table 2. Chromosome tests on other carcinogens

Compound	Dose		Incidence of chromosomal aberrations (%)					
	mg/ml	mM	Without S9 mix		Judge ^a	With S9 mix		Judge ^a
AAF	0.5	2.2	1.0	g ^b	—	29.0	g, b, t, r ^b	++
	1.0	4.5	8.0	g, b	±	31.0	g, b, t, r	++
	2.0	9.0	13.0	g, b, t	+	Tox ^c		
BBN	0.3	1.7	3.5	g, b, t	—	1.5	b, t	—
	0.9	5.2	1.5	b	—	12.5	g, b, t, r	+
	1.2	6.9	6.0	g, b, t, r	±	Tox ^c		
Benzo[a]pyrene	0.128	0.51	7.0	g, b	±	6.0	g, b, t	±
	0.256	1.0	3.0	g	—	8.0	g, b, t	±
	0.512	2.0	4.0	g, b, t	—	22.0	g, b, t	++
DMBA	0.125	0.49	4.0	g, b, t	—	8.0	g, b, t	±
	0.25	0.98	6.0	g, b, t	±	16.0	g, b, t	+
	0.5	2.0	2.0	b	—	25.0	g, b, t	++
MC	0.5	1.9	1.0	b	—	1.0	t	—
	1.0	3.7	1.0	g	—	1.0	b	—
	2.0	7.5	0.0		—	3.0	g, b, r	—
3'-MeDAB	2.0	8.4	0.0		—	4.0	g, b, t	—
	4.0	17	3.0	g, b	—	7.0	g, b, t	±
	8.0	33	0.0		—	10.0	g, b, t, r	+
Phenacetin	0.8	4.5	2.0	g	—	9.0	b, t, r	±
	1.6	8.9	2.0	g	—	18.0	b, t, r	+
	3.2	18	3.0	b, t	—	51.0	g, b, t, r, f	+++
Quinoline	0.075	0.58	2.0	g	—	1.0	b	—
	0.15	1.2	2.0	g, b	—	8.0	g, b, t, r	±
	0.3	2.3	5.0	g, b	±	14.0	g, b, t, r	+
4-TT*	0.015	0.067	2.0	g	—	4.0	g, b, t	—
	0.03	0.13	3.0	b, t	—	4.0	g, b, t	—
	0.06	0.27	Tox ^c			1.5	g, b	—

^{a, b} See Table 1.^c Too cytotoxic for chromosomal aberrations to be observed

* 4-o-Tolylazo-o-Toluidine

4) 一定条件下における各種化合物のスクリーニング

細胞培養には、Eagle の MEM 培地に 10% 仔牛血清を加えたものを使用し、染色体標本の作製および観察方法は従来の直接法¹⁾ によった。

【結果とその評価】 ジメチルニトロサミン (DMN) を用い、種々実験条件を比較検討した結果、以下の方法が最も有効であることがわかった。すなわち、CHL 細胞 $1.2 \times 10^5/0.1 \text{ ml/tube}$ を浮遊状態のまま、検体 0.1 ml および S-9 mix 0.5 ml と混合し、 37° で 3 時間、静かに振盪し、さらに、細胞のみを 24 時間培養

し、染色体標本を作製する。S-9 mix の組成は次の通りである。

S-9 分画*	3 ml
20 mM ヘベス緩衝液 (pH 7.2)	2 ml
50 mM MgCl ₂	1 ml
330 mM KCl	1 ml
50 mM G-6-P	1 ml
40 mM NADP	1 ml
蒸留水	1 ml

* ホモジネートは、肝重量 g 当り 2 ml に調製した後、 $0 \sim 4^\circ$ で 20 分間、 $9,000 \times g$ で遠心する。上澄を S-9 分画として -80° に保存する。

Table 3. Chromosome tests on miscellaneous compounds in the environment

Compound	Use ^a	Dose		Incidence of chromosomal aberrations (%)					
		mg/ml	mM	Without S9 mix		Judge ^b	With S9 mix		Judge ^a
Allethrin	P	0.0019	0.0063	4.0	g, b ^c	—	77.0	g, b, t, r, f ^e	+++
AF-2 ^o	F ^f	0.04	0.16	5.0	g, b, t	±	6.5	g, b, t	±
Buformin-HCl	D	0.06	0.31	3.0	b	—	2.0	b	—
Diazepam	D	1.0	3.5	2.0	g	—	7.5	g, b, t	±
Diazinon	P	0.1	0.33	Tox			27.0	g, b, t	++
Ethenzamide	D	0.6	3.6	5.0	g, t	±	15.0	g, b, t	+
Furosemide	D	0.5	1.5	5.0	b, t, r	±	2.0	g, t	—
Isoniazid ^o	D	8.0	58	4.0	g, b, t	—	3.5	g, b, t	—
MHB	D	0.125	0.82	1.0	g	—	13.0	g, b, t, r	+
Nitrofurazone	D	0.1	0.50	4.0	g, b, t	—	21.0	g, b, t, r	++
Phenanthrene	I	0.04	0.22	1.0	g	—	2.0	b	—
Progesterone ^o	D	0.48	1.5	0.0		—	2.0	g, t	—
Sodium erythorbate	F	2.0	10	3.0	b, t	—	1.0	t	—
Sodium hypochlorite	F	0.5	6.7	Tox			11.0	g, b, t, r	+
Styrene monomer	I	0.25	2.4	2.0	b	—	19.0	g, b, t, r, f	+ ^d
TDCPP	I	0.25	0.63	Tox			14.0	g, b, t	+

^a P, pesticide; D, medical drug; F, food additive; I, chemical used for industry

^{b, c} See Table 1.

^d MC-induced S9 was used.

^e Known as a carcinogen

^f This compound is not used at present.

これらの操作によって、ジアルキルニトロサミンその他、従来の直接法では殆ど染色体異常を誘発し得なかった発癌性物質、合計 13 種に染色体異常を高率に出現させることが出来た (Table 1, 2)。その他の生活関連物質 16 種をスクリーニングにかけた結果、農薬 アレスリン、ダイアチノン、医薬品エテンザマイド、MHB、ニトロフラゾン、防燃剤 TDCPP およびスチレンモノマーなどが陽性となった (Table 3)。

さらに、トリプトファン熱分解産物 (Trp-P-2) および、重油分画成分中にも S-9 によって、はじめて活性化される物質が含まれていた。

成 果 の 発 表

- 1) Ishidate, M. Jr. and Odashima, S.: *Mutation Res.*, 48, 337 (1977)
- 2) 金子厚子, 林真, 吉川邦衛, 石館基: 日本環境変異原研究会第 6 回研究会発表 (1977)
- 3) Matsuoka, A., Hayashi, M. and Ishidate, M. Jr.: *Mutation Res.*, 66, 277 (1979)
- 4) 松岡厚子, 林真, 石館基: 日本組織培養学会第 46 回研究会 (1978)

- 5) 石館基: フジテクノシステム「変異原と毒性」第 4 集, 64 (1978)

酵素法による牛乳・粉乳中の 乳酸の定量

大阪支所食品部

〔目的〕 発酵乳、乳酸菌飲料などの発酵乳製品を除いて、その品質確保のために厚生省令では酸度を規制している。然しながら、現行のアルカリ滴定酸度による方法は予じめ炭酸ナトリウム等で中和した製品には無力である。したがって乳酸・乳酸塩を含めて酵素法で特異的に定量する方法を開発し、中和剤の検出法を確立して乳・乳製品の品質を確保することを目的とする。

〔方法〕 乳酸・乳酸塩に乳酸脱水素酵素 (LDH) を作用させてビルビン酸とする。この際に水素の受容体としては DPN を使用する。形成した DPNH の紫外吸光度を測定することにより乳酸・乳酸塩含量を求め

Table 1. Results of Lactate Determination by Means of IDF (Davidson) and the Present (Enzymatic) Methods

Sample	IDF		Present method			% ^{b)}
	Found	① Average	Found	② Average	D-Lactate content	
Whole milk powder	48.0 49.8	48.9	41.4 41.9	41.7	1.1	-14.7
Whole milk powder	54.0 55.8	54.9	45.4 45.8	45.6	0.4	-16.9
Skim milk powder	27.4 32.0	29.7	29.2 31.0	30.1	0.3	+ 1.3
Skim milk powder	35.1 48.0	41.6	40.3 42.3	41.3	0.4	- 1.4
Skim milk powder	48.9 49.5	49.2	36.3 37.9	37.1	0.1	-24.6
Skim milk powder	44.5 53.1	48.8	49.2 49.0	49.1	0.1	+ 0.6
Sum of square (%)		1537.8		80.2	Average	- 9.3
Variance (%)		256.3		13.4		

^{a)} The solids-not-fat contents of the sample in percent

^{b)} (100) (①-②)/①

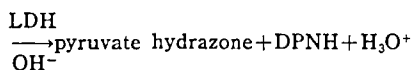
Statistic evaluation : $t_0 = 1.267 < t_{0.95(10)} = 2.228$, not significant ; $F_0 = 19.13 > F_{.95(6,6)} = 4.28$, significant.

Talble 2. Lactate Contents in Commercial Milk and Milk Products

Sample		Found (mg/100 g)	Found (mg/100 g of s.n.f.)
1. Normal liquid milk	A	2.34	29.6
2.	B	3.85	45.3
3.	C	2.56	30.1
4.	D	1.95	22.4
5.	E	2.93	35.7
6. Skim milk powder	A	20.0	21.0
7.	B	40.3	42.2
8.	C	41.3	43.3
9.	D	31.0	32.5
10.	E	22.6	23.7
11.	F	14.7	15.4
12. Condensed whole milk	A ^{a)}	6.5	31.9
13.	B ^{a)}	5.3	26.0
14.	C ^{a)}	3.7	18.1
15.	D ^{a)}	6.0	29.4
16. Condensed skim milk ^{a)}		16.0	58.6

^{a)} Condensed milk, sweetened

$\text{lactate} + \text{DPN}^+ + \text{hydrazine}$



る。生成したピルビン酸はヒドラゾンとして反応系外に除去する。

〔結果及びその評価〕 牛心筋 L-LDH および乳酸菌 *Lactobacillus leichmanii* 産生 D-LDH は、乳酸に対する特異性が高く、他の有機酸の影響を受けず乳酸と選択的に反応することを認めた。測定のための標準品としては乳酸リチウムを選んだ。測定緩衝液濃度はグリシン 1.0 M、ヒドラジン 0.4 M、測定 pH は 9.5 と定めた。反応温度を 37° とした場合、反応時間が 1 時間以上たつと形成した DPNH が部分酸化され、吸光度が低下する傾向にあるので、反応時間は 30 分に定めた。酵素法と国際酪農連盟 (IDF) 標準法 (Davidson 法による比色法) と比較した。結果は Table 1 に示す通りである。IDF 法にくらべて酵素法は有意の差で再現性が優れていることを認めた。酵素法により乳酸リチウムの D, L-体の分布を測定した結果、それぞれ 47 および 53% であることを認めた。市販牛乳、脱脂粉乳および練乳など 16 検体について酵素法により乳酸含量を測定した結果を Table 2 に示した。牛乳 22~35 mg、脱脂粉乳 15~43 mg、練乳 18~58 mg の乳酸 (いずれも無脂固形物 100 g 当り) 含量を得た。

発表報文

- 1) 慶田, 金田, 本田: 衛生化学, 23, 216 (1977)

等速電気泳動 (イソタコホレシス;
IP) の食品中の添加物等の分析への
応用: 食品中の EDTA の分析

大阪支所食品部

〔目的〕 これまでの方法で分析不可能であった食品中の添加物、混入物の分析に IP を適用する。EDTA はその金属封鎖作用故に食品の変色防止、香味保持、品質改良などの目的で使用を許可している国が少ないが、わが国では不許可の添加物であって、これまでに適当な試験法がないために輸入食品検査の隘路になっていた。

〔方法〕 食品の pH を中性に調整し、Dowex 1×4 でイオン交換カラムクロマトグラフィーを行って EDTA を吸着させた後、塩酸で EDTA を溶出し、減

圧乾固する。次に塩化第二鉄と反応させて $\text{EDTA} \cdot \text{Fe}$ とした後、IP により定量する。ただし、リーディング液は 0.05% triton 含有 0.01 N 塩酸に β -アラニンを加え pH 3.5 としたものを、ターミナル液には 0.01 M カブロン酸を用いる。

〔結果とその評価〕 一般に EDTA は IP で測定する際に、2 つ以上の形で存在するので定量が困難である。又、EDTA は食品中で微量の金属と種々のキレートを作って存在していることが予想されるが、Fig. 1 に示す通り、各金属キレートは IP では異った電位勾配を示すので定量は困難であるが、 $\text{EDTA} \cdot \text{Fe}$ とすることにより単一型となるので、再現性の優れた定量法を設定することができた。本法により、100 ppm の EDTA を添加したマヨネーズおよびサラダドレッシングの IP パターンを無添加のものと比較した結果は Fig. 2 に示す通りであって、PUV (電位勾配値) の差により EDTA を明瞭に検出しようことが示された。また、本法による 3 種食品よりの EDTA の添加回収率も良好であった (Table 1 参照)。なお、検出限界は 10 ppm であった。

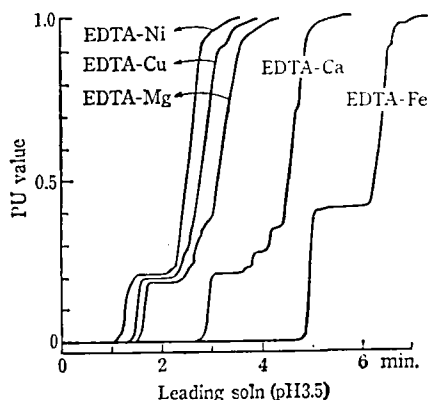


Fig. 1. Isotachopheretic patterns of various EDTA-metals

Table 1. Recovery of EDTA from various foods

Kind of foods	EDTA·2Na·2H ₂ O added	
	100 ppm	1,000 ppm
Salad dressing	92.1±5.2%	98.7±1.1%
Mayonnaise	94.8±2.6%	99.8±0.3%
Margarine	90.2±5.7%	95.5±1.9%

Average of five trials

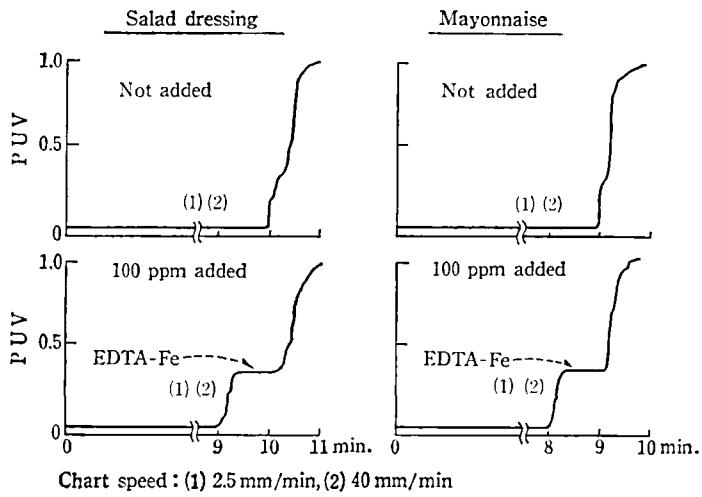


Fig. 2. Effect of the Addition of EDTA at 100 ppm Level on the Isotachopheric Patterns of Dressing and Mayonnaise

成 果 の 発 表

日本食品衛生学会 第 37 回 学 術 講 演 会 発 表
(1979. 5. 17, 東京)

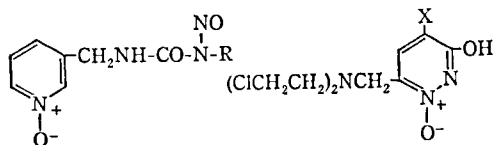
1) 伊藤誉志男, 鈴木英世, 豊田正武, 慶田雅洋:

1 Synthesis of Antitumor Pyridine and Pyridazine N-Oxides having (2-Chloroethyl)-nitrosoureidomethyl and Bis(2-chloroethyl)-aminomethyl Groups

Shozo KAMIYA, Michiko MIYAHARA, Shoko SUEYOSHI, Ikuo SUZUKI and Shigeyoshi ODASHIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 3884 (1978)

Treatment of 1-(2-chloroethyl)-1-nitroso-3-(3-pyridylmethyl)urea and 1-methyl-1-nitroso-3-(3-pyridylmethyl)urea with *m*-chloroperbenzoic acid gave the corresponding N-oxides, I and II, which were more stable than their parent compounds.

The Mannich reaction of 3-hydroxypyridazine 1-oxide using bis(2-chloroethyl)amine gave 6-bis(2-chloroethyl)aminomethyl-3-hydroxypyridazine 1-oxide (III), and the bromination of III with bromine gave the 4-bromo compound (IV).



I: R = CH₂CH₂Cl

II: R = CH₃

III: X = H

IV: X = Br

Compound I showed marked activity against rat ascites hepatoma AH-13 and mouse leukemia L-1210. Especially for L-1210 compound I was effective even at a lower dose of 2.5 mg/kg with a positive value of 190. Compounds III and IV were effective against AH-13, but they were ineffective against L-1210.

2 A Cyclization of 1, 2-Bisureido Compounds with Sodium Nitrite

Makoto MIYAHARA, Masahiro NAKADATE, Michiko MIYAHARA, and Ikuo SUZUKI: *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 2635 (1978)

Nitrosation of bisureido compounds with sodium nitrite in the presence of acid was examined.

The treatment of 1,2-bisureidoethane with sodium nitrite in 6% sulfuric acid, afforded 1-carbamoyl-3-nitroso-2-imidazolidinone in 86% yield. Similarly, the same nitrosation of 1,2-bis ureido

propane gave an isomeric mixture of cyclized N-nitroso compounds in 87% yield. On the other hand, nitrosation of *o*-phenylenebisurea with sodium nitrite and 25% sulfuric acid, gave only cyclized 1-carbamoyl-2-benzimidazolidinone in 58% yield, and nitroso compound was not obtained.

This nitrosative cyclization occurs only in 1,2-bisureido compounds which have no substituent in the ureido nitrogens. The mechanism of this cyclization was also discussed.

3 Comparison of Carcinogenicity of N-Alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidines

Tomono SANO^{*1}, Takashi KAWACHI^{*1}, Norio MATSUKURA^{*1}, Masahiro NAKADATE, Takashi SUGIMURA^{*1}, and Masaki MORIYAMA^{*2}: *Gann*, 69, 277 (1978)

Carcinogenicity of seven homologs of N-alkyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (N-alkyl-NNG), namely, N-methyl-NNG, N-ethyl-NNG, N-propyl-NNG, N-butyl-NNG, N-isobutyl-NNG, N-pentyl-NNG, and N-hexyl-NNG, was examined by injecting the compounds subcutaneously into rats. All of them except N-isobutyl-NNG and N-hexyl-NNG were carcinogenic, but N-ethyl-NNG followed by N-methyl-NNG were stronger carcinogens than those with longer alkyl chains.

^{*1} Biochemistry Division, National Cancer Center Research Institute

^{*2} Department of Pathology, Nippon Medical School

4 Fluorescence of Boron Complexes. VI. Fluorometric Determination of Salicylic Acids

Toshio SHIBAZAKI, Tokiko NISHIMURA, Machiko HARA and Tadashi IJIMA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 26, 1737 (1978)

The fluorescence reaction of salicylic acid and its derivatives with boric acid was successfully applied to their micro-analyses.

They fluoresced strongly when excited in a mixed solution of 0.1% boric acid, 0.005–0.002 N sulfuric acid, and 5% acetic anhydride in glacial

acetic acid.

The coefficients of variation for these four compounds (1×10^{-6} M) were 0.8–1.0%.

This fluorometry was applied to the determination of salicylic acid in fermented liquor, blood plasma and urine, and the analytical results agreed well with those obtained by the colorimetric method.

5 Fluorescence of Boron Complexes. VII. Fluorometric Determination of Salicylamide

Toshio SHIBAZAKI: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 26, 1985 (1978)

Fluorometric determination of salicylamide was studied. Salicylamide fluoresced strongly when excited in a mixed solution of 0.1% boric acid, 0.005 N sulfuric acid, and 5% acetic anhydride in glacial acetic acid. This fluorophore was a salicylamide-boron-acetic acid (1:1:2) complex. The fluorescence emission maximum occurred at 388 nm, and excitation maximum at 328 nm. The linear range in the calibration curve was 5–1000 ng/ml in the final solution, coefficient of variation for salicylamide (0.28 μ g/ml) in the measurement ten times was 0.6%. This method was about five times more sensitive than the fluorometric method reported by Barr and Riegelman. The proposed method was successfully applied to the determination of salicylamide in urine samples, in which minimum concentration was *ca.* 30 ppb.

- 6 高速液体クロマトグラフ法による混合製剤の分析 (第3報) 新共重合型充てん剤を用いた高速液体クロマトグラフィーによる感冒薬中の鎮がい剤, きょたん剤及び抗ヒスタミン剤の定量
立沢政義, 山宮卓二, 江島 昭, 高井信治: 分析化学, 27, 753 (1978)

新共重合型充てん剤であるポリメチルメタアクリレート-ジビニルベンゼン共重合体 (以下 MCL-DVB と略記) およびこれにヒドロキシメチル基を導入したもの (以下 MCL-DVB-O と略記) を用いた高速液体クロマトグラフィーによる感冒薬中の芳香族多環系鎮がい剤, きょたん剤および抗ヒスタミン剤の分離定量法を確立した。ノスカピンおよびデキストロメトर्फェンは MCL-DVB を固定相とし, 又プロメタジン, アリメマジンおよびイソチベンジルは MCL-DVB-O

を固定相とし, 移動相にメタノール-28% アンモニア水 (99:1) を用いて分離することにより他に配合される解熱鎮痛剤との分離性も良く, かつ短時間の分離が可能になった。又, 測定波長は各成分の極大波長を用いることにより, 感冒薬中のこれら微量成分の定量が更に容易となった。

- 7 高速液体クロマトグラフィーによる新医薬品の分析 (第1報) 高速液体クロマトグラフィーによるメクロフェノキサート及び *p*-クロロフェノキシ酢酸の定量

勝島りえ子, 立沢政義, 江島 昭: 分析化学, 27, 539 (1978)

高速液体クロマトグラフィーにより, メクロフェノキサートおよびその分解物である *p*-クロロフェノキシ酢酸の定量を行った。固定相に日立ゲル 3011 および 3011-0 を用い, 移動相にそれぞれアセトニトリル-アンモニア水混液 (99.9:0.1), アセトニトリル-氷酢酸混液 (99:1) を選べば, メクロフェノキサートと *p*-クロロフェノキシ酢酸の分離定量が可能であった。内部標準物質にはマレイン酸クロルフェニラミンおよびプロチジン酸を用い, ピーク高さ比により検量線を作成すると原点を通る直線が得られ, 定量値の再現性も良好であった。

メクロフェノキサートがメタノール中では水溶液中よりも急速に分解することを見いだした。このメタノール中の分解物を単離し, NMR, IR スペクトルにより *p*-クロロフェノキシ酢酸のメチルエステルと同定した。

- 8 Separation of Drugs by High-performance Liquid Chromatography with Porous Polymer Resins

Rieko MATSUDA, Takuji YAMAMIYA, Masayoshi TATSUZAWA and Akira EJIMA: *J. Chromatogr.*, 173, 75 (1979)

The separation of cold drugs and nulloleptics by high-performance liquid chromatography with the porous polymer resin DVB-MCL-O (or 11-30-0), which is a styrene-divinylbenzene-methylmethacrylate copolymer substituted with hydroxymethyl groups, was studied.

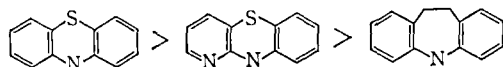
This copolymer was compared with the commercial porous polymers Hitachi Gel 3011, 3011-0 and 3030.

A very small theoretical plate height was obtained

by using DVB-MCL-O and methanol-ammonia solution (99:1) as the stationary and mobile phases, respectively. The combination was found to be the most suitable for the rapid separation of condensed aromatic ring compounds.

The k' values of phenothiazine and similar tricyclic compounds were measured using 11-30-0 resin and Hitachi Gel 3030 and 3011-0.

The k' value depend on the tricyclic skelton, and decreased in the order



There is also a considerable influence of the side-chain on the nitrogen atome in the contre ring on the k' values. Phenothiazine, which lacks such a side-chain, has high affinity for the stationary phase, and therefor has a high k' value. Terminal piperidine, piperazine and benzene rings in the sidechain result in high k' values. Groups in position 2, e.g., SCH_3 and CF_2 , also influence the k' value. Polar substituents e.g., OH or COOH, reduce the k' value.

9 Oxidative Degradation of Sulpyrine by Molecular Oxygen

Sumie YOSHIOKA, Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI and Akira EJIMA: *Arch. Pharm.*, 312, 81 (1979)

The copper (II) ion catalyzed oxidation of sulpyrine by molecular oxygen was studied. 4-Aminoantipyrine (AA), 4-formylaminoantipyrine (FAA) and antipyrinyl 4-peroxide (AP) were characterized as products.

10 Stability of Sulpyrine. III. Copper(II) Ion Catalyzed Oxidation by Molecular Oxygen

Sumie YOSHIOKA, Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 2723 (1978)

The kinetics of the copper (II) ion catalyzed oxidation of sulpyrine by molecular oxygen was investigated.

Sulpyrine was hydrolyzed to 4-methylaminoantipyrine (MAA) and then MAA was oxidized to antipyrinyl-4-peroxide (AP) via 4-aminoantipyrine

(AA), and hydroxymethanesulfonate formed in the hydrolysis is not effective on the rate of the oxidation of MAA. Below pH 4 the oxidation of MAA to AP was the rate-determining step. On the other hand above pH 5 the hydrolysis of sulpyrine to MAA was the rate-determining step.

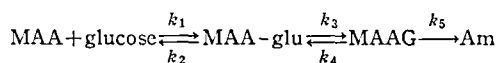
The rate constants of the oxidative reactions of MAA to AA, and of AA to AP could not be determined because of the difficulties of determining the reaction orders. The complexation of MAA and AA with copper (II) ion and molecular oxygen was suggested from the observation that the both reactions were of first order with respect to copper (II) ion and of 0.5 order with respect to molecular oxygen.

11 Stability of Sulpyrine. IV. Reaction with Glucose in Aqueous Solution

Sumie YOSHIOKA, Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 907 (1979)

Glucose accelerated the decomposition of sulpyrine remarkably when it was added to sulpyrine injections. As the reaction products of sulpyrine and glucose, aminopyrine (Am), 4-formylmethylaminoantipyrine (FMAA), and N-[2-(5-hydroxymethyl-2, 3, 4, 5-tetrahydro-2, 3, 4-trihydroxy)furyl]-methyl-N-methylantipyrine (MAAG) were isolated. These products were determined separately by means of high performance liquid chromatography in order to study the kinetics and mechanism of the formation of them.

Methylamino group in 4-methylaminoantipyrine (MAA), a hydrolyzed product of sulpyrine, reacted reversibly with formyl group in glucose and formed an intermediate (MAA-glu). MAA-glu transformed reversibly to MAAG, which decomposed to Am, as follows;



The dependence of k_3 , k_4 and k_5 on pH suggested that these reactions were catalyzed by specific acid.

The reaction pathway of the formation of FMAA were different from that of Am.

12 Furfural as a New Decomposition Product of Glucose Solution under Oxygen Atmosphere

Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Toshio MATSUURA, Fumiko SHIMADA: *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 668 (1978)

The decomposition of glucose under autoclaving and storage is one of the major problems in the quality control of parenteral medication. By high-pressure liquid chromatographic analysis of the decomposition products of glucose in aqueous solution, furfural has now been identified.

Furfural was formed from glucose or from 5-hydroxymethyl-2-furfural when heated in the presence of oxygen particularly in solution of acid pH.

13 固型製剤の溶出試験法に関する研究 (第1報) イソニコチン酸ヒドラジド錠のBioavailabilityと溶出速度との相関性

緒方宏泰, 鈴木澄男, 柴崎利雄, 江島 昭, 井上哲男: 薬誌, **98**, 823 (1978)

イソニコチン酸ヒドラジド (INH, 易溶性薬物) 粉末, 同錠の溶出速度および Bioavailability の測定時の問題点, 両者の相関性について検討し考察を加えた。

溶出速度 (ピーカー法, pH 1.0, 75 rpm) は INH 粉末, 6 銘柄の錠剤 (A, B, C, D, E, F) および自製錠剤 2 種 (G-I, G-II, 溶出速度の遅いもの) の順で減少した。これらの Weibull および 1 次のプロットはいずれも直線性を示した。また, Dissolution efficiency (DE)¹⁾ もこの順で減少した。

Bioavailability において, 尿中最高排泄速度, 累積総排泄量は粉末, A, B, C, G-I では評価すべき差が認められないが, G-II は少なかった。最高排泄速度到達時間は上の記載の順序で遅くなった。溶出速度と Bioavailability との間には相関性が認められた。50% 溶出時間 t_{50} が 20 分より大きく, DE が 50% より小さい製剤 (G-II) は悪い Bioavailability を示した。

以上の結果から, 溶出試験法によって, 大まかではあるが, INH 錠の Bioavailability を予測することができると思われる。

14 医薬品としてのカリクレイン

早川 堯夫, 川村 次良: 医薬品研究, **9**, 799 (1978)

カリクレインをめぐる諸知見を (I) 名称, (II) 基質特異性, (III) 分布, (IV) 単位, (V) 性状, (VI) 酵素反応機作, (VII) インヒビターとの作用様態, (VIII) キニン類の生理作用と薬理作用, (IX) キニン分解酵素とキニン作用増強物質などの各項目について整理し, 詳述した。

また, これらの知見をふまえた上で, カリクレインを主薬とする製剤の品質規格およびその試験法において留意すべき諸点を述べた。さらに, 酵素製剤一般の有効性・安全性の問題と, 品質規格・試験法との関連についても論じた。

15 Behavior of Cadmium in Rabbit Blood

Hideharu IKEBUCHI, Yasumasa KIDO and Goro URAKUBO*: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **27**, 1034 (1979)

Progressive distribution of ^{115}mCd in the blood and the main ^{115}mCd -binding protein in the red cells were investigated after a single intraperitoneal administration of $^{115}\text{mCdCl}_2$ to rabbit.

^{115}mCd in blood decreased drastically on the 1st day after injection and increased sharply again on the 2nd day, then gradually decreased showing the regression equation of $Y = -0.019x + 3.507$. The half life of ^{115}mCd in the blood was calculated to be 158.4 days.

On the 14th day after injection of $^{115}\text{mCdCl}_2$ solution, 99.1% of the radioactivity in the whole blood was in the red cells, over 90% of the radioactivity in the red cells existing in the supernatant of stroma-free hemolysate.

From the results of gel-filtration, DEAE Sephadex column chromatography and gel-electrophoresis, it was elucidated that about 70% of the radioactivity of the stroma-free hemolysate was bound to thionein. But the ratio of the two components in metallothionein was different between the red cells and the liver.

It was also made clear that incorporation of metallothionein into red cells through cell membrane never occurred by incubating red cells with ^{115}mCd -thionein.

Considering the observations mentioned above,

1) K.A. Khan: *J. Pharm. Pharmacol.*, **27**, 48 (1975)

it was presumed that the metallothionein in the red cells may have originated from some other organ than the liver.

* Toho University

16 Absorption, Distribution and Excretion of Triphenyltin Acetate and Stannic Chloride in the Guinea Pig

Kunisuke NAGAMATSU, Yasumasa KIDO, Goro URAKUBO, Yoshitaka AIDA, Yasukazu IKEDA and Yasuo SUZUKI: *Jap. J. Hyg.*, 33, 486 (1978)

Percutaneous absorption of ^{113}Sn -triphenyltin acetate (^{113}Sn -TPTA) was studied after the chemical was applied to guinea pig skin. Of the dose 3.04% and 7.97% were absorbed through the skin and 16.3% and 12.4% were found in the applied area 1 and 2 days after application, respectively.

After a subcutaneous (sc) injection of ^{113}Sn -TPTA, radioactivity was found in the liver, kidney and brain in large amounts, though absorption from the injected site proceeded slowly. The body retention of radioactivity showed a biological half time of 9.4 days, and about 83% of the dose was excreted in the feces within 20 days of dosage.

The radioactive concentration was greatest in the bone and kidney after an sc injection of $^{113}\text{SnCl}_4$. No transfer to the brain was detected. Absorption from the injected site and excretion, whose main route was urinary, were greatly delayed. The biological half time was estimated to be 26.5 days.

The intact compound, ^{113}Sn -diphenyltin and ^{113}Sn -monophenyltin were identified as the chemical forms of radiotin excreted in the feces after an sc injection of ^{113}Sn -TPTA.

17 Absorption, Distribution, Excretion and Metabolism of 2-Mercaptobenzothiazole in Guinea Pig

Kunisuke NAGAMATSU, Yasumasa KIDO, Goro URAKUBO,* Yoshitaka AIDA, Yasukazu IKEDA and Yasuo SUZUKI: *衛生化学*, 25, 59 (1979)

Percutaneous absorption of ^{14}C -2-mercaptobenzothiazole (^{14}C -2-MBT) was studied by applying

it to intact and abraded skin of guinea pig. Of the dose 6.14% and 8.39% were excreted to urine of intact skin animals and 27.42% and 34.58% were of abraded skin animals for 24 and 48 hr after application, respectively.

At 1 hr after a subcutaneous (sc) injection of ^{14}C -2-MBT, high radioactive concentration was found in the kidney, thyroid and liver in this order. At 6 hr after injection, the highest distribution in kidney, next higher in thyroid and blood, and no distribution in brain were observed.

At 15 min after sc injection, the greatest concentration was observed in the excretory organs such as gallbladder, kidney, bladder and lachrymal gland by autoradiography.

The main excretion route was urine and 64% and 92% of dose were excreted in 1 and 6 hr after sc injection, respectively.

Two metabolites glucuronide and sulfate of 2-MBT, were identified in urine by thin-layer chromatography, and 7.62% of 2-MBT and 90.00% of conjugates were determined in the sampled urine during 6 hr after sc injection by isotope dilution method.

* 東邦大学薬学部

18 Toxic Effects of Rice Culture of *Aspergillus candidus* and its Metabolite, Xanthoascins, on Japanese Quails

Toshitake ITO*, Koichiro OHTSUBO*, Kunitoshi YOSHIIHARA, Setsuko SEKITA, Shinsaku NATORI and Hiroshi TTSUNODA: *Japan. J. Exptl. Med.*, 48, 187 (1978)

Reduction of egg production and fatty degeneration of liver were observed in Japanese quails fed on diet containing the rice culture of *Aspergillus candidus*. The subcutaneous injection of 2 to 5 mg/g body weight of xanthoascins, the metabolite, exhibited about 80% mortality and reduction of egg production and hepatic degeneration were observed in the survivors.

* Institute of Medical Science, University of Tokyo

** Faculty of Education, Gunma University

- 19 **Acute Toxic Effects of Chaetoglobosin A, a New Cytochalasan Compound Produced by *Chaetomium globosum*, on Mice and Rats**
Kohichiro OHTSUBO*, Mamoru SAITO*, Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHIRA and Shinsaku NATORI: *Japan. J. Exptl. Med.*, 48, 105 (1978)

The LD₅₀ values of chaetoglobosin A by subcutaneous injection were estimated 6.5 and 17.8 mg/kg for male and female mice of DDD strain respectively. Pathological examination of the mice revealed marked edema at the injection site, necrosis of the thymus and spleen, and degeneration of the spermatocytes in the testicles.

* Institute of Medical Science, University of Tokyo

- 20 **Toxicity to Mice and HeLa Cells and Preliminary Chemical Examination of Five Fungi isolated from Foodstuffs**

Kohichiro OHTSUBO*, Mamoru SAITO*, Toshitaka ISHIKO**, Makoto UMEDA***, Setsuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHIRA, Shinsaku NATORI, Fumi SAKABE, Shun-ichi UDAGAWA and Hiroshi KURATA: *Japan. J. Exptl. Med.*, 48, 257 (1978)

Acute toxicity to mice, cytotoxicity to HeLa cells, and preliminary chemical examination chiefly by thin-layer chromatography were performed on the cultures of *Penicillium martensii*, *P. puberulum*, *Alternaria sp.*, *Epicoccum purpurascens*, and *Syncephalastrum recemosum*. The toxicity exhibited by the *Alternaria* was proved to be due to alternariol and the methyl ether.

* Institute of Medical Science, University of Tokyo

** Kanto-Teishin Hospital

*** Yokohama City University School of Medicine

- 21 **The Production of Chaetoglobosins, Sterigmatocystin, O-Methylsterigmatocystin, and Chaetocin by *Chaetomium* Spp. and Related Fungi**

Shun-ichi UDAGAWA, Tesuo MUROI, Hiroshi KURATA, Setuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIHIRA, Shinsaku NATORI and Makoto UMEDA: *Canada. J. Microbiol.*, 25, 170 (1979)

Production of mycotoxins by *Chaetomium* spp. and related fungi on rice culture was examined by a combination of cytotoxicity tests using HeLa cells and thin-layer chromatography. Three species, *C. mollipilium*, *C. rectum*, and *C. subaffine*, as well as *C. cochliodes* and *C. globosum*, were proved to produce chaetoglobosins. From cultures of four strains of *Chaetomium* sp., assigned to *C. thielaviodeum*, and one strain of *Farrowia* sp., chaetocin, sterigmatocystin, and O-methylsterigmatocystin were isolated. Morphological characteristics of the producers of sterigmatocystins are described.

* Yokohama City University School of Medicine

- 22 **Chemical and Toxicological Studies on Bracken Fern, *Pteridium aquilium* var. *latiusculum*. I. Introduction, Extraction and Fractionation of Constituents, and Toxicological Studies including Carcinogenicity Tests**

Kunitoshi YOSHIHIRA, Masamichi FUKUOKA, Masanori KUROYANAGI, Shinsaku NATORI, Makoto UMEDA*, Toshio MOROHOSHI**, Makoto ENOMOTO** and Mamoru SAITO***: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 26, 2346 (1978)

Toxicity tests to experimental animals and to HeLa cells were performed on the extracts of young fronds of bracken, aiming the isolation and characterization of the carcinogenic principle(s) and the acute cattle poison(s). The separation of the extracts monitored by cytotoxicity tests resulted in the isolation of more than twenty kinds of sesquiterpenes having 1-indanone nucleus, named pterosins, and their glucosides, pterosides, and several known phenolics and steroids.

Although the dried fronds and rhizomes of the fern exhibited carcinogenicity by feeding to rats, none of the extracts and the fractions along with pterosin B and pteroside B, major indanones respectively in the fronds and rhizomes, induced tumors under the conditions employed.

* Yokohama City University School of Medicine

** St. Maryanna University School of Medicine

*** Institute of Medical Science, University of Tokyo

- 23 **Chemical and Toxicological Studies on Bracken Fern, *Pteridium aquilium* var. *latiusculum*. II. Structures of Pterosins, Sesquiterpenes having 1-Indanone Skeleton**
Masamichi FUKUOKA, Masanori KUROYANAGI, Kunitoshi YOSHIHARA and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 26, 2365 (1978)

The details of the structure elucidations of twenty-four sesquiterpenes isolated from the young fronds by physical data and chemical methods such as degradation and correlation reactions were described (衛生試験報, 90, 199, 200 (1972); 91, 149 (1973); 92, 140 (1974); 93, 185 (1975) 参照).

- 24 **Chemical and Toxicological Studies on Bracken Fern, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. III. Further Characterization of Pterosins and Pterosides, Sesquiterpenes and the Glucosides having 1-Indanone Skeleton, from the Rhizomes**
Masanori KUROYANAGI, Masamichi FUKUOKA, Kunitoshi YOSHIHARA, and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 27, 592 (1979)

Four pterosins, illudoid sesquiterpenes, and nine pterosides, the glucosides, were isolated from the rhizomes of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. The stereostructures of the new compounds were elucidated by chemical and physical methods based on the structures established for the compounds obtained from the fronds (衛生試験報 93, 185 (1975) 参照).

- 25 **Chemical and Toxicological Studies on Bracken fern, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. IV. Surveys on Bracken Constituents by Mutagen Test**
Masamichi FUKUOKA, Masanori KUROYANAGI, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI, Minako NAGAO*, Yuri TAKAHASHI*, and Takashi SUGIMURA*: *J. Pharm. Dyn.*, 1, 324 (1978)

Among the twenty-three compounds isolated from the bracken, kaempferol showed noticeable mutagenicity to *Salmonella typhimurium*, strains TA 100

and TA 98, with metabolic activation by S-9 mix. With pretreatment by 'hesperidinase' the mutagenic activity of the boiling water extract was concentrated to the fraction containing astragalins. Several extracts and fractions were prepared for test of mutagenicity and the presence of other mutagens in bracken besides the flavonoids was evidenced.

* National Cancer Center Research Institute

- 26 **Circular Dichroism and Conformation of Pterosins, 1-Indanone Derivatives from Bracken**
Masanori KUROYANAGI, Masamichi FUKUOKA, Kunitoshi YOSHIHARA and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 27, 731 (1979)

Pterosins and pterosides, 1-indanone derivatives from bracken, and the derivatives exhibit CD Cotton effects associated with $n \rightarrow \pi^*$ transition of conjugated ketones in the range of 310–370 nm. Sneath's rule was applied to the compounds and the conformations of the indanones were discussed from the observation by the CD data. The conformation of pterosin A derivatives having a hydroxymethyl group at the 2-position is affected by the intramolecular hydrogen bonding. In pterosin C and L derivatives bearing a hydroxyl group at the 3-position, the hydroxyl group exists in pseudoaxial conformation irrespective of the configuration at the 2-position. The results obtained by the compounds of established stereochemistry by chemical methods were applied for the determination of the absolute configurations of pterosin D derivatives.

- 27 **Confirmation of the Structure of Tiliroside, an Acylated Kaempferol Glycoside by ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance**
Masanori KUROYANAGI, Masamichi FUKUOKA, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI and Kazuo YAMAZAKI*: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 26, 3594 (1978)

The structure of tiliroside was confirmed to be kaempferol 3- β -D-(6''-p-coumaroyl)-glucopyrano-

side by ^{13}C -nuclear magnetic resonance.

* Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine

28 自然界に存在する発がん物質

名取信策：食品衛生研究，28，995 (1978)

天然発がん物質についての知識の現状，天然の変異原物質とその試験法の意義を述べ，これらの物質の人の健康への影響について考察を行った。

29 天然変異発癌物質の現状と展望—天然に本来存在するものについて

名取信策：癌と化学療法，5，増刊 101 (1979)

天然に存在する2次代謝産物の生合成と機能について先ず概説を行い，これらのうち現在発癌性が明らかにされているものについて，真菌，放線菌，高等植物の順に説明を行った。つぎに発癌性を示すための代謝の役割を述べた。最後に変異原の試験法の天然物研究における役割りと最近のフラボノイドの変異原性の知見を述べ，これらの天然変異発癌物質の人の健康への影響についての考察を行った。

30 エチレンオキシドのFDAにおける規制について

大場琢磨：医器学，49，256 (1979)

エチレンオキシド (EO) は殺菌力が強く低温滅菌に応用しうするため，ディスポーザブル医療器具などの滅菌に広く用いられている。しかしEOは滅菌作業従事者がこれに暴露されたとき皮膚，粘膜に障害をおこし，プラスチック殊に軟質塩化ビニル樹脂に吸着され易く，血液と接したとき溶血作用をおこすなどが知られている。FDAは1973. 9. 21. 付 Federal Registerでその調査を始めることを通報し，以後各方面で検討が行われ，1978. 6. 23. 付の Federal RegisterでEOおよびその二次生成物ECH, EGの残留限度および一日暴露許容量を提案した。

この規制は，例えば血液に接する体外使用の器具のEO残留限度を25 ppmとし，これをGMPの法律に追加して行うように提示されている。

31 ディスパースアマルガムの腐食に関する研究—アマルガムの組成と溶出について

辻 楠雄，菊地 寛，堀部 隆*，井上勇介*：歯材器誌，35，398 (1978)

ディスパースアマルガム中，銀-銅共晶合金添加型と高銅単一分散型の耐食性について，在来球状，削片

型アマルガムと比較する目的で，生理食塩液中に最大75日間全漬した際の溶出イオンおよび腐食生成物の沈澱の微量分析を行うと共に，腐食したアマルガム面のSEM像とEPMAによる面分析，ポテンショスタットによる腐食電位，分極曲線を求めた。各タイプのアマルガムの生理食塩液中の溶出イオン量は銀<水銀<銅<錫<亜鉛の順で，削片型，ディスパースA (Ag-Cu共晶添加型)は亜鉛の溶出が，ディスパースB (高銅単一分散型)は銅の溶出が，削片，ディスパースA，球状型は錫の溶出が多く認められた。溶出金属総重量では，球状 (2~7 mg)<ディスパースA (8~7 mg)<ディスパースB (20~18 mg)<削片型 (21 mg)の順で，研磨による差異はほとんど認められない。

ディスパースA，削片型の硬化初期の腐食電位は Sn^{2+} Zn^{2+} の溶出のため低く，3時間後不動態化し，他のアマルガムと同電位に達した。アマルガムは，生理食塩液中での分極曲線ではカソード支配の傾向にあり，アノード分極は弱いことが認められた。

* 福岡歯科大学

32 The Mutagenicity of Halogenated Alkanols and Their Phosphoric Acid Esters for *Salmonella typhimurium*

Akitada NAKAMURA, Noriyuki TATENO*, Shigeo KOJIMA, Masa-aki KANIWA and Taro KAWAMURA*: *Mutation Res.*, 66, 373 (1979)

9 Halogenated alkanols, 9 corresponding tris-(haloalkyl)phosphates, and 2 bis(2,3-dibromopropyl)phosphate salts were evaluated for mutagenicity against *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 and TA 1538, with and without rat liver *in vitro* metabolic activation system (S9 mix). Most of the test samples showed mutagenic activity in the strains TA 100 and TA 1535, but not in the strains TA 98, TA 1537 and TA 1538. In general, the mutagenic activities of the phosphates obtained with S9 mix were greater than the activities obtained without S9 mix. Among the phosphates, several structure-activity relationships were found; i.e., (i) the bromoalkyl derivatives were more mutagenic than the corresponding chloroalkyl derivatives, (ii) the β -haloethyl derivatives were more mutagenic than the γ -halopropyl derivatives, (iii) the phosphates having adjacent β and γ halogen atoms in the alkyl moiety, e.g.,

tris(2,3-dibromopropyl)phosphate, were particularly potent mutagens, (iv) the branched carbon chain reduced the mutagenic activities in spite of the presence of β -halogen atoms, e.g., tris(1-bromo-methyl-2-bromoethyl)phosphate. However, such relations did not necessarily apply to the halo-genated alkanols. It is concluded that the meta-bolic activation pathway via haloalkanols to muta-gens must not be in common with all of tris-BP-like phosphates.

* 横浜市衛生研究所

33 染料中に残留する α -ナフチルアミンおよび β -ナフチルアミンの分析 (第一報) トシル化 α -ナフチルアミン, β -ナフチルアミンの高速液体クロマトグラフィー

岡本光美*, 山田不二造*, 中村晃忠: 衛生化学, 25, 48 (1979)

染料中に残留する α -および β -ナフチルアミンを高速液体クロマトグラフィーにより分析した。トシル化した α -および β -ナフチルアミンは JASCOSIL SC-01 のカラムを用い、酢酸エチル-メタノール-水 (12:48:40) の溶媒で分離され、波長 275 nm の紫外吸収モニターを用いて検出することにより感度、精度とも良好に定量することが出来た。若干の染料を分析した結果、 α -ナフチルアミンを 3805, β -ナフチルアミンを 165 $\mu\text{g/g}$ 含有するものが見出された。

* 岐阜県衛生研究所

34 水性塗料中のトリブチル錫ならびにトリフェニル錫の分析

小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭: 衛生化学, 25, 141 (1979)

合成樹脂エマルジョンペイント中のトリブチル錫 (TBT) ならびにトリフェニル錫 (TPT) 防かび剤をフレイムレス原子吸光法により確認する方法について報告した。TBT と TPT は塩酸を含むメタノールにより塗料から抽出できる。このメタノール抽出液をリン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0) により 4 倍量に希釈し、TBT, TPT をヘキサンで抽出する。ヘキサンを注意深く留去した後、残留物をジクロルメタンに溶かす。この液をアルミナカラムに通し、TBT や TPT の定量を妨害するジブチル錫 (DBT) やジフェニル錫 (DPT) を除く。流出液からジクロルメタンを留去し、残留物に濃硝酸を加えて加熱した後、フレイムレス原

子吸光法により錫の含有量を測定する。検出限界は錫として 0.2 $\mu\text{g/g}$ である。10 μg の TBT や TPT を 1 g の塗料に添加した時の平均回収率 (試行 5 回) は塗料のタイプによって異なるが、TBT で 87.1-90.1 %, TPT で 74.7-82.1 % であった。

35 羊毛防虫加工剤の系統分析法

鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 佐藤洋子*: 衛生化学, 25, 80 (1979)

1) 国内における主要な防虫加工剤であるディルドリン, オイラン U-33, ミチン LA およびミチン FF を対象とする系統分析法を確立した。

2) 羊毛製品を 10% NaOH に溶解し、エーテルで抽出すると、オイラン U-33, ミチン LA およびミチン FF はほぼ定量的に抽出された。しかし、ディルドリンはエーテルでは約 40-50% しか抽出されない場合があり、エーテル抽出後ヘキサンで抽出することで抽出率はほぼ定量的となった。

3) ECD-ガスクロマトグラフィーを用いることで、複雑な分離操作なしに定性および定量を行うことができた。すなわち、ディルドリンおよびオイラン U-33 は抽出液を前処理なしに 2% OV-1 カラム付きの GC に注入して分析した。ミチン LA はジメチル硫酸でメチル化して 2% OV-1 カラムで分析した。ミチン FF は塩基による加水分解後、生成する 3,4-ジクロロアニリンをトリフルオロアセチル化して 1% PEG-20M カラムで分析した。

4) この方法を用いて 48 点の市販羊毛製品を分析した。

* 横浜市衛生研究所

36 東京都霞ヶ関における空気中のホルムアルデヒド濃度

松村年郎, 井上哲男, 樋口英二, 山手 昇*: 日化誌, 4, 540 (1979)

炭化水素と窒素酸化物が光化学反応を起こしホルムアルデヒドを生成することはチャンパー実験等によって明らかになっている。しかし実際の環境大気において光化学反応によりホルムアルデヒドが生成するか否かについては十分に究明されていない。本報はホルムアルデヒド自動計測器を用いて得られた長期間の実測データを基に高濃度ホルムアルデヒドの発生状況と光化学反応との関連性について詳細に検討した。その結果、高濃度ホルムアルデヒドの発生には光化学反応が大きく関与していることが判明した。

* 日本薬業貿易協会

37 **Comparative Studies of Chromosomal Aberration and Mutagenicity of Trivalent and Hexavalent Chromium**

Katsuhiko NAKAMURO, Kunie YOSHIKAWA, Yasuyoshi SAYATO and Hiroshi KURATA: *Mutation Res.*, 58, 175 (1978)

The comparative cytogenetic and mutagenic effects between trivalent and hexavalent chromium were investigated. Five chromium compounds, $K_2Cr_2O_7$ and K_2CrO_4 containing Cr^{6+} , and $Cr(CH_3COO)_3$, $Cr(NO_3)_3$ and $CrCl_3$ containing Cr^{3+} , were examined for their ability to induce chromosomal damage in cultures of human leukocytes, for their reactivity with DNA by a rec-assay system and for mutagenicity in the *E. coli* Hs30R test system.

Chromosome-breaking activity was significantly higher for the compounds with hexavalent than trivalent chromium, the efficiency being in the decreasing order $K_2Cr_2O_7 > K_2CrO_4 > Cr(CHCOO)_3 > Cr(NO_3)_3$, $CrCl_3$. In the rec-assay and mutation assay, hexavalent ($K_2Cr_2O_7$ and K_2CrO_4) and trivalent ($Cr(CH_3COO)_3$) compounds gave positive results, their mutagenic potential being higher in the same order of clastogenic magnitude.

38 **Studies on Disposition of Calcium in Bones of Rats after Continuous Oral Administration of Cadmium**

Masanori ANDO, Yasuyoshi SAYATO and Toshiaki OSAWA: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 46, 625 (1978)

In order to study the fate of calcium in bones of rats after continuous oral administration of cadmium, the whole body retention, the excretion, and the distribution of ^{45}Ca were investigated in rats treated with Cd. The biological half-lives of ^{45}Ca were found to be remarkably shortened in Cd-exposed rats compared with normal control rats. The degrees of fecal and urinary excretion of ^{45}Ca of Cd-exposed rats were higher than those of control rats. The radioactivity of ^{45}Ca in the blood increased more markedly in Cd-exposed rats than in control rats, whereas the amount of ^{45}Ca in bones of Cd-exposed rats decreased with the duration of exposure.

39 **食品の開発と安全性評価およびその生化学的アプローチ**

内山 充: 化学と生物, 16, 180 (1978)

食品の安全性評価には未だに観点の定まらない部分がある。それは、毒性試験の既成の項目によって得られる保証がどこまで食品の安全性を保証しうるかというところにある。新開発、新形態食品が世に出ることの多い昨今において食品の安全性への考え方を見直し、それを生化学的手法を中心に解説した。

40 **食品中の重金属の化学形について**

内山 充: 食品衛生研究, 28, 551 (1978)

食品中の重金属の安全性を評価するに当っては、単に存在量だけで考えることができない例が多い。たとえば海藻にはヒ素が数十ないし百 ppm も含量されている。毒性試験に用いる金属の投与形態も本来は食品中の形態と同様である必要がある。それらの点について、重金属のもつ基本性質から、食品中の化学形態についてのこれまでの知見を紹介した。

41 **Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XXVII). Determination for Multicomponent Organophosphorus Pesticides by Gas Liquid Chromatography**

Youko KAWAMURA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 19, 511 (1978)

The determination for the multicomponent residues of organophosphorus pesticides was performed by gas liquid chromatography (GLC) with a flame photometric detector. The GLC under the temperature-programmed operation on the column of 4% OV-101 could provide sufficient information for the screening and the isothermal analyses on the columns of 4% OV-101 and 10% QF-1 could determine individually 38 pesticides.

42 **Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XXVIII). Determination of 33 Organophosphorus Pesticides in Agricultural Crops**

Youko KAWAMURA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 19, 518 (1978)

A modified method for the simultaneous determination of 33 organophosphorus pesticides in

agricultural crops was presented. After extraction of samples with acetonitrile, the pesticides are transferred into 20% dichloromethane in benzene, cleaned up by charcoal column chromatography, and then determined simultaneously by the gas liquid chromatography with a flame photometric detector using the column of 4% OV-101 and 10% QF-1. The efficiency of the method was evaluated by analyzing water and 7 kinds of crops fortified with the pesticides. The average recoveries of the pesticides from crops were ranged from 72.0% (fenthion) to 108.0% (tetrachlorvinphos) and those from water were quite satisfactory for all pesticides.

43 Photolysis of Chlorothalonil in Benzene

Yoko KAWAMURA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Pesticide Sci.*, 3, 397 (1978)

Chlorothalonil (tetrachloroisophthalonitrile) in benzene was unstable at a light place and unknown compounds appeared. This reaction occurred easily by sunlight through glass. A major photolysate of chlorothalonil in benzene was crystallized as colorless needles. The photolysate was identified as 2,3,5-trichloro-4,6-dicyanobiphenyl by means of MS and CMR spectra. Similar photolysates of chlorothalonil occurred easily in other aromatic solvents at the light place and gave 3 peaks in toluene, 1 in *o*-xylene and 2 in mesitylene on the gas chromatogram, but no photochemical products was found in acetone, ether and hexane.

44 Fluorescence Enhancement in Thin-Layer Chromatography by Spraying Viscous Organic Solvents

Sadao UCHIYAMA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Chromatogr.*, 153, 135 (1978)

Spraying of the fluorescence spot on a thin-layer plate with a non-volatile and viscous organic solvent after development enhanced the fluorescence. The elucidation of the physicochemical factors that affect such an enhancing effect was investigated. The effect was not related to the transmissibility of light through the thin layer but to the properties of the spraying reagent (polarity, viscosity and

acidity).

The appropriate reagents for 5-dimethylamino-1-naphthalenesulphonamides (DANS-amines) are non-polar, viscous and non-acidic solvents such as a mixture of liquid paraffin and *n*-hexane, which enhanced the fluorescence intensity 10-fold. With benzo(a)pyrene, the use of a solvent such as this liquid paraffin mixture enhanced the fluorescence intensity 35-fold.

45 かんきつ類中のクマロン・インデン樹脂の分析法

内山貞夫, 近藤龍雄, 内山 充: 食衛誌, 19, 536 (1978)

かんきつ類の被膜剤クマロン・インデン樹脂 (CI 樹脂) の簡便で特異的分析法を検討した。混合けい光体薄層クロマトグラフィーを行い、スポットを吸収波長の差異に由来する色調から確認し、またスポットを単一化するために 2 段展開法を開発して CI 樹脂を妨害もなく良好に分離し検出することができた。その結果、検出限界は 20 ppm であった。市販米国産グループフルーツ、オレンジおよびレモンからは CI 樹脂は検出されなかった。

46 クロレラ中のクロロフィル分解物に関する化学的試験

天野立爾, 池 慶子, 内山 充: 食品衛生研究, 28, 739 (1978)

クロレラを原因食とする光過敏性皮膚障害を主兆とする食中毒が発生した。

その原因化合物を検索した結果、中毒患者が喫食したクロレラ製品、同一ロットの製品、あるいは同じ原料を使用したと推定される製品中から、クロロフィルの分解物で、すでに光過敏毒性が知られているフェオホルバイド a を多量に検出した。

またこの物質の成因を調べたところ、温度および湿度が関与しており、また、クロロフィルラーゼの存在が認められた。これらの諸点から、原料クロレラ中のクロロフィルラーゼ残存活性、加工あるいは保存中の温湿度等により当中毒原因クロレラ製品が毒化したものと推定された。

さらに、タカナの漬物中から、光過敏毒性が報告されているピロフェオホルバイド a を検出した。

47 **かんきつ類中のチアベンダゾールおよびオルトフェニルフェノールの分析法**

原田基夫, 川崎洋子: 食品衛生研究, 28, 1029 (1978)

チアベンダゾール (Thiabendazole, TBZ) はアメリカ, メルク社で発開された低毒性の防カビ剤で農産物に対する農薬としてのほか, 家畜動物の胃腸管寄生虫に対する駆虫剤としても用いられている。わが国では農薬として登録されているが, かんきつ類に対して 10 ppm 以下, バナナに対して全果で 3 ppm, 果肉で 0.4 ppm までの使用が許可された。このためこれらの食品中からの定量法を早急に確立するように要望されたので, 各種の分析法について目下検討中であるが, 今回は TBZ に関する内外の文献から若干の解説を行ってみた。

48 **The Effects of Ethanol, Glucose and Sucrose on Nitrosation of Secondary Amines Following Alkalinization of Reaction Mixture**

Miyako YAMAMOTO, Takashi YAMADA and Akio TANIMURA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 20, 15 (1979)

When diethylamine (DEA) was reacted with sodium nitrite at pH 3 in the presence and absence of ethanol, glucose or sucrose, followed by alkalization with sodium hydroxide to terminate the reaction, nitrosodiethylamine (NDEA) formation was stimulated by the addition of ethanol, glucose or sucrose. However, these compounds had no effect on NDEA formation when the reaction was terminated by the addition of sulfamic acid. Further, when the mixed solution of sodium nitrite and ethanol, glucose or sucrose was first acidified to pH 3, next alkalinized to pH 13, and then combined with DEA, NDEA was formed in proportion to the concentration of ethanol, glucose or sucrose. NDEA was also formed in the reaction of DEA and ethylnitrite in basic medium. It can be probably postulated that the corresponding nitrous acid ester is formed from sodium nitrite and ethanol, glucose or sucrose in acidic medium and nitrosates DEA in alkaline medium. It should be noted that apparent stimulation occurs in nitrosation of secondary amines in the presence of compounds having alcoholic hydroxyl groups when reaction is terminated by alkalization.

49 **Metabolic Fate of the Precursors of N-Nitroso Compounds (III). Urinary Excretion of Nitrate in Man**

Hajimu ISHIWATA, Hiroko MIZUSHIRO, Akio TANIMURA and Toshiro MURATA*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 19, 318 (1978)

Urinary excretion rate of nitrate in man was studied by determining the amount of nitrate ingested with foods and beverages and that excreted into urine for 24 hr and 48 hr.

The mean nitrate concentration $\pm$ S.D. in the urine ($n=33$) which were collected from 11 subjects at random was 74.4 ± 42.5 ppm. The excretion amounts of nitrate in the 24 hr urine obtained from 9 subjects who ingested conventional diet containing from 44.1 to 864.2 mg of nitrate was from 45.6 to 236.9 mg, indicating a remarkable and individual differences of urinary excretion rate of nitrate (27.4 to 133.8%). The excretion amount of urinary nitrate every 2 hr in two subjects was less than 10 mg when only the low-nitrate diet containing a small amount of nitrate was ingested, but increased more than 25 mg every 2 hr by the ingestion of 200 mg of sodium nitrate or 100 g of salted Chinese cabbage, containing 75.1 mg of nitrate, with the low-nitrate diet. The range of the urinary excretion rates of nitrate for 48 hr was from 78.2 to 86.2% ($n=3$). No nitrite was detected in any urine specimens, and neither nitrate nor nitrite was detected in any feces ($n=6$).

* Shizuoka College of Pharmacy

50 **A Short-Term, Simple Method for Detection of N-Nitrosocompounds Produced from Sodium Nitrite and Morpholine in Stomach**
Naomichi INUI*, Yosiyusuke NISHI*, Masako TAKETOMI* and Takashi YAMADA: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 81, 310 (1978)

Syrian hamsters in the 11th or 12th day of pregnancy were given sodium nitrite and morpholine simultaneously by stomach tube. The embryonic cells were cultured for 72 h in normal MEM medium plus 10% fetal calf serum and then transferred into medium containing 8-azaguanine. After cultivation in the selection medium, number

of 8 azaguanine-resistant colonies was scored. As the results, this oral concurrent transplacental application of sodium nitrite and morpholine can cause 8 azaguanine-resistant mutants on the cultured embryonic cells from mothers that received these chemicals. Nitrosomorpholine was only detected in stomach of animals treated with sodium nitrite and morpholine.

* Biological Research Center, JTS.

51 畜産食品における合成抗菌剤の検査法について (そのⅡ)

神蔵美枝子：食品衛生研究, 28, 1051 (1978)

飼料添加物として指定されている合成抗菌剤、ナイカルバジンについて、品質規格、用途、安全性について解説し、畜産食品中の残留分析法を示した。比色法ならびにポーログラフ法による、分析法を確立するに至るまでの種々な問題点、とくに妨害物質の除去に関する検討結果を記述した。なかでも、比色溶液をアルコール製水酸化ナトリウム溶液からアルカリ性アセトン溶液に代えることによって、測定誤差をなくし、さらに感度が高められることを知った。本法による測定限界は鶏肉 25 g についてナイカルバジン 2 μ g (0.08 ppm) で、回収率は 95% である。

また、動物用医薬品として疾病の治療に用いられるフラゾリドンについても解説した。

52 果実飲料の微生物に関する研究 (第 1 報) 市販みかんおよびりんご果実飲料における微生物の分布

小島満子, 倉田 浩, 駒形和男*: 食衛誌, 19, 449 (1978)

ポリエチレン加工紙製容器に詰められた市販みかんおよびりんご果実飲料の生菌数と微生物の分布について調査した。生菌数は、製造後 1 週間以内の試料では 10^1 /ml 以下であったが、1~4 週間経過した試料の約 40% においては 10^{2-6} /ml であった。微生物群としては酵母が最も優勢であり、次いで糸状菌、細菌の順であった。みかん果実飲料の主要分離酵母は *Rhodotorula* (83.3%), *Cryptococcus* (37.5%), *Candida* (33.3%) などの無孢子酵母であり、その他 *Trichosporon*, *Debaryomyces* が認められ、出現頻度は低かったが、*Kloeckera*, *Pichia*, *Hansenula*, *Cephaloscyus* が分離された、糸状菌では *Aspergillus*, *Aureobasi-*

dium, *Botrytis*, *Phoma*, *Mucor* などが分離された。

* 東京大学応用微生物研究所

53 果実飲料の微生物に関する研究 (第 2 報) 市販みかん果実飲料から分離した酵母の同定 小島満子, 駒形和男*, 倉田 浩：食衛誌, 19, 457 (1978)

市販みかん果実飲料 24 試料から分離した 72 株の酵母を次のような 9 属 22 種に同定した。 *Rhodotorula rubra* (13 株), *Cryptococcus laurentii* (10 株), *Cr. albidus* (9 株), *Cr. infirmo-minutus* (9 株), *R. minuta* (4 株), *Debaryomyces hansenii* (3 株), *Trichosporon cutaneum* (3 株), *Candida sake* (3 株), *C. parapsilosis* (2 株), *Tr. pullulans* (2 株), *Tr. variabile* (2 株), *R. glutinis* (2 株), *Kloeckera apiculata* (1 株), *Hansenula anomala* (1 株), *Pichia etchellsii* (1 株), *C. diddensii* (1 株), *C. intermedia* (1 株), *C. freyschussii* (1 株), *C. santamariae* (1 株), *C. valida* (1 株), *Candida* sp. (1 株) and *Cephaloscyus fragrans* (1 株)。

* 東京大学応用微生物研究所

54 液全卵 (凍結卵) の原料、製品および製造工程における細菌汚染について

指原信広, 水谷 宏, 高山澄江, 小沼博隆, 鈴木 昭, 今井忠平*: 食衛誌, 20, 127 (1979)

1977 年 6 月~1978 年 5 月にかけて液全卵 1035 検体および原料殻付卵 840 検体について細菌汚染に関する調査を行った。その結果未殺菌卵は夏期製造したものは冬に比べて細菌汚染がひどかった。殺菌済みのものは季節に余り関係がなく良好であった。殻付卵表面の細菌汚染は産地未洗卵で一般生菌数 3.6×10^6 /個、大腸菌群 1.9×10^2 /個であり、洗卵済みのものは 3.9×10^4 /個、 2.8×10 /個であった。未殺菌液全卵の菌叢は *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas* および *Pseudomonas* などのグラム陰性桿菌が優勢であるのに対し、殺菌済みでは *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* および *Bacillus* などのグラム陽性菌が認められた。

* キュービー研究所

55 生力キの大腸菌汚染と分離菌株のエンテロトキシン産生性

小久保弥太郎*, 松下 秀*, 甲斐明美*, 山田満**, 小沼博隆：食衛誌, 19, 117 (1978)

1976 年 10 月～1977 年 3 月の間に主として東京都中央卸売市場に入荷した生カキ 405 検体を対象に大腸菌による汚染を EC テストにより調査した。その結果、検体の 50% 以上から大腸菌が検出され、そのうち 39 検体 (9.6%) は 230/100 g 以上であった。なかでも広島産カキの汚染がひどかった。12 月に入荷したカキは他の月のものに比べて汚染が高かった。分離した大腸菌 138 株のうちエンテロトキレン産生株が 4 株認められ、うち 1 株は LT 産生株で広島産カキから、他の 3 株は ST 産生株で、岩手および三重県産カキから分離された。これらの血清型は LT 産生株では O 型別不能 H2, ST 産生株は 1 株が O25:H42, 他の 2 株は運動性を欠き O20 および O 型別不能であった。

* 東京都立衛生研究所 ** 東京都市場衛生検査所

56 硝酸ナトリウム投与サル唾液・血液中における硝酸および亜硝酸イオンの消長ならびに口腔内微生物叢について

林 長男, 渡辺幸一, 石綿 肇, 水城弘子, 谷村顕雄, 倉田 浩: 食衛誌, 19, 392 (1978)

ヒト口腔内亜硝酸 (NO_2^-) 生成を動物実験により証明する目的で、サルに硝酸ナトリウム (NaNO_3) の胃内経口投与を行った。サルは、投与した NaNO_3 量と唾液中の硝酸 (NO_3^-) および NO_2^- との間に顕著な経時的相関性を示したサル (good), 反対にそれらの関係が認められなかったサル (poor) とに区別された。この両者の主要な相違点は、血液中 NO_3^- のピークに差はなかったが、唾液中 NO_3^- では、good が終始血液中より高い濃度を維持したのに対し、poor では常に血液中より低い濃度で終始した。口腔内微生物叢では good の最優勢菌種が *Streptococcaceae*, *Bacteroides melaninogenicus*, また多く検出された硝酸還元菌は *Bacteroidaceae*, *Veillonella* であった。

57 O-メチルステリグマトシスチン生産 *Chaetomium* の分類学的性質について

宇田川俊一, 室井哲夫, 倉田 浩, 関田節子, 義平邦利, 名取信策: マイコトキシン, 8, 25 (1978)

Chaetoglobosins の生産性検索を目的として、標準菌株として保存中の *Chaetomium* 菌株および各種の基質から分離した *Chaetomium* およびその関連属菌株などおよそ 40 種, 60 菌株を対象にし二次代謝産物の細胞毒性を指標とするスクリーニングを行ったところ、たまたまその過程において、O-メチルステリグマ

トシスチン生産性を示す数菌株が発見された。この菌株について常法により同定を行ったところ、4 菌株とも子のう殻、頂毛、子のう胞子など主要な形態的特徴から 1973 年に中国で報告された *C. thielavioideum* Chen と一致することを知った。比較のため中国科学院微生物研究所から同種の標準株を得て、その代謝産物を分離し、O-メチルステリグマトシスチン生産性を確認、両者が同一種であるとの結論を得た。

58 *Fusarium* 属の Zearalenone 産生

一戸正勝, 倉田 浩, 鈴木敏正*: マイコトキシン, 5/6, 1 (1977)

国産ムギ類の他、輸入のトウモロコシ、落花生、大豆などから分離した *Fusarium* 属の 11 種, 104 菌株につき、zearalenone 産生能を米培養後、TLC, GLC により検索して、*F. graminearum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. culmorum*, *F. nivale* などに、最高 3051 $\mu\text{g/g}$ に達する産生菌株をみとめた。産生菌株はいずれも大型分生子のみを形成する菌種であった。

* 埼玉県衛生研究所

59 *Fusarium* 属の病原性と毒素生産性

一戸正勝: 西日本皮膚科, 40, 613 (1978)

Fusarium 真菌症について既報の本邦症例の分離菌株の再検討と諸外国の症例文献につき検討を行って、*F. solani* による角膜炎真菌症、*F. oxysporum* による爪真菌症が主であることを認めた。また、*Fusarium* 毒素であるトリコテセン類、ゼアラレノンに関する内外の研究の現状について紹介した。さらに臨床材料などから分離される代表的 *Fusarium* 菌種の同定法につき解説した。

60 *Fusarium* 属の産生するマイコトキシン

一戸正勝: 植物防疫, 32, 417 (1978)

植物病原菌として著名な *Fusarium* 属は赤かび中毒など真菌中毒症の原因菌も含んでいる。代表的 *Fusarium* 毒素のトリコテセン類、ゼアラレノンなどについて化学的性状、生理活性面の解説をすると共に菌学面からみてトリコセン系毒素は広範囲の *Fusarium* 菌種にみとめられるのに対し、ゼアラレノン産生菌は大型分生子のみを有する特定の菌種に果中することを強調した。また *Fusarium* 毒素の穀物などへの自然汚染例を内外の文献から集めて情報提供を行った。

61 *Fusarium* 属の分類と同定法

一戸正勝, 内山 茂, 倉田 浩: 防菌防黴, 6, 15 (1978)

土壌, 汚水中など広範囲の生態系において常在菌の上位にあり, また, 植物病原菌, マイコトキシン産生菌, 真菌症原因菌など重要な *Fusarium* は同定の難しい菌とされてきた。

Booth (1971) の分類体系にもとずき, 菌分離, 単孢子分離, 同定用基準培地, スライド培養法など同定の手順について解説し, 培養の観察の要点を代表的菌種の写真と簡便な検索の仕方を示した。

62 マイコトキシン産生 *Fusarium* 属菌の分類

一戸正勝: マイコトキシン, 8, 1 (1978)

マイコトキシン産生 *Fusarium* として重要な菌種の分類同定に関しては, いくつかの分類体系があり, そのために各研究者が採用している菌名に著しい混乱がみられていた。

代表的分類学者の Snyder-Hansen (1945), Booth (1971), Joffe (1974) の各体系の比較を行って, マイコトキシン研究の分野では Booth の方式が合理的であり, 理解しやすいものであるとした。また国産ムギ類から分離される *Fusarium* につき, Booth 方式で同定した例を提示した。

63 On the Toxicogenic Fusaria Invading Barley and Wheat in the Southern Japan

Takumi YOSHIZAWA^{*1}, Yasushi MATSURA^{*2}, Yukio TSUCHIYA^{*1}, Nobuichi MOROOKA^{*1}, Kiyomi KITANI^{*3}, Masakatsu ICHINOE and Hiroshi KURATA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 20, 21 (1979)

Representative fungi were isolated from pre-harvested and freshly harvested barley and wheat grains of eleven prefectures located in the southern Japan, studied on ability to produce several Fusaria-toxins in culture media and rice grains. Predominant types of 106 isolates belonged to the species *Fusarium graminearum*. Incidences of fungal isolates revealing lethal toxicity for mouse and skin necrotization for rats were 22.6% and 34.9%, respectively. The occurrence of Fusaria-toxin producing strains was 39.6% for 12, 13-epoxy-trichothecenes, 34.9% for butenolide and 16.3% for zearalenone, respectively. About half of these toxigenic strains showed the ability to produce two

or more mycotoxins simultaneously. The majority of trichothecene-producing strains of *F. graminearum* metabolized either deoxynivalenols or nivalenols. These data provide conclusive evidence for the infection of field barley and wheat of the southern Japan by different strains of *F. graminearum* which produced either deoxynivalenols or nivalenols.

^{*1} 香川大学農学部

^{*2} 岡山県立短大

^{*3} 香川短大

64 香辛料のカビおよびカビ毒に関する研究 I. 輸入香辛料のカビフローラと香辛料成分の各種真菌に対する生育阻害効果

高鳥浩介*, 渡辺恵子*, 宇田川俊一, 倉田 浩: マイコトキシン, 516, 36 (1977)

輸入香辛料 25 品目 44 試料について常法によりカビフローラを調査した。供試試料中の 11 試料 (25%) についてはカビ汚染が認められず, 一方極めて汚染の著しい試料として 10⁵/g 以上の菌数を示した 7 試料 (16%), 10⁴/g の菌数を示した 8 試料 (18%) がそれぞれカビ毒生産の見地から注目された。品目としてカビ汚染の著しいものは, allspice, cardamon, cassia, chilli pepper, cinnamon, laurel, oregano, sage, thyme, white pepper などであった。

フローラの主体は *Aspergillus*, *Penicillium* で, とくに優占的な種は *A. versicolor*, *P. chrysogenum* の 2 種であった。また, cloves, sansho, mustard seed などでは抗カビ性を示す成分が含まれているためにカビ汚染が少ないものと思われた。

* 食品薬品安全センター

65 New Species of Microfungi from Southeast Asian Soil

Tsutomu MORINAGA*, Kyubei MINOURA* and Shun-ichi UDAGAWA: *Trans. mycol. Soc. Japan*, 19, 135 (1978)

Four new species of Ascomycetes isolated from Southeast Asian soil are described and illustrated: *Echinopodospora offusa* and *E. vermicularis* (both in the Sordariaceae), *Lophotrichus plumbescens* (a member of the Microascaceae), and *Melanospora singaporensis* (a thermotolerant fungus of the Melanosporaceae). A new Hyphomycete, *Gil-*

maniella subornata is also reported.

* Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineerings, Hiroshima University

- 66 ***Paecilomyces lilacinus* による眼炎の1例**
安藤展代*¹, 山本偉司*¹, 中嶋英子*¹, 加藤進*¹, 一戸正勝, 高島浩介*², 吉田寛子*³: 臨床眼科, 33, 217 (1979)

本邦初例の *Paecilomyces lilacinus* による眼真菌症を報告した。45歳の農婦が作業中ススキにより左眼を突いたことから発症し、患者の前房水より2回続けて *P. lilacinus* を分離した。家兎角膜実質中での本菌の増殖を確認した。各種抗真菌剤の *In vitro* での抗菌活性はチメロサル (0.05 µg/ml) がもっとも高く、ついでエコナゾールが 12.5 µg/ml であったが、ミコナゾール、クロトリマゾール、ピマリミン、グリセオフルビンなどには抵抗性を示した。

*¹ 神奈川県立足柄上病院

*² 食品薬品安全センター秦野研究所

*³ 吉田眼科医院

- 67 **Metabolism of Triphenylmethane Colors (III) Comparison of Tissue Distribution and Biliary Excretion for ³H-Benzyl Violet 4B and ³H-Fast Green FCF (Food Green No. 3) in Rats**
Ken-ichiro MINEGISHI, Kazushige MORIMOTO and Tsutomu YAMAHA: *J. Food Hyg. Soc.* 19, 482 (1978)

Distribution and biliary excretion of Benzyl Violet 4B and Fast Green FCF were compared in female Sprague-Dawley rats after an oral administration of the ³H-labeled compounds.

The levels of Benzyl Violet 4B distributed in the plasma, ear, abdominal skin and abdominal muscle were higher than those of Fast Green FCF. The cumulative amounts of Benzyl Violet 4B and Fast Green FCF excreted in the bile were 4.26 and 3.81% of the dose by 24 hr, respectively. The biological half-lives for Benzyl Violet 4B in the above tissues were longer than those for Fast Green FCF.

- 68 **Interaction of 1, 1'-Ethylene-bis(1-nitroso-urea) with Nucleic Acids and Proteins *in vitro***

Kuzushige MORIMOTO, Tsutomu YAMAHA, Michiko MIYAHARA, Masahiro NAKADATE and Ikuo SUZUKI: *Gann*, 69, 649 (1978)

The binding of radioactivity from 1, 1'-ethylene-bis(1-nitroso-urea) (EBNU), labeled with ¹⁴C in either the carbonyl or ethylene residue, to nucleic acids, proteins, and synthetic biopolymers was studied *in vitro*. The radioactivity of both labeled compounds was bound to the trichloroacetic acid-insoluble fraction of L1210 cells; carbonyl-¹⁴C was bound to cytoplasmic and nuclear proteins but not to nucleic acids, but ethylene-¹⁴C was bound to both proteins and nucleic acids. Similar results were obtained in model experiments using purified nucleic acids, proteins, and synthetic polynucleotides and polypeptides. Among them, poly-lysine was the most active in the binding of radioactivity from both carbonyl- and ethylene-labeled EBNU.

- 69 **Anaerobic Deamination of Cyclohexylamine by Intestinal Microorganisms in Rabbits**

Toshie TOKIEDA, Toshio NIIMURA, Tsutomu YAMAHA, Tadao HASEGAWA*, and Takao SUZUKI*: *Agric. Biol. Chem.*, 43, 25 (1979)

Anaerobic deamination of cyclohexylamine (CHA) by the intestinal microorganisms of rabbits was studied.

1. Urinary excretion of cyclohexanol (CHnol) in rabbits receiving CHA orally was suppressed by the oral administration of neomycin or metronidazole, although the effects were considerably different in individuals.

2. When CHA was incubated anaerobically with the cecal contents of rabbits receiving CHA in drinking water, the deaminated metabolites, cyclohexanone and CHnol were accumulated to various extents. Furthermore, cyclohexanone was converted to CHnol which was further metabolized to other compounds in the cecal contents.

3. *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. and *Bacillus* sp. were isolated from the cecal contents, and possessed the abilities to deaminate CHA or desulfate cyclamate anaerobically.

These activities were maintained on subculturing and in the dried cells.

* Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture

70 **Oxidative Deamination of Cyclohexylamine and its Homologs by Rabbit Liver Microsomes**

Hideo KUREBAYASHI, Akira TANAKA and Tsutomu YAMAHA: *Biochem. Pharmacol.*, 28, 1719 (1979)

Cyclohexylamine (CHA) and its homologs, cyclopentylamine (CPA) and cycloheptylamine (CHPA), which formed the type II spectral changes in hepatic microsomes, were deaminated to the corresponding ketones by rabbit liver microsomes in the presence of NADPH and molecular oxygen. The alicyclic ketones were then reduced to the alcohols, of which average percentages in the deaminated products were approximately 75 (CHA), 3 (CPA) and 14 (CHPA). The apparent K_m 's for these amines were 5.0 mM (CHA), 4.2 mM (CPA) and 2.1 mM (CHPA), and V_{max} 's were 11.0 (CHA), 42.1 (CPA) and 16.4 (CHPA) nmoles/mg protein/30 min. The activity of deamination of these alicyclic primary amines was dependent on both NADPH and oxygen, and inhibited by carbon monoxide, SKF 525A, metyrapone, potassium cyanide and mercuric chloride. These experiments indicate that the deamination of the alicyclic primary amines is catalyzed by a microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase system in the rabbit liver. Cyclohexanone oxime and other oximes were also identified from the incubation mixtures, and these oximes are suggested as possible intermediates of microsomal deamination of alicyclic primary amines.

71 **オクタデシル硫酸ナトリウムのラットによる代謝**

尾立 透, 田中 彰, 山羽 力: 食衛誌, 20, 120 (1979)

高級アルコール硫酸エステル系界面活性剤の一つである ^{35}S -オクタデシル硫酸ナトリウム (^{35}S - C_{18}AS) をラットに経口投与し, 吸収・排せつ・体内分布ならびに尿中代謝物を検討した。投与した ^{35}S - C_{18}AS は 24

時間以内に尿中には約 93%, 糞中には僅か 2% 程度が排せつされた。また臓器内への放射能の取り込みは少なく, 特に親和性のある臓器は認められなかった。投与した ^{35}S - C_{18}AS は体内で代謝され, 大部分が硫酸 4-硫酸エステル (BA4-S) として尿中に排せつされた。尿中の主代謝物は TLC, GLC, GC-MS および逆同位体希釈分析から BA4-S と同定した。

72 **ラットにおける制限食に関する研究 I) 成長, 死亡率および生化学的变化について**

関田清司, 鈴木幸子, 川崎 靖, 松本清司, 小林和雄: 東獣学誌, 26, 43 (1978)

2 社の市販飼育用飼料について, 自由摂取群と 15 g/animal/day 摂取群を作り, ラットの 24 ケ月間の飼育実験を行い次の知見を得た。

- 1) 2 社の飼料とも自由摂取群で体重, 死亡率および血清中の脂質量が高値を示した。
- 2) ラットの寿命は成長期 (生後 3~6 ケ月令) の摂取量によって大きく左右される。
- 3) 2 社の飼料間による差は明らかでなかった。

73 **Virilizing Effect of Testosterone and Its Metabolites on the Urovaginal Septum of Female Fetal Rats**

Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO, Satoru TANAKA, Tsukasa KUWAMURA and Yoshihito OMORI: *Endocrinol. Japan*, 25, 309 (1978)

A single injection of 50 μg testosterone was given to fetal rats on day 17, 18, 19 or 20 of gestation. On day 21, the fetuses were removed from the mother under maternal ether anesthesia, and the length of the urovaginal septum was measured microscopically in female fetuses in order to assess the virilizing effect of testosterone.

In fetuses treated with testosterone on day 17, the length of the urovaginal septum was comparable to that of oil-treated littermate controls. In fetuses treated on day 18, the length was significantly abridged compared with controls. In fetuses treated on day 19, the abridgment of the urovaginal septum was most marked. In fetuses treated on day 20, the length of the septum was again comparable to that of controls. The observations suggest that day 19 is the critical day for the virilizing effect of testosterone.

Various amounts of testosterone and its metabolites including dihydrotestosterone, androstane-3 β , 17 β -diol and androstane-3 α , 17 β -diol were injected into 19-day-old female fetuses, in order to test the dose relation to the virilizing effects of these steroids in terms of abridgment of the urovaginal septum. As a consequence, it was found that testosterone was the most effective for virilization.

74 ニトロソ化合物と発癌—最近の知見—

小田嶋成和：日本臨床，36，1119（1977）

N-ニトロソ化合物に関する発癌研究が開始されてから，約20年の歳月が流れた。この間に，研究の流れは，研究室内で合成された各種N-ニトロソ化合物から，徐々に生活環境に存在するそれ等を対象とする仕事へと移行し，人癌発生原因物質としてN-ニトロソ化合物に集約されつつあるように見える。

今回生活環境中に存在するN-ニトロソ化合物の検法，N-ニトロソ化合物の生体内生成，アミノピリンのN-ニトロソ化の諸問題等について述べた。

75 消化器系で生成され得るものについて—N-ニトロソ化合物の癌原性と消化管内における生成—

小田嶋成和：癌と化学療法，5，113（1979）

亜硝酸根と各種アミン，アミド類の反応で生ずる各種のN-ニトロソ化合物は，実験動物に強い癌原性を有する。それ等のある物は，呼吸，飲食物，その他日常生活用品を通じて体内に導入され，胃腔内でも反応してN-ニトロソ化合物を生じ，血中に移行する。その実体を熟知し，且つそれ等の摂取量を減らすよう努力することが必要である。今回生活環境中に存する各種ニトロソアミン，食品に含まれる硝酸根，胃腔内におけるニトロソアミンの生成，亜硝酸と各種アミン類の同時投与による発癌実験，今後の問題等について述べた。

76 動物における癌原性検索法

小田嶋成和：蛋白質核酸酵素，23，(6)，737（1978）

近年，生活関連物質に内在する生物学的活性の中で，癌原性の有無を検索することが，最大関心事の一つとなってきた。それとともにテストと行い得る研究者，研究材料，研究設備，あるいはその結果としての評価が及ぼす社会的影響が問題となってきた。又国際的に容認される検索手段の確立が必要となってきた。

る。今回，米国国立癌研究所が編集した Guidelines for Carcinogen Bioassay in Small Rodents (February 1976) を参考に動物実験の意義，発癌試験法，飼育管理，それ等実験の評価の問題点等を述べた。

77 Hematological and Histopathological Characteristics of Leukemias Induced by 1-Alkyl-1-nitrosoureas in Donryu Rats

Toshiaki OGIU: *Gann*, 69, 781 (1978)

Various types of leukemias were induced by 1-methyl-, 1-ethyl-, 1-propyl-, and 1-butyl-1-nitrosoureas in 242 Donryu rats; 23 myeloblastic, 74 myelocytic, 90 erythro, 27 lymphoblastic, and 28 aleukemic or unclassified leukemias. Hematological and histopathological characteristics of leukemias were examined. Characteristics findings were observed in each type of leukemia.

78 Growth of Intraperitoneally Transplanted Ascites Hepatoma, AH-39 Cells, in the area of Gelatin Sponge Inoculation into the Abdominal Wall of Donryu Rats

Toshiaki OGIU and Kyuya NAKAMURA*: *Gann*, 70, 173 (1979)

A piece of gelatin sponge was inoculated in the abdominal wall of female Donryu rats and AH-39 cells were intraperitoneally transplanted 1-21 days later. Tumor cells were detected at the area of gelatin sponge inoculation 2-5 days after tumor transplantation. Tumor detection was preceded by inflammatory reaction.

* 福島県立医大・第2病理

79 遺伝変異原性を主とする発癌物質スクリーニングの技術開発；微生物による癌原物質のスクリーニング

吉川邦衛：昭和53年度厚生省がん報告報告集(下)，(1978)

サルモネラ菌 TA100, TA98 および TA1537 株を用い，23 検体 (JMS 78) について，それらの突然変異原性を検索した。その結果，S9 mix 無添加の条件下において，Malathion は TA100 株に変異原性を誘発した (400~500 His⁺ colonies/plate)。

80 遺伝変異原性を主とする発癌物質スクリーニングの技術開発; 培養細胞の染色体異常を指標とする癌原物質のスクリーニング

石館 基: 昭和53年度厚生省がん研究報告集(下), (1978)

チヤイニーズ・ハムスター肺由来の線維芽細胞(CHL)を用い、計23検体(JMS78)について染色体異常誘発性の有無を検索した。培養3日目の細胞に各濃度の検体を加え、24および48時間目に染色体標本を作製し、倍数体細胞および、構造的染色体異常を持つ細胞の出現頻度を記録した。また、肝ミクロソーム(S-9)を併用する検索も加えた。23検体中、15の化合物が陽性であったが、特に、Triamterene, Captafol, Curcumin, Levodopa, Malathion などでは比較的低濃度で出現した。また、Chlorpyrifol, Eulan U-33はS-9を加えることによってはじめて陽性となった。

81 染色体異常による変異原の検出法

石館 基: 変異原と毒性, 4, 64 (1978)

種々化学物質の哺乳動物細胞に及ぼす細胞効果は大別して一般毒性的効果と特殊毒性効果に分けて考えられる。前者では、検体の濃度を増すことによって致死的に働くが、染色体の異常を誘発しない。後者では、致死的に作用する前に染色体異常を誘発し、その結果、細胞は分裂に異常をきたして死滅する。特に発癌性物質の多くのものは、後者の作用を示す。また、微生物に対して突然変異を誘発する性質をもった殆どすべてのものは、同時に染色体異常を誘発する。しかしながら、逆に染色体異常を誘発するものはすべての微生物に対し突然変異を誘発するとは限らない。Urethane, Diethylstilbestrol, Barbitol, Ethionamideなどは発癌性が知られているが微生物による試験では陰性であっても染色体試験では陽性となる。したがって、発癌性物質のスクリーニングのためには、いくつかの手法による結果から総合的に判定する必要があるように思われる。

82 Chromosomal Aberration Tests on 29 Chemicals Combined with S9 mix *in vitro*
Atsuko MATSUOKA, Makoto HAYASHI and Motoi ISHIDATE Jr.: *Mutation Res.*, 66, 277 (1979)

A metabolic activation system with rat-liver microsome fraction plus cofactors (S9 mix) was applied to chromosomal aberration tests *in vitro*

for the screening of chemical mutagens or carcinogens in the environment.

Dialkylnitrosamines only induced chromosomal aberrations in Chinese hamster cells (CHL) when treated with S9 mix. The incidence of chromosomal aberrations in CHL varied with experimental conditions, e.g. incubation time, recovery time, components of S9 mix and inducers used for preparation of S9. For dimethylnitrosamine (DMN), the maximal incidence was obtained when the cells were incubated with S9 mix for 3 h and harvested 24 h after treatment. Therefore, this system (3 h incubation and 24 h recovery) was routinely applied to further screening of other chemicals with S9 prepared from PCB-pretreated rats. 10 carcinogens (e.g. 7,12-dimethylbenzo[α]anthracene, benzo[α]pyrene, quinoline, etc.) out of 16 induced aberrations when they were treated with S9 mix, whereas the remaining 6 carcinogens (e.g., 3-methylcholanthrene, 4-*o*-tolylazo-*o*-toluidine, etc.) induced few or no aberrations even after activation. Two insecticides, allethrin and diazinon, were strongly positive at relatively low doses only when they were activated with the S9 mix. Medical drugs, such as ethenzamide, methyl *p*-hydroxybenzoate and nitrofurazone, and a food additive, sodium hypochlorite, were positive on activation. Chemicals used for industry, such as styrene monomer and tris-dichloropropylphosphate, were also positive in our activation system.

83 Colchicine-like Effect of Diethylstilbestrol (DES) on Mammalian Cells *in vitro*

Minoru SAWADA and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, 57, 175 (1978)

Diethylstilbestrol (DES), a synthetic estrogen, showed colchicine-like effects *in vitro* on cells of the cell lines such as Chinese hamster fibroblast of thymus origin (CHT), rat liver (DL), rat erythroblastic leukemia (EDEN-1/TC) and HeLa-S3. Meta-phase arrest was induced 3 h after treatment with 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DES and polyploid or polynucleated cells were prominently observed more than 24 h after treatment. The arrest, however, was reversible when the agent was removed from the medium. Tetraploid karyotypes induced by DES in

CHT cells consisted of all double sets of diploid chromosome constitution except one chromosome marker.

By clonal selection, several hypotetraploid sublines were successfully isolated from a CHT cell population after the treatment with 15 µg/ml of DES for 48 h. Some comparative studies of cytological effects of DES with those induced by colcemid indicated that the DES effect was also a mitotic inhibition similar to colchicine. (This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Cancer Research from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.)

84 Differential Mutagenicity of N-Methyl-N-nitrosocarbamate Insecticides in *Escherichia coli* Strains Having Different DNA Repair Capacities

Kunie YOSHIKAWA, Harumi UCHINO and Hiroshi KURATA: *Mutation Res.*, 54, 283 (1978)

Four isogenic strains of *Escherichia coli* with the same auxotrophic marker (*arg F_{am}*—namely *wild-type*, *uvrA⁻*, *polA⁻* and *recA⁻*) were used for testing the lethalities and mutagenicities of 1-naphtyl-N-methyl-N-nitrosocarbamate (nitroso-NAC), 3-methylphenyl-N-methyl-N-nitrosocarbamate (nitroso-MTMC), and 3,4-dimethylphenyl-N-methyl-N-nitrosocarbamate (nitroso-MPMC). The strains *recA⁻* and *polA⁻* showed a similarly higher sensitivity to killing than *wild-type* and *uvrA⁻* after treatments with each of the three chemicals, whereas the strains *wild-type*, *uvrA⁻* and *polA⁻* were equally mutable by these compounds at equal doses.

The strain *recA⁻* was hardly mutable by nitroso-NAC, but significant levels of Arg⁺ mutations were observed after treatments with nitroso-MTMC and nitroso-MPMC. These and previous results suggest that both nitroso-MTMC and nitroso-MPMC are similar in their mutagenicity pattern to N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine whereas nitroso-NAC is similar to methyl methanesulfonate or X-rays, and that the major damage to DNA of the three agents is not excisable by the *uvrA⁺*-dependent excision repair, probably methylation

in DNA.

85 Studies on Metabolism and Toxicity of Styrene. I. Biotransformation of Styrene to Styrene Glycol via Styrene Oxide by Rat Liver Microsomes

Tadashi WATABE*, Masakazu ISOBE*, Kunie YOSHIKAWA and Eigo TAKABATAKE**: *J. Pharm. Dyn.*, 1, 98 (1978)

Biotransformation of styrene (ethenylbenzene) into styrene glycol (1-phenyl-1,2-ethanediol) via styrene oxide (phenyloxirane), a mutagen and skin carcinogen, by rat liver microsomes in the presence of an NADPH-generating system has been investigated. Both metabolites were identified by gas chromatography-mass spectroscopy. In the microsomal system, styrene oxide appeared only after a brief incubation and disappeared thereafter in spite of the continued formation of styrene glycol. This phenomenon was rationally interpreted on the basis of previously obtained evidence that during aerobic incubations, NADPH-dependent microsomal lipid peroxidation decreased P 450 activities selectively to a remarkable extent compared with epoxide hydratase activities. Addition of 3,3,3-trichloropropene oxide, a potent epoxide hydratase inhibitor, to the incubation medium prolonged the biological half-life of styrene oxide significantly, indicating one of major factors determining the biological level of the mutagen to be the relative ratio of these enzyme activities.

* 東京薬科大学

** 国立公衆衛生院

86 Studies on Metabolism and Toxicity of Styrene. II. Mutagenesis in *Salmonella typhimurium* by Metabolic Activation of Styrene with 3-Methylcholanthrene

Tadashi WATABE*, Masakazu ISOBE*, Kunie YOSHIKAWA and Eigo TAKABATAKE**: *J. Pharm. Dyn.*, 1, 301 (1978)

Styrene showed a weak mutagenic activity towards *Salmonella typhimurium* TA 100 after being activated by the hepatic 9000g supernatant fraction (S9) obtained from rats pretreated with 3-methylcholanthrene or phenobarbital and fortified

with an NADPH-generating system, in the presence of the epoxide hydratase inhibitor, 3,3,3-trichloropropene oxide (TCPO). The 3-methylcholanthrene-pretreated rat liver S9 activated styrene more effectively than the phenobarbital treated one. No mutagenic activity was observed when either TCPO or S9 was omitted. As has already been pointed out, phenyloxirane, an intermediate in the major metabolic pathway of styrene by hepatic microsomes, induced mutations in TA 100 and TA 1535 cells in the absence of both S9 and TCPO. Analytical data of phenyloxirane and its hydrolytic product, 1-phenyl 1,2-ethanediol, formed in the mutation assay system for styrene indicated that the inducers used for hepatic drug-metabolizing enzymes enhanced both microsomal monooxygenase and epoxide hydratase activities. Relative ratios of the enhanced monooxygenase to hydratase activities were twice as high in 3-methylcholanthrene as the control and 1.8 and 1.2 times in phenobarbital and PCB, respectively, although the last enhanced both activities to the highest extent. Phenyloxirane was accumulated in the presence of TCPO in the styrene-activating system most significantly when 3-methylcholanthrene-pretreated rat liver S9 was used. However, the mutagenicity exerted by the metabolic activation of styrene could not necessarily be explained only by phenyloxirane since sums of both metabolites were smaller than the amount of the epoxide required for inducing the mutation in *Salmonella* and suggested a possibility of the presence of at least one more unknown mutagenic metabolite with an epoxide structure.

* 東京薬科大学

** 国立公衆衛生院

87 Metabolism and Mutagenicity of Styrene

Tadashi WATABE*, Masakazu ISOBE*,
Tadashi SAWABATA*, Kunie YOSHIKAWA,
Shingo YAMADA** and Eigo TAKABATAKE**:
Scand. J. Work Environ. & Health., 4, (1978):
suppl. 2, 142

Distilled styrene showed mutagenic activity towards *Salmonella typhimurium* TA 100 after activation with hepatic 9,000×g supernatant fractions

(S-9). The S-9 fractions had been obtained from rats treated with 3-methylcholanthrene or phenobarbital and fortified with an NADPH-generating system in the presence of 3,3,3-trichloropropene oxide (TCPO), an hepatic microsomal epoxide hydratase inhibitor. No mutagenic activity was observed when either the TCPO was omitted or rats were treated with a polychlorinated biphenyl mixture (PCBs). The S-9 fraction from 3-methylcholanthrene-treated rats activated styrene more effectively than the liver homogenate from phenobarbital-treated animals. As has already been pointed out, phenyloxirane, an intermediate in the hepatic microsomal biotransformation of styrene, induced the mutagenesis of TA 100 cells in the absence of S-9 and TCPO, but the mutagenesis was totally abolished by the addition of S-9. A further addition of TCPO partially restored the mutagenetic activity of phenyloxirane. Gas chromatographic data on phenyloxirane and 1-phenyl-1,2-ethanediol in the testing system for styrene indicated that phenyloxirane could not account for the mutagenesis induced by the hepatic activation of styrene since sums of phenyloxirane and its hydrolytic product, 1-phenyl-1,2-ethanediol (formed from styrene during incubation with S-9 in the presence and absence of TCPO) were much smaller than the amount which induced mutagenesis; they also showed that PCBs were the most potent inducers for hepatic monooxygenase, which catalyzes the conversion of styrene to phenyloxirane. PCBs induced hepatic monooxygenase approximately 1.4 times as effectively as 3-methylcholanthrene, in spite of its inability to increase the hepatic activation system for the mutagenicity of styrene. There is therefore a possibility that at least one more unknown active metabolite with an epoxide structure is present. The arene oxide 1-vinylbenzene 3,4-oxide, which was synthesized in our laboratory and was assumed to be a precursor to 4-vinylphenol (a previously isolated urinary metabolite of styrene), had a potent killing effect but no mutagenic activity towards TA 100 cells. A search for the ultimate mutagen is now in progress in our laboratory. ¹⁴C-styrene bound covalently to microsomal protein of rat liver when

incubated in the presence of an NADPH-generating system. The absence of the cofactor decreased the binding remarkably. The NADPH-dependent protein-binding was increased by TCPO *in vitro* and by the phenobarbital pretreatment of rats *in vivo*. Pretreatment of rats with carbon tetrachloride decreased the amount of radioactivity bound to hepatic microsomal protein.

* 東京薬科大学

** 国立公衆衛生院

88 フェノチアジン誘導体のジパルミトイルレシチン単分子膜への侵入

岡田敏史, 持田研秀, 中垣正幸*: 薬誌, 99, 393 (1979)

リン酸緩衝液中に溶解した一連のフェノチアジン誘導体 (PTZ) のジパルミトイルレシチン (DPL) 単分子膜に対する侵入性について表面圧-面積関係の測定により研究を行った。一定薬物濃度 (10^{-5} M), 一定分子占有面積 ($75 \text{ \AA}^2/\text{molec}$) の下での DPL 単分子膜中への PTZ の侵入によって得られる表面圧増分 (ΔF) は各 PTZ 化合物の親水性-親油性バランスおよび液体膨脹膜状態にある DPL 分子に対する親和性の差異を表わす物理化学的パラメーターと見なすことができる。

二, 三の物理化学的パラメーターおよび薬理学的活性と ΔF との関係につき, ΔF がこれらの向精神薬の薬理学的活性・臨床的效果と関係づけられる新たな物理化学的指標となり得るかという観点より検討した。 ΔF は n-オクタノール/水間の分配係数と相関するだけでなく, 気-水界面での表面活性, 蛋白結合性とも相関することがわかった。さらに, ΔF と薬理学的活性との相関も認められた。その結果, 油/水分配係数と同様に ΔF は一連の PTZ 化合物の薬物活性上の差異を定量的に表現し得る有用なパラメーターとなり得ることがわかった。

* 京都大学薬学部

89 塩酸フェノチアジン誘導体の水溶液中における酸-塩基平衡

岡田敏史, 中垣正幸*: 薬誌, 98, 1311 (1978)

6 種の塩酸フェノチアジン (PTZ・HCl) 水溶液の pH の濃度依存性を 25° において測定した。臨界ミセル濃度 (cmc) 以下では pH は濃度の増加につれゆるやかに減少する。cmc のすぐ上の濃度領域で pH は

急激に減少し, 引き続いてゆっくりとした減少にかわる。

cmc 以下での pH は主として PTZ・HCl モノマーの加水分解によるが, 溶存炭酸ガスの影響を若干受ける。一方, cmc 以上ではモノマーだけでなく会合状態にある PTZ・HCl も加水分解を受け, 後者は前者にくらべ大きな加水分解定数をもつ。したがって, cmc により区分される 2 種の酸共存系を考え, これらの系におけるプロトン平衡式が導かれた。これから cmc 以下でのモノマー/炭酸ガス共存系と cmc 以上でのモノマー/ミセル共存系について pH の濃度依存性が計算された。実測 pH の濃度依存性は cmc 以下と以上の二つの領域ではほぼ計算値に一致する結果を得た。

さらに, モノマー状態と会合状態の PTZH^+ の pKa の差 (ΔpKa) を求め, これをミセル形成の静電的仕事, ミセル表面電位と関連づけて考察した。

* 京都大学薬学部

90 フェノチアジン・二塩酸塩水溶液の導電率

岡田敏史, 中垣正幸*: 薬誌, 99, 677 (1979)

フルフェナジン (FPZ)・2HCl とベルフェナジン (PPZ)・2HCl の二種のフェノチアジン (PTZ) 二塩酸塩およびヒドロキシジン (HXZ)・2HCl 水溶液の種々の温度における導電率測定から PTZH_2^{++} イオンの会合体形成の有無を明らかにしようとした。

$\lambda - (I)^{1/2}$ プロットは計算値からの正のズレを示し, それらの塩 ($\text{B} \cdot 2\text{HCl}$) 溶液の pH の濃度依存性から, このズレは BH_2^{++} の酸解離の結果であることを明らかにした。この酸の第一酸解離定数 (pKa) を定めてある塩濃度における各イオン種濃度を決定した。さらに BH^+ , BH_2^{++} イオンの極限当量導電率を Stokes 則, Walden 則より推定した。この結果, この塩水溶液は 3 種の強電解質 ($\text{B} \cdot 2\text{HCl}$, $\text{B} \cdot \text{HCl}$, HCl) より成ると見なされ, この溶液の全比導電率 (κ) が推定された。種々の温度における FPZ・2HCl 水溶液の κ の濃度依存性の実測値と計算値はよく一致した。

pH-濃度曲線の折点より FPZ・2HCl, PPZ・2HCl のみかけの臨界ミセル濃度 (cmc') を求めた。各会合体はモノプロトン化 PTZ (PTZH^+) のみから構成されるものと考え, 各 PTZH^+ の cmc が推定された。これらの推定値はクロルプロマジン, トリフルプロマジンの cmc と比較して妥当なものであると結論された。

* 京都大学薬学部

91 Studies on the Pharmaceutical Quality Evaluation of Crude Drug Preparations used in Orient Medicine "Kampoo". II. Precipitation Reaction of Berberine and Glycyrrhizin in Aqueous Solution

Mamoru NOGUCHI: *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 2624 (1978)

Precipitation reaction was found to occur when each 5×10^{-4} M aqueous solution of berberine (I) and glycyrrhizine (II) were blended. The molar ratio of I and II in the precipitate (III) was revealed to be 2:1 by observation of UV absorption at 251 and 350 nm. By comparison of the IR absorption near at 1715 and 1620 cm^{-1} of II, III, soyasaponin III and glycyrrhetinic acid after treated at various pH, it was revealed that the quarternary base moiety of I bound on the glucouronic acid moieties of II ionically in compound III. The solubility of III in aqueous solution was 0.09% at pH 3.5, while it increased up to 1.9% at pH 6.8. The solubility of III was slightly decreased by addition of II in aqueous solution.

92 Studies on the Pharmaceutical Quality Evaluation of Crude Drug Preparations used in Orient Medicine "Kampoo". III. Precipitation Reaction of Glycyrrhizin with Alkaloids or Alkaloidal Crude Drugs in Aqueous Solution

Mamoru NOGUCHI *et al.*: *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 3652 (1978)

Precipitation reaction of glycyrrhizin (I) with 32 kinds of alkaloids including synthetic bases and 10 kinds of crude drugs which contain various types of alkaloids in aqueous solution was investigated and following results were obtained. 1) Tertiary alkaloids which had heterocyclic aromatic rings or nitrogen atoms neighbouring to aromatic ring or conjugated olefine systems in the structure, namely, papaverine, noscapine, emetine, *O*-methyl domesticine, domesticine, nornuciferine, *dl*-tetrahydroberberine, *l*-corydaline, quinine, reserpine and sinoactine gave precipitate, while other types of alkaloids, namely, *l*-ephedrine, *N*-methylephedrine, *l*-phenylalaninol, atropine, *l*-scopolamine, cocaine, morphine, ethylmorphine, codein, hydrocodeine,

thebaine, sinomenine, aconitine, physostigmine, caffeine, pethidine did not. 2) Tertiary alkaloids which had pK_a values smaller than 7.5 were likely to precipitate with I, while those which had pK_a values larger than 7.5 did not. 3) Among quaternary alkaloids, berberine and coptisine produced precipitate, while menispermine, *N*-methyl scopolamine and neostigmine did not. 4) Among crude drugs which contained various alkaloids, coptis rhizome, corydalis roots, phellodendron cortex and evodia fruits gave precipitate with I in aqueous solution, while aconite roots, areca seeds, ephedra herb, magnolia cortex, nupharis rhizome and sinomenium roots did not.

93 グリチルリチン及び甘草の副作用について

野口衛ら: 漢方研究, 1978, 242

甘草は、古来漢方で鎮痙解毒の目的で広く用いられ、また食品の甘味付け、コク付けなどを目的としても、大量に使用されている。

しかし、近年になり、これらにステロイドホルモン様の強い副作用があることが明らかにされ、各国で使用規制が行われるようになってきた。

そこで、これらの物質の副作用の臨床成績を解析し、漢方あるいは食品分野での使用実態についての調査結果をもとに、問題点を考察した。

94 Gas-Liquid Chromatographic Determination of Nitrate and Nitrite in Cheese, Ham, Fish Sausage, Cod Roes and Salmon Roes
Masatake TOYODA, Hideyo SUZUKI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 508 (1978)

The 2,4-xyleneol method was modified and a gas-liquid chromatographic (GLC) method was developed for nitrate and nitrite determination in several foods. Either a flame ionization (FID) or an electron capture detector (ECD) can be used. Proteins and fats are removed from warm alkaline water with zinc sulfate and filtered. The filtrate is evaporated to dryness, redissolved in water, and reacted with 2,4-xyleneol in the presence of sulfuric acid to form 6-nitro-2,4-xyleneol. Interfering chlorides are precipitated with silver sulfate and the nitro-xyleneol is extracted with hexane, concentrated, and injected. Nitrite in the filtrate

is distilled at pH 5, collected in alkaline solution, and dried. The residue is oxidized to nitrate with permanganate in the presence of sulfuric acid, and then chromatographed in the same manner as nitrate. Recoveries from several foods were 83—100%, for nitrate, and 80—100% for nitrite. The limit of sensitivity was 0.1 ppm for both residues.

95 カンショ白糖製造工程において使用する二酸化炭素の実態調査

慶田雅洋, 中村恵三, 鈴木英世, 豊田正武, 外海泰秀, 伊藤登志男, 金田吉男*: 食衛誌, 19, 401 (1979)

重油を燃料に使用してカンショ白糖を製造する4工場につき, 糖液の精製に使用する炭酸飽和ガス(煙道)ガスの組成の実態調査を行った。

ガスサンプルには二酸化炭素が8~12%, 酸素が3~9%含まれていたが, 一酸化炭素は1工場より7.1 ppm検出しただけであった。

食添規格“二酸化炭素”の遊離および還元性物質による試験結果は合格であった。

蒸留水に通気して調製した液状サンプルからは, 二酸化イオウを検出せず, 硫酸態の三酸化イオウも2.9 ppm以下であった。

ガラス繊維濾紙に捕集したダストサンプルは, 多核香芳族炭化水素が3,4-ベンゾピレンとして0.6~2.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 検出され, ヒ素, カドミウム, 鉛および水銀は検出されなかった。

カンショ白糖工場の炭酸飽和ガスは, 二酸化炭素含量は低い, 有害性物質をほとんど含まず, 衛生化学的に優れた品質のものであると結論することができる。

* 兵庫県衛生研究所

96 Gas-Liquid Chromatographic Determination of Carbon Disulfide in Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*)

Masatake TOYODA, Hideo SUZUKI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *J. Food Sci.*, 43, 1290 (1978)

A simple, rapid chromatographic procedure for the determination of carbon disulfide in *Shiitake* mushrooms was developed. The method involves homogenization of dried mushroom, followed by distillation of the homogenate in the presence of acetone. Carbon disulfide in acetone is determined

by GLC with a flame photometric detecting system. The carbon disulfide content in dried mushroom was affected considerably by the pH of homogenization and distillation; 0.02—3.4 ppm of carbon disulfide in dried mushrooms under acidic condition increased to 0.98—72.5 ppm under neutral conditions. The increased carbon disulfide under neutral conditions purports to be derived from a mushroom component. Therefore, residual carbon disulfide in dried *Shiitake* mushrooms must be determined under acidic condition of homogenization and distillation. The lower detection limit was 0.025 ppm.

97 Gas-Liquid Chromatographic Determination of Lenthionine in Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) with Special Reference to the Relation between Carbon Disulfide and Lenthionine

Yoshio ITO, Masatake TOYODA, Hideyo SUZUKI and Masahiro IWAIDA: *J. Food Sci.*, 1287 (1978)

A simple gas chromatographic procedure for the determination of lenthionine, a flavor compound in *shiitake* mushroom, was developed. The method involves the extraction of lenthionine with n-hexane from the soaked mushrooms and soak solution and subsequent determination by flame photometric detector gas chromatography. Lenthionine was formed by soaking dried mushroom in water and warming at neutral or alkaline pH, but a little amount of lenthionine was produced at acidic pH. The relation coefficient between the formation of lenthionine and the evolution of carbon disulfide in 20 samples was 0.507. It is assumed that lenthionine is formed by immersing the dried mushroom in water and gradually decomposes to carbon disulfide.

98 Dosage de l'acide sorbique dans les fromages par chromatographie en phas gazeuse

Yoshio ITO, Masatake TOYODA, Hideyo SUZUKI and Masahiro IWAIDA: *XX Congr. Intern. Laitier*, 1F, 386 (1978), Paris

Nous nous trouvons dans la nécessité d'établir une méthode très sensible d'analyse de l'acide

sorbique dans les fromages importés. Pour l'extraction de l'acide sorbique du fromage, la séparation liquide-liquide est adoptée pour l'analyse officielle. La prévention de la formation d'émulsion est importante dans l'extraction par les solvants organiques. Au Japon, le dosage de l'acide sorbique dans les aliments est généralement effectué par colorimétrie, absorption dans l'ultraviolet ou chromatographie en phase gazeuse. La chromatographie en phase gazeuse est la plus appropriée puisqu'elle n'est presque pas affectée par des substances interférentes présentes dans les fromages.

99 Dosages des nitrates et nitrites dans les fromages par chromatographie en phase gazeuse

Masatake TOYODA, Hideyo SUZUKI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA : *XX Congr. Intern. Laitier*, 1F, 393 (1978), Paris

On porte un intérêt de plus en plus grand aux nitrates et nitrites dans les fromages à cause de la formation des nitrosamines. Une méthode par réduction sur colonne de cadmium va être adoptée comme une méthode de référence FIL pour le dosage des nitrates et nitrites dans les fromages. Les nitrates sont dosés en Europe par colorimétrie du distillat obtenu par distillation de m-xylénol nitré. La méthode par réduction est compliquée et peu appropriée à l'analyse de routine, tandis que la méthode basée sur une nitrification souffre d'un manque de sensibilité et de reproductibilité. On a apporté de nombreuses améliorations à la méthode de Hänni et nous proposons ici une méthode d'analyse de nitrates et nitrites dans les fromages par chromatographie en phase gazeuse basée sur l'extraction du produit de réaction entre nitrates et m-xylénol.

L'essai avait démontré que dans l'intervalle de 25—250 ng de NO_3 ou de 5—50 de NO_2 , il y a une complète linéarité entre la réponse d'un détecteur à ionisation de flamme ou à capture d'électrons et la concentration en nitrate injecté. La limite de sensibilité est 0.1 ppm avec détecteur à ionisation de flamme. Les pourcentages de récupération de nitrate et nitrite ajoutés dans fromage Samsoe à raison de 2, 10, 50 ou 100 ppm NO_3 ou NO_2 étaient

93.8, 99.7, 96.5, 97.7 pour le nitrate, et 80.6, 86.2, 98.3 et 98.9 pour le nitrite.

100 Système d'inspection des aliments importés au Japon

Masahiro IWAIDA : *XX Congr. Intern. Laitier*, 1F, 1077 (1978), Paris

Une fois les aliments importés entrés sur le territoire japonais, le Règlement sur la Salubrité des Denrées Alimentaires leur est appliqué de la même manière qu'aux produits nationaux. Un importateur doit se mettre en rapport avec le Ministère de la Santé Publique chaque fois qu'il désire importer selon des dispositions stipulées dans l'arrêté ministériel. Des inspecteurs de la salubrité résidant dans 15 ports et aéroports d'Hokkaido jusqu'à Okinawa reçoivent le rapport, ensuite certains articles sont autorisés à entrer immédiatement lorsque l'inspecteur juge qu'il n'est pas nécessaire de les soumettre à l'analyse chimique ou microbiologique. Quand il l'estime nécessaire, l'inspecteur peut collecter des échantillons en vue d'analyses effectuées à titre gratuit. Les brèves inspections sont exécutées dans le laboratoire du port, par contre les examens plus complets sont exécutés à l'institut National de la Recherche Hygénique (INRH à Tokio et Osaka). Le visa de l'état sera délivré si l'échantillon satisfait à l'examen, sinon les denrées refusées seront retournées au pays exportateur, détruites, retraitées ou acceptées à l'importation sous certaines conditions (à utiliser à des fins autres que la consommation, etc....).

101 Réglementation japonaise des additifs alimentaires utilisables pour les produits laitiers

Masahiro IWAIDA : *XX Congr. Intern. Laitier*, 1F, 1078 (1978), Paris

Au Japon, avec la promulgation de la nouvelle Constitution après la guerre la Loi sur la salubrité des denrées alimentaires a été établie comme loi générale relative à la salubrité des denrées alimentaires, et "l'Arrêté ministériel relatif aux normes de composition etc. pour le lait et produits laitiers" était publié. En 1955, beaucoup d'enfants ont été intoxiqués par du lait en poudre contenant

une grande quantité d'arsenic provenant de phosphate de sodium dibasique utilisé comme additif alimentaire. Cette intoxication avait mis en évidence un défaut de la Loir sur la salubrité des denrées alimentaires qui a conduit à son amendement. En 1959, "La Notification relative aux normes et spécifications des denrées alimentaires et additifs alimentaires etc." était publiée.

102 市販食酢数種の化学組成について

金森孝子, 小松由貴子*, 外海泰秀, 中村恵三, 金田吉男, 慶田雅洋: 栄養と食糧, 31, 513 (1978)

大阪府, 愛知県および鹿児島県産の「醸造酢」と表示したものを試料とした。なお, 鹿児島産のものは酢がめ製法によるものである。

大阪産米酢は, 対応する酒精酢よりもエキス分がかなり高く, 鹿児島産酢では低かった。総酸含量は, 愛知産酢が 5% を示したほかはいずれも酢酸として 4.2~4.55% であり, 総酸中不揮発酸が 35% 以上のものが 2 件あった。灰分は 0.07~1% で, 高灰分の製品はその中に含まれる食塩の比率が高かった。金属組成で特に多いのはナトリウムで, 非食塩態ナトリウムも 450~1,600 ppm 検出された。大阪産の米酢では, 対応する酒精酢の 7 倍以上の還元性単糖類 (グルコースおよびフルクトース) を検出した。両者の組成比はほぼ等量であり, GC とソモギイ性による結果はよく一致した。鹿児島産酢では糖を検出しなかった。窒素化合物は鹿児島産酢中に 550~700 ppm 検出され, 窒素の大部分は非たん白態であった。

* 神戸女子薬科大学

103 Biochemical Decomposition of Coal-Tar Dyes I. Biochemical Decomposition and Identification of Decomposed Products

Yasuhide TONOGAI, Masahiro IWAIDA, Masatomo TATI^{*1}, Youki OSE^{*2} and Takahiko SAITO^{*2}: *J. Toxicol. Sci.*, 3, 193 (1978)

Biochemical degradation test of food coal-tar dyes using sludge was studied in order to evaluate their safety.

It was found that some dyes were little decomposed under aerobic condition but four azo dyes were readily decomposed under anaerobic condition. These were Food Yellow No. 4, No. 5,

and Food Red No. 2, No. 102.

Decomposed products of these four azo dyes by sludge under anaerobic condition were identified as sulfonilic, naphthionic acids and so on.

^{*1} Gifu University, School of Medicine

^{*2} Gifu College of Pharmacy

104 Biochemical Decomposition of Coal-Tar Dyes II. Acute Toxicity of Coal-Tar Dyes and Their Decomposed Products

Yasuhide TONOGAI, Masahiro IWAIDA, Masatomo TATI^{*1}, Youki OSE^{*1} and Takahiko SATO^{*2}: *J. Toxicol. Sci.*, 3, 205 (1978)

Twenty kinds of coal-tar dyes were subjected to median tolerance limit (TLM) test by use of Hime-daka (*Oryzias latipes*) for the comparison of their acute toxicities.

It became clear that 4 kinds of halogens substituted xanthene dyes showed strong acute toxicities. From the fact that uranine had the lower acute toxicity than halogens substituted compounds and the toxicities of four dyes increased through irradiation, it was assumed that halogen atoms in dyes might be responsible for these strong acute toxicities to fish.

^{*1} Gifu University, School of Medicine

^{*2} Gifu College of Pharmacy

105 輸入ホワイトチョコレート中の二酸化チタンの検出・定量法について

小川俊次郎, 豊田正武, 伊藤滋志男, 慶田雅洋: 食品衛生研究, 28, 1081 (1978)

チョコレート中の白色着色顔料二酸化チタンの検出定量法について検討した。

第 12 版 A.O.A.C 公定法では回収率が低く, ばらつきもあり, 良好な結果は得られなかった。灰化温度を 600° に下げることにより回収率は 99% に向上し, 良好な成績を得た。輸入おはじき形チョコレート (白) より 3,000 ppm を超える二酸化チタンは検出されなかった。

106 Determination of Sulphates in Food Coal-Tar Dyes by Use of Lead-selective Ion Electrode

Masahiro IWAIDA, Kiyoko UEDA and Keizo

NAKAMURA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **19**, 524 (1978)

An investigation was carried out on the application of lead-selective electrode for the determination of sulphate in food coal-tar dyes with the aim of adopting it as the routine method for product examination. Promising results were obtained.

Coal-tar dye solution was titrated with 0.01 M lead nitrate solution to form precipitate of lead sulphate and then the presence of an excess of lead was selectively detected with lead electrode. Since lead sulphate was slightly soluble in water which might lead to an indistinct end-point, 50% dioxane solution was chosen as the suitable solvent. Since three xanthene dyes (Food Red No. 3, No. 104 and No. 105) formed precipitate with lead nitrate solution, removal of these dyes was indispensable before titration; and so an aliquot of the filtrate obtained by the filtration of dye acid precipitate formed by the addition of nitric acid was used.

Remarkable jumping of electrode potential was observed when the pH was adjusted neutral before titration. Presence of copper and chloride was known to show interference on the titration, but the permissible level of the presence of them in food coal-tar dyes was not so deadly effective as to disturb the reading of the end-point. The methods finally adopted were compared with the contemporary adopted routine method (turbidimetry) on 8 kinds of food coal-tar dyes. From the results it became clear that the ion electrode titrimetry was superior to turbidimetry both in recovery and repeatability.

107 Gas Chromatographic Determination of Dibutyl-hydroxytoluene in Butter

Yoshio ITO, Masatake TOYODA, Shunjiro OGAWA and Masahiro IWAIDA: *J. Hyg. Chem.*, **24**, 338 (1978)

An improved procedure for the gas chromatographic determination of dibutyl-hydroxytoluene (BHT) in butter was proposed. On the hexane extraction of BHT, addition of ammonia water was extremely effective for raising the recovery of

BHT. At the spikage levels of 10 and 100 ppm of BHT, recovery was around 50% without ammonia water treatment, while it rose to more than 94% with ammonia water treatment.

108 Studies on the Interaction between Proteolipid and Bacterial Pyrogen (III) Binding of Proteolipid Apoprotein derived from Rabbit Cerebrum to LPS

Yoshiyuki OGAWA, Tetsuo KOMURO and Seizaburo KANO: *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, **32**, 104 (1979)

The interaction of LPS with proteolipid was further studied. Lipophilic proteolipid apoprotein derived from rabbit cerebrum was found to be bound to LPS particularly, lipid A, in accordance with the suppression of pyrogenicity of LPS.

109 Studies on the Relationship between Enzyme Inhibition and Fetal Toxicity by Organophosphorous Insecticides

Seizaburo KANO and Takafumi ITAMI: *Tetratology*, **18**, 146 (1978)

Current evidence indicates that the toxicity of organic phosphorus insecticides can be explained on the basis of their ability to inhibit acetylcholinesterase (ChE) *in vivo*. The insecticides also can induce fetal toxicity. However, the relationship between fetal toxicity and enzyme inhibition has not yet been clarified.

We studied this relation with some insecticides in pregnant rats, and obtained the following results. 1) The oral LD₅₀ of Phosvel (P) and Sumithion (S) was 30 mg/kg and 300 mg/kg respectively with some differences on the basis of sex noted. 2) ChE activity decreased in the following order; maternal brain, liver, placenta, fetus and maternal serum. Inhibition of ChE by P was more potent than S. 3) The fetal toxicity produced by a diet containing 12.5, 50 or 125 ppm of P fed during the second trimester to pregnant rats depended on the dose of P. 4) The uncoupling action of P or S on liver mitochondrial oxidative phosphorylation was not marked.

The data suggest that fetal toxicity can be produced at a lower level than that required to pro-

duce maternal toxicity, and these findings are discussed.

110 Studies on the Drug Metabolizing Enzyme (P-450) during Pregnancy

Ikuko MORIYAMA-SHIMAMOTO*, Masayuki FUJITA*, Ryuji YAMAGUCHI and Seizaburo KANO: *Teratology*, 18, 145 (1978)

The drug metabolizing enzyme (P-450) in liver microsomes is recognized to be one of the principal detoxification mechanisms. During pregnancy, the mother is influenced by many substances, not only various types of therapeutic medications but also by many environmental chemicals. P-450 may play an important role in protecting the fetus by metabolizing such substances under proper conditions, but the precise mechanisms are not yet fully understood. We studied the importance of P-450 during pregnancy in maternal liver, placenta and fetuses by observing pregnant rats. We obtained the following results: 1) Phenobarbital was injected at a dose of 50 mg/kg ip during the first, second and third trimesters for four days, but no anomalies were observed at the 20th day of gestation. 2) After birth, the neonates treated with phenobarbital developed, and there was no difference between the neonates and the control until the 2nd month. 3) The sleeping time of neonates injected with pentobarbital was decreased compared with controls and the aniline hydroxylase activity of maternal and fetal liver was increased compared with controls.

* Department of Obstetrics and Gynecology, Nara Medical University

111 Studies on the Fetal Toxicity of Antipyretics against Endotoxin Fever in the Rat

Seizaburo KANO: *Teratology*, 18, 130 (1978)

Bacterial endotoxin (Lipopolysaccharide; LPS) can produce fever in both animals and man. The mechanism of the fever is not yet well understood. However, various antipyretics can effectively decrease the fever. The fetal toxicity of these agents might be influenced by both fever and LPS. In this report, the following results

were obtained. 1) The pyrogenicity of LPS in the rat is weak but can produce abortion or resorption at a dose of 1 μ g/kg iv at various stages of gestation. 2) Fetal toxicity including fetal death, resorption, abortion and SFD was weak with a dose of 250 mg/kg po of aspirin and 50 mg/kg po of aminopyrine, but it was increased in pregnant rats treated with LPS. 3) Enhancement of lethal toxicity of antipyretics was observed in normal rats by injection of LPS. 4) Reserpine, which can decrease normal body temperature, produced SFD when injected at a dose of 2.5 mg/kg ip during late gestation. 5) Antipyretics administered orally were distributed in the placenta, fetus and various maternal organs. In addition the tissue concentration was increased by injection of LPS. The ATP and catecholamine contents were decreased by reserpine. These data suggest that permeability of the placental barrier increased and consequently the increased drug concentration may enhance toxicity.

112 Studies on the Fetal Toxicity of Potassium Nitrate in two Generations of Rats

Seizaburo KANO and Makoto EMA: *Teratology*, 18, 148 (1978)

Potassium nitrate (KNO_3) has been widely used as a food additive with low toxicity. However, little is known of the possibility of fetal toxicity. In this report, we studied fetal toxicity including the maternal, F_1 and F_2 generations in pregnant rats.

The pregnant rats were fed with a diet containing 2.5, 0.5 or 0.1% of KNO_3 during the second trimester. No maternal toxic symptoms or gross fetal malformations were observed at term except in the 2.5% group. After normal delivery in half of the offsprings (F_1) from the dams receiving KNO_3 , the neonates were observed until the 13th week. No differences were observed from controls. The female rats of all groups were mated with the same male groups and fed with the diet described above during the second trimester. At term, slight fetal toxicity, including some types of anomalies, was observed

in the 2.5% KNO₃ group, but the other groups were almost normal. After normal delivery of the offspring (F₂) growth development of the neonates was no different from controls.

These data suggest that a dose of 2.5% KNO₃, which corresponds to 4 g in daily intake for human being, was slightly toxic to the F₂ generation in rats.

113 Effects of Capsaicin on Hypothalamic Thermo-sensitive Neurons in the Rat

Teruo NAKAYAMA*, Masatoshi SUZUKI*,
Youzou ISHIKAWA* and Akira NISHIO:
Neuroscience Letters, 7, 151 (1978)

In urethanized rats, capsaicin (1 mg/kg) was injected subcutaneously while recording single unit discharges of preoptic and anterior hypothalamic neurons. The discharge frequencies of 17 warm-sensitive neurons out of 21 began increasing with less than 15 min latency, and increased to 139—368% at 5—25 min after injection. The discharges of 6 cold-sensitive neurons were inhibited or abolished, while thermally insensitive neurons were not affected by capsaicin.

* Department of Physiology, Osaka University
School of Medicine

114 母体・胎仔複合体における薬物代謝

加納晴三郎:「環境科学」研究報告集, B23-S
14-1, P.11 (1979)

薬物代謝酵素の先天異常学における問題点について述べると共に phenobarbital (PB) よって誘導された薬物代謝酵素活性の上昇が個体に最終的に有利であるか否かの問題点について妊娠ラットに PB を投与して検討し、胎仔および新生仔発育への影響と母体肝-胎盤-胎仔系における薬物代謝酵素の消長を明らかにした。すなわち妊娠初期に PB を与えると吸収胚が増加したが、胎仔重量、胎盤重量および母体肝重量には著しい差がなかった。しかし、新生仔発育は全般に発育度で約 10% 低下した。また、母体肝、胎盤および胎仔肝の薬物代謝酵素活性を 450 nm による差スペクトル法でみると、PB 投与により胎盤と胎仔に上昇傾向

が示された。

115 ケシ (*Papaver somniferum* L.) の生産力におよぼす気象要因の影響 (第 2 報) 早生型系統の生産力と気象要因との相関

大野忠郎, 木下孝三*, 小峰常行: 生薬学雑誌,
33, 11 (1979)

和歌山薬試における 1960 年から 1975 年までの 16 カ年のケシ早生型系統 AW×I 4-53-6 の生産力と当該において観測した各種気象要因との間の相関を検定し、一貫種の場合と比較した。

一貫種の場合と異なった点は次のようである。第一に開花期における平均最高気温および降水量はあへんおよびモルヒネ収量との間に有意の相関は認められない。次に開花期における平均気温較差とあへん中のモルヒネ含量との間に負の相関が認められる。またあへん採汁期においてよりも、さく果生育期により多くの気象要因があへんおよびモルヒネ収量と相関する。早生系統はモルヒネ生産におよぼす気象要因に対する反応が一貫種ほど敏感でないようである。

* 前和歌山薬用植物栽培試験場長

116 芍薬の化学的研究 (第 1 報) 芍薬中の配糖体の定量

西沢 信*, 山岸 喬*, 堀越 司, 本間尚治郎:
生薬学雑誌, 33, 7 (1979)

芍薬中の配糖体 paeoniflorin, albiflorin, oxypaeoniflorin および benzoylpaeoniflorin を二波長クロマトスキャナーを用いる薄層濃度法で同様に定量した。

12 試料中の paeoniflorin, albiflorin, oxypaeoniflorin, benzoylpaeoniflorin の含量はそれぞれ 1.96~4.12%, nd~1.39%, 0.08~0.21%, 0.04~0.21% であった。根の皮と髓の paeoniflorin 含量はそれぞれ 2.54%, 1.77% であった。また albiflorin は皮のみに含まれていた。paeoniflorin 含量は根頭部が最も高く 3.93% で、主根下部が最も低く 1.66% であった oxypaeoniflorin も paeoniflorin と同じ傾向をもつが albiflorin は根頭部にはほとんど含まれていなかった。

皮去、湯通の試料では皮付に比し paeoniflorin, albiflorin 含量が低く特に湯通の albiflorin 含量は皮付の半分以下であった。

* 北海道立衛生研究所

学 会 発 表

Titles of Speeches

1. 松田りえ子, 小宮卓二, 立沢政義, 江島 昭: 新共重合型充填剤を用いた高速液体クロマトグラフィーによる医薬品の分析
第 22 回日本薬学会関東支部大会 (1978. 11. 11)
2. 石橋無味雄, 柴崎利雄, 江島 昭: クーロメトリックモニターを用いたヒドロキシベンズアルデヒド類の分析
日本分析化学会第 27 年会 (1978. 10. 11)
3. 鯉淵昌信, 江島 昭: 炎光光度検出器及び熱イオン化検出器を用いたクロフィブラートカプセル中のパラクロルフェノールの分析
日本分析化学会第 27 年会 (1978. 10. 11)
4. 黒柳正典, 福岡正道, 義平邦利, 名取信策: 1-Indanone 骨核を有する sesquiterpene, pterisin 類の CD と立体配座
第 21 回天然有機化合物討論会 (1978. 8. 24)
5. 名取信策: 天然変異発癌物質の現状と展望—天然に本来存在するものについて
第 37 回日本癌学会総会 (1978. 8. 9)
6. 名取信策: キノコの成分とその効用
第 12 回林業技術シンポジウム (1979. 3. 15)
7. Shinsaku NATORI: Application of Herbal Drugs to Health Care in Japan
Seminar on Plants in Traditional Medicine, WHO/Instituto Italo-Africano (1979. 4. 4)
8. 関田節子, 義平邦利, 名取信策, 宇田川俊一, 室井哲夫, 倉田 浩, 梅田 誠*: Chaetomium および関連属における chaetoglobosins, sterigmatocystins などの生産性の検索
第 9 回マイコトキシン研究会 (1979. 2. 3)
* 横浜市立大学
9. 大場琢磨: エチレンオキサイドの FDA における規制について
日本医科器械学会, 第 42 回滅菌法研究会 (1979. 1. 27)
10. 辻 楠雄, 飯田和子, 水町彰吾, 大場琢磨: エチレンオキサイド標準溶液の安定性について
日本医科器械学会, 第 53 回大会 (1978. 5. 26)
11. 辻 楠雄, 菊地 寛, 堀部 隆*, 相良 学*: 歯科用レジン溶出について—in vitro における溶出分の分析—
第 37 回日本歯科材料器械学会 (1978. 10. 13)
* 福岡歯科大学
12. 中村晃忠, 館野周之*, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 河村太郎*: 防炎加工剤 Tris BP 類似物質とハロアルカノールの突然変異原性
日本環境変異原学会第 7 回研究発表会 (1978. 10. 19)
* 横浜市衛生研究所
13. Takuma ŌBA: Symposium on Biomedical Uses of Fibers; Present Status of Biomedical Application of Fibers in Japan
The American Chemical Society, and the Chemical Society of Japan (1979. 4. 2)
14. 松村年郎, 樋口英二: Thermal Energy Analyzer による空気中の N-ニトロソジメチルアミンの定量
日本大学理工学部学術講演会 (1978. 11. 25)
15. 木嶋敬二, 井上哲男: 高速液体クロマトグラフィーによる N-ニトロソジエタノールアミンの分析
第 15 回全国衛生化学技術者協議会 (1978. 9. 29)
16. Mitsuharu TAKEDA: Recent Status of Pesticide Residues in Foods in Japan
The ACS/CSJ Congress in Hawaii (1979. 4. 3)
17. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 食品中の石油成分の分析法 含窒素化合物の分析法および石油成分の食品中での動態
第 5 回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1978. 10. 6)
18. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 海産生物中の石油汚染の指標について
日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978. 12. 7)
19. 河村葉子, 武田明治, 内山 充, 堺 敬一*: Total diet survey における有機リン剤について
日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979. 5. 16)
* 宮城県衛生研究所
20. Sadao UCHIYAMA: Fluorescence Enhancement in Thin-layer Chromatography by Spraying with Viscous Organic Solvents
The ACS/CSJ Congress in Hawaii (1979. 4. 1)
21. 三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充: 各種条件下ラットの臓器 TBA 値の変化
第 2 回過酸化脂質研究会 (1978. 10. 24)
22. 天野立爾, 熊田勝紀, 一戸正勝, 内山 茂: *Aspergillus ochraceus* グループのオクラトキシン生産性に関する研究—II
日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979. 5. 17)
23. Etsuko ISOHATA, Mitsuru UCHIYAMA: Determination of Sterigmatocystin and Related Me-

tabolites in Animal Tissues

The ACS/CSJ Congress in Hawaii (1979.4.6)

24. 山本 都, 山田 隆, 谷村顕雄: 2級アミンのニトロ化反応に及ぼすエタノール, ブドウ糖, ショ糖の影響について

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978.12.7)

25. 山本 都, 水城弘子, 金子久美, 谷村顕雄, 楢府直大*¹, 早川順子*¹, 堺 敬一*², 佐藤伸俊*²: ヒト血液中に検出される N-ニトロ化合物について

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.16)

*¹ 愛知県衛生研究所

*² 宮城県衛生研究所

26. 西澤 信*, 岡部建蔵*, 石綿 肇, 山本 都, 谷村顕雄: 生活環境水に存在する N-ニトロ化合物について

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978.12.7)

* 東北歯科大学

27. 下平富子: 赤血球によるメチルニトロソグアニジンの不活化について

第 8 回環境変異学会 (1978.10.20)

28. 小高秀正*, 林 長男, 谷村顕雄, 倉田 浩: 硝酸ナトリウム投与サル胃内における硝酸および亜硝酸イオンの消長と微生物叢について

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978.12.7)

* 日本大学農獣医学部

29. 松井道子, 谷村顕雄, 倉田 浩, 尾崎 明*, 弁野義己*, 光岡知足*: 腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究 (V) 一腸内微生物を投与したノトバイオートマウスにおける CHS-Na の代謝

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

* 理化学研究所

30. 一戸正勝: 汚染フザリウム菌の分類 シンポジウム「フザリウムによる農場汚染とその毒物」

第 8 回マイコトキシン研究会 (1978.7.8)

31. 宇田川俊一: 生活環境をとりまく真菌の諸問題

4. 一般食品の汚染かび

第 22 回日本医真菌学会総会 (1978.10.20)

32. 宇田川俊一, 室井哲夫, 倉田 浩, 関田節子, 義平邦利, 名取信策: O-メチルステリグマトシスチン産生 *Chaetomium* の分類学的性質について

第 8 回マイコトキシン研究会 (1978.7.7)

33. 内山 茂, 一戸正勝, 天野立爾, 熊田勝紀: *Aspergillus ochraceus* グループのオクラトキシン生産性に関する研究—I. 分離菌株の性状について

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

34. 天野立爾, 熊田勝紀, 一戸正勝, 内山 茂: *Aspergillus ochraceus* グループのオクラトキシン生産性に関する研究—II. オクラトキシンの単離, 精製

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

35. 安藤展代*, 中嶋英子*, 一戸正勝: *Paecilomyces lilacinus* による眼炎

第 22 回日本医真菌学会総会 (1978.10.20)

* 神奈川県立足柄上病院

36. 大内忠行*¹, 石井 明*¹, 一戸正勝, 桃沢靖弘*²: 小児喘息患児におけるアレルゲン, 特に屋内塵の真菌相の検討について

第 28 回日本アレルギー学会総会 (1978.10.26)

*¹ 東京大学医科研

*² 東京医科歯科大学小児科

37. 高島浩介*, 宇田川俊一: *Petriellidium (Allerscheria) boydii* の毛侵入について

第 22 回日本医真菌学会総会 (1978.10.20)

* 食品薬品安全センター

38. 西村和子*, 宮治 誠*, 栗田啓幸*, 田口英昭*, 岩津郎希雄*, 宇田川俊一: *Microascus* 属と *Sporothrix schenckii* との類縁性とマウス腹腔内における寄生形態

第 22 回日本医真菌学会総会 (1978.10.20)

* 千葉大学

39. 新村寿夫, 望月左弓, 時枝利江, 山羽 力: ラット肝遊離細胞の脱水素酵素に及ぼすメタ重亜硫酸カリウムの影響

日本農芸化学会昭和54年度大会 (1979.4.4)

40. 森本和滋, 田中 彰, 山羽 力: N-ニトロソ尿素の発癌性および制癌性の差異に関する生化学的研究 I. *in vitro* における N-ニトロソ尿素のタンパク質および核酸との結合性の比較

日本癌学会第 37 回総会 (1978.8.9)

41. 赤阪雄一郎*, 町田豊平*, 危地隆明*, 林 伸一*, 田中 彰: 尿路悪性腫瘍と尿中ポリアミン

第 67 回 日本泌尿器科学会総会 (1979.4.6)

* 東京慈恵会医科大学

42. 赤阪雄一郎*, 町田豊平*, 田中 彰:

尿路悪性腫瘍と尿中ポリアミン

第 16 回日本癌治療学会総会 (1978.9.8)

* 東京慈恵会医科大学

43. 田中 彰, 町田豊平, 三木 誠, 大石幸彦, 上田正山, 木戸 晃, 柳沢宗利, 池田勲夫, 島村芳之,

倉田邦夫：^{99m}Tc-dl-DMS と ^{99m}Tc-mess-DMS の基礎的検討

第 18 回日本核医学会総会 (1978. 10. 13)

44. 三木 誠*¹, 町田豊平*¹, 大石幸彦*¹, 上田正山*¹, 木戸 晃*¹, 柳沢宗利*¹, 田中 彰, 池田 勲*², 島村芽之*², 倉田邦夫*², 川上憲司*¹, 勝山直文*¹: ^{99m}Tc-dl-DMS の臨床応用について

第 18 回日本核医学会総会 (1978. 10. 13)

*¹ 東京慈恵会医科大学

*² ダイナボット RI 研究所

45. Akira Tanaka, Toyohi Machida*¹, Makoto Miki*¹ and Isao Ikeda*²: Renal Imaging with a New Agent, ^{99m}Tc-dl-DMS
International Symposium on Radionuclides in Nephrology (1978. 6. 15)

*¹ Department of Urology, The Jikei University, School of Medicine

*² Dainabot Radioisotope Laboratories

46. 安原加寿雄, 内田雄幸, 小林和雄, 戸部満寿夫: ラットにおける腎臓の自然発生腫瘍 (nephroblastoma) について

53 年度東京獣医畜産学会 (1978. 8. 26)

47. Masuo TOBE: Present Status of the Studies on the Safety of Irradiated Food.

5th International Congress of Food Science & Technology (1978. 9. 18)

48. 戸部満寿夫: 一般毒性評価における 2, 3 の問題点について

第 52 回日本薬理学会総会シンポジウム (1979. 3. 27)

49. 金子豊蔵, 高村二三知, 小林和雄, 堀内茂友, 戸部満寿夫: Polychlorinated terphenyl (PCT) の毒性に関する研究, 第 2 報, 慢性毒性について

第 52 回日本薬理学会総会 (1979. 3. 29)

50. 高橋 惇, 大野泰雄, 大森義仁: ジアルキールニトロソアミン類の肝および血清酵素活性におよぼす影響 II. ラットとモルモットにおける種差

第 58 回日本薬学会関東部会 (1978. 6. 3)

51. Yoshihito OMORI, Atsushi TAKAHASHI, Yasuo OHNO, Hagime ISHIWATA, Akio TANIMURA: Drag-nitrate interactions: Species and sex differences in the formation of dimethylnitrosoamine and its effects on the hepatic enzyme activities
20th Congress Eur. Soc. Toxicol. Berlin. 1978.

52. 川西 徹, 高橋 惇, 大野泰雄, 大森義仁: 亜硝酸と薬物との相互作用 (V) aminopyrine との相互

作用に及ぼす ascorbate, Erythorbate, Sorbate の効果

第 59 回日本薬理学会関東部会 (1978. 11. 18)

53. 篠内桃子, 小野田欽一, 中浦慎介, 川島邦夫, 藤森観之助, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁: 食用色素赤色 106 号のラット体内分布および胎仔移行, 分布と次世代への影響

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978. 12. 6)

54. 溝上敬之助, 藤森観之助, 井上和秀, 篠内桃子, 高仲 正, 大森義仁: ラット胎仔の薬物代謝酵素活性について

第 52 回日本薬理学会総会 (1979. 3. 28)

55. 前川昭彦, 小田嶋成和: ACI/N ラットにおける低濃度 Sterigmatocystin の発癌性について

第 68 回日本病理学会総会 (1979. 4. 2)

56. 前川昭彦: ニトロソ尿素によるラット実験的脳神経系腫瘍の発生と病理

第 20 回日本神経病理学会学術研究会 (1979. 5. 23)

57. 新居 均*¹, 宮田幸忠*², 柴田道子*², 木下 担*², 細田勝彦*², 高橋道人: N-nitroso-bis(2-oxopropyl) amin によるハムスター肝臓癌発生における前癌病変の研究

日本癌学会総会 (1978. 8. 10)

*¹ 名古屋市立大学・二外

*² 名古屋市立大学・一病

58. 立松正衛*¹, 降旗千恵*², 高橋道人, 花之内基夫*¹, 斉藤丈三*², 杉村 隆*²: MNNG 短期投与によるラット幽門部粘膜におけるペプシノーゲンアイソザイムの不可逆性変化

日本癌学会総会 (1978. 8. 9)

*¹ 東大医科研・癌生物

*² 名古屋市立大学

59. 高橋道人, 勝山 努*¹, 立松正衛*², 福島昭治*², 白井智之*², 那須 毅*¹: コンカナバリン A パラドックス染色法によるラット実験胃癌の組織化学的解析

日本癌学会総会 (1978. 8. 8)

*¹ 信大・二病

*² 名市大・一病

60. 高橋道人, 白井智之*, 白井智之*, 福島昭治*, 柴田道子*, 石原佑弼*, 吉岡芳男*: 胃潰瘍形成物質 Iodoacetamide のラットへの長期投与による胃粘膜の変化について

日本癌学会総会 (1978. 8. 10)

* 名市大・一病

61. 黒川雄二, 小田嶋成和, Clyde. J. Dawe,* J.E. Williams*: *In vitro* で癌原性物質の処理を受けた消化管上皮及び間葉の移植実験—特に上皮間葉相互作用に着目して

日本癌学会総会 (1978. 8. 9)

* Laboratory Pathology, National Cancer Institute

62. 藤井敬二*, 荻生俊昭, 中館正弘, 小田嶋成和: アミルニトロソ尿素によるラットの腫瘍発生

日本癌学会総会 (1978. 8. 10)

* 筑波大学, 基礎医

63. 竹内正紀, 荻生俊昭, 古田京子, 小田嶋成和, 中館正弘: ノーエチルー (ENU) 及び 1-プロピルー 1-ニトロソ尿素 (PNU) による Fischer ラット消化管腫瘍の発生

日本癌学会総会 (1978. 8. 9)

64. 荻生俊昭, 竹内正紀, 中館正弘, 古田京子, 小田嶋成和: 1-iso-Butyl-1-nitrosourea (i-BNU) による雌 Donryu ラット十二指腸腫瘍の発生

日本癌学会総会 (1978. 8. 9)

65. 広瀬雅雄*, 荻生俊昭, 小田嶋成和, 中館正弘: エチルニトロソ尿素 (ENU) とブチルニトロソ尿素 (BNU) の併用投与による Donryu ラット白血病について

日本癌学会第 37 回総会 (1978. 8. 9)

* 名古屋市立大学・医

66. 荻生俊昭, 竹内正紀, 小田嶋成和: 1-iso-butyl-1-nitrosourea (i-BNU) により発生した十二指腸の血管内皮腫の組織像について

第 68 回日本病理学会総会 (1979. 4. 1)

67. 河内 卓*, 矢作多貴子*, 石館 基: 環境変異原の定量的評価に関する試み

日本環境変異原学会, 第 7 回 (1978. 10. 20)

* 国立がんセンター

68. 井之川芳之*, 能美健彦, 吉川邦衛, 石館 基: 突然変異試験法に用いられる S-9 の検索 (I) P-450 含量および Cyt. C 還元酵素活性と変異原活性との比較

日本環境変異原学会, 第 7 回 (1978. 10. 20)

* 東京薬科大学

69. 能美健彦, 井之川芳之*, 吉川邦衛, 石館 基: 突然変異試験法に用いられる S-9 の検索 (II) N-Demethylation 活性および C-Hydroxylation 活性との関連

日本環境変異原学会, 第 7 回 (1978. 10. 20)

* 東京薬科大学

70. 吉川邦衛, 原田隆一郎*, 能美健彦, 井之川芳之*, 石館 基: 突然変異試験法に用いられる S-9 の検索 (III) 各種の S-9 による Aminobenzene 類の変異原活性

日本環境変異原学会, 第 7 回 (1978. 10. 20)

*1 東京農工大学

*2 東京薬科大学

71. 松岡厚子, 林 眞, 石館 基: 代謝活性化 (S-9 mix) による化学物質の染色体異常誘発性

日本組織培養学会, 第 46 回 (1978. 10. 26)

72. 石館 基, 林 眞, 沢田 稔, 松岡厚子: 医薬品の細胞毒性—培養細胞に対する染色体異常誘発性について

日本組織培養学会, 第 47 回 (1979. 5. 1)

73. Lienard, F., 林 眞, 吉川邦衛, 石館 基: トリアジン系, カルバメイト系農薬およびそれらのニトロソ化体の変異原性

日本環境変異原学会, 第 7 回 (1978. 10. 20)

74. 沢田 稔, 林 眞, 石館 基: PNU による染色体異常誘発性と分離したサブクロンの核型分析

日本癌学会, 第 37 回 (1978. 8. 9)

75. 岡田敏史, 中垣正幸*: 2-1型塩酸フェノチアジンの水溶液中における導電率

第 28 回日本薬学会近畿支部総会 (1978. 10. 22)

* 京都大学薬学部

76. 四方田千佳子, 岡田敏史, 持田研秀: アラビアゴムの分子量分布

第 28 回日本薬学会近畿支部総会 (1978. 10. 22)

77. 中原 裕, 岡田敏史, 持田研秀: リパーゼ活性に及ぼす界面活性剤の影響

第 28 回日本薬学会近畿支部総会 (1978. 10. 22)

78. 古謝紀和, 柴田 正, 持田研秀: 起炎性レクチンの酵素免疫測定法

第 28 回日本薬学会近畿支部総会 (1978. 10. 22)

79. 慶田雅洋, 外海泰秀, 渡辺孝子, 吉年美千代: 輸入明太子 (塩蔵タラコ) 中の亜硝酸について

第 15 回全国衛生化学技術協議会 (1978. 9. 29)

80. 伊藤晋志男, 外海泰秀, 豊田正武, 小川俊次郎, 慶田雅洋: 冷凍えび及び塩蔵くらげ中のホウ酸の定量法について (灰化法とキレート抽出法の比較)

第 15 回全国衛生化学技術協議会 (1978. 9. 29)

81. 外海泰秀, 伊藤晋志男, 慶田雅洋: 希釈二酸化炭素 (製糖工場用炭酸飽和ガス) 中の 3, 4-ベンツピレ

ンの試験法について

第 15 回全国衛生化学技術協議会 (1978.9.29)

82. 海外泰秀, 小川俊次郎, 豊田正武, 伊藤誉志男, 慶田雅洋: 数種食品中の 3,4-ベンズピレンの簡易測定法について

第 33 回日本栄養・食糧学会総会 (1979.5.3)

83. 豊田正武, 小川俊次郎, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 慶田雅洋: 水抽出・ガスクロマトグラフィーによる TBHQ (tertiary butyl hydroquinone: 第三級ブチルヒドロキノン) の定量

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

84. 小川俊次郎, 吉年美千代, 豊田正武, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 慶田雅洋, 峯 孝則*: ヘキサンジオール法による数種食品中のホウ素含量の調査

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

* サントリー(株)中央研究所

85. 伊藤誉志男, 豊田正武, 鈴木英世, 慶田雅洋: 等速電気泳動 (イソタコホレシス) による食品中の EDTA の検出・定量について

日本食品衛生学会第 37 回学術講演会 (1979.5.17)

86. 峰 孝則*¹, 鈴木登紀子*¹, 泉 哲男*¹, 小原一雄*², 福家田鶴*², 中西 弘*², 伊藤青史*³, 田中靖史*³, 堤 正雄*³, 伊藤誉志男: 食用色素の系統的分析法に関する研究—I セライトカラムによる方法について

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978.12.6)

*¹ サントリー(株)中央研究所

*² (株)日本食品分析センター大阪支所

*³ 滋賀県衛生環境センター

87. 外海泰秀, 小川俊次郎, 豊田正武, 伊藤誉志男, 慶田雅洋, 三ツ橋幸正*¹, 浜野 孝*¹, 長谷川明彦*¹, 田中喜作*¹, 松木幸夫*¹, 宇野正紘*², 荒谷幸夫*²: 食用色素の系統的分析法に関する研究—II 液・液分配法による方法について

日本食品衛生学会第 36 回学術講演会 (1978.12.6)

*¹ 神戸市環境保健研究所

*² ニッカウキスキー西宮工場

88. 鈴木英世, 中村恵三, 慶田雅洋: ベルガモットオイルおよびその含有化粧品中のベルガプテンの分析

日本化粧品技術者会第 4 回研究討論会 (1978.6.9)

89. 加納晴三郎: 妊娠動物の発熱と解熱剤による胎仔毒性

第 18 回日本先天異常学会総会シンポジウム (1978.7.14)

90. 森山郁子*, 藤田正之*, 山口龍二*, 加納晴三郎:

妊娠ラットの薬物代謝酵素について (I)

第 18 回日本先天異常学会総会 (1978.7.14)

* 奈良医科大学 産婦人科学教室

91. 伊丹孝文, 加納晴三郎: 有機燐系農薬の胎仔毒性とコリンエステラーゼなどの阻害度について

第 18 回日本先天異常学会総会 (1978.7.14)

92. 江馬 真, 加納晴三郎: 硝酸カリウム (KNO₃) のラットにおける F₁ および F₂ への毒性について

第 18 回日本先天異常学会総会 (1978.7.14)

93. 小川義之, 小室徹雄, 加納晴三郎: 細菌性発熱物質 (LPS) と脳 Proteolipid の相互作用 (第 4 報)

—LPS と Proteolipid Apoprotein の相互作用—

第 53 回日本薬理学会近畿部会 (1978.6.19)

94. 加納晴三郎, 小川義之, 小室徹雄: 内毒素の発熱作用の種属特異性と大脳プロテオリピッドの相互作用について

第 25 回毒素シンポジウム (1978.7.13)

95. 加納晴三郎, 小川義之, 小室徹雄: 内毒素の発熱作用の種属特異性と大脳プロテオリピッドとの相互作用

第 4 回微生物をめぐる分子生物学とその薬学領域における応用面シンポジウム (1978.9.29)

96. 加納晴三郎, 小川義之, 小室徹雄: 内毒素 (LPS) の大脳 Proteolipid との結合の特異性とその Pyrogenicity の変化

第 7 回薬物活性シンポジウム (1978.10.19)

97. 西尾 晃, 加納晴三郎: 胎生期発育に及ぼす発熱および発熱物質の影響について (1) 内毒素 (LPS) の妊娠家兎に対する効果

第 52 回日本薬理学会総会 (1979.3.28)

98. 本間尚治郎, 堀越 司, 西沢 信*, 山岸 喬*: 薬用植物の栽培研究 (7) オウレンの栽培条件と生育, 収量, 品質について

日本生薬学会第 25 回年会 (福岡) (1978.10.6)

* 北海道立衛生研究所

99. 堀越 司, 本間尚治郎, 西沢 信*, 山岸 喬*: 北海道におけるシャクヤク栽培 (第 3 報) 実生苗, 株分苗の大きさと生育, 収量および品質について

日本生薬学会第 25 回年会 (福岡) (1978.10.6)

* 北海道立衛生研究所

100. 本間尚治郎: センキュウについて

日本生薬学会北海道支部センキュウの勉強会 (1978.9.17)

101. 堀越 司, 本間尚治郎: 北海道における芍薬の

栽培研究

日本生薬学会北海道支部，生薬栽培と品質に関する
研究会（芍薬について）（1979. 3. 16）

ゲシの栽培および成分に関する研究（6）土壌条件
が幼植物の生育におよぼす影響

日本生薬学会第 25 回年会（1978. 10. 6）

102. 宮崎幸男，西 孝三郎，渡辺照行：ハカマオニ

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 53 年 4 月から昭和 54 年 3 月までの演題等は下記のとおりである。

第 196 回 (昭和 53 年 4 月 11 日)

1. マイコトキシンの同時分析法 (15 分)
食 品 部 °武 田 由 比 子
五十畑悦子
天 野 立 爾
内 山 充

2. 亜硝酸と薬物との相互作用 (Ⅲ) ラットおよびモルモット胃内におけるニトロソアミンの生成 (15 分)

薬 理 部 °大 野 泰 雄
食品添加物部 石 綿 肇

3. 市場生薬「羌活」について—その 2—韓国産羌活 (15 分)

生 薬 部 °神 田 博 史
佐 竹 元 吉

4. ワラビの研究 第 10 報 (15 分)

生 薬 部 °黒 柳 正 典
福岡 正道
義 平 邦 利

5. 外国の化学物質規制の動き (20 分)

附属図書館調査室 竹 中 祐 典

6. チュニジア国に対する医療協力について (25 分)

環境衛生化学部 井 上 哲 男

第 197 回 (昭和 53 年 5 月 9 日)

1. シクロヘキシルアミンおよび類縁化合物のウサギ肝ミクロゾームによる酸化的脱アミノ化について
医 化 学 部 紅 林 秀 雄
2. UV ラベル化法による N-ニトロソジエタノールアミンの分析

環境衛生化学部 °木 嶋 敬 二
井 上 哲 男

3. タンパク食品中のラジカル量についての ESR による検討

食 品 部 内 山 貞 夫

4. ワラビの研究 第 11 報 (癌原性物質の検索その 2)

生 薬 部 °福 岡 正 道
黒 柳 正 典
義 平 邦 利

5. ワラビの研究 第 12 報 (フラボノイドのサルモネラ菌に対する突然変異原性について)

生 薬 部 °義 平 邦 利
黒 柳 正 典
福 岡 正 道
名 取 信 策

6. 放射性同位元素を利用した注射薬等の無菌試験に関する研究 (その 1)

衛生微生物部 °栗 栖 弘 光
倉 田 浩

第 198 回 (昭和 53 年 6 月 13 日)

1. 溶媒抽出無炎原子吸光法による食品中の重金属の分析 (I) 鉛, ビスマスの分析

食 品 部 °鈴 木 隆
武 田 明 治
内 山 充

2. 羊毛防虫加工剤の系統分析法

療 品 部 °鹿 庭 正 昭
小 嶋 茂 雄
中 村 晃 忠

3. DNA 抗体の分離とその性質

薬 理 部 溝 上 敬 之 助

4. 改良ランキン法の比色定量法およびヘッドスペース GC 法による食品中亜硫酸の定量について

大阪支所食品部 °小 川 俊 次 郎
鈴 木 英 世
豊 田 正 武
伊 藤 誉 志 男
慶 田 雅 洋

5. 1-(2-chloroethyl)-1-nitroso-3-(3-pyridinyl)-methylurea N-oxide および関連化合物の抗腫瘍作用

合成化学研究部 °宮 原 美 知 子
神 谷 庄 造

病 理 部 小 田 嶋 成 和

6. 合成女性ホルモン Diethylstilbestrol (DES) の細胞分裂毒性について

変 異 原 性 部 °沢 田 稔
石 館 基

第 199 回 (昭和 53 年 7 月 11 日)

1. プロトプラスト法による *Aspergillus oryzae* 酸性カルボキシンペプチダーゼの細胞内分布

変 異 原 性 部 °能 美 健 彦
東京農工大 竹 内 道 雄
一 島 英 治

2. 溶媒抽出—無炎原子吸光法による食品中の重金属の分析 (II) カドミウム, 鉛の分析

食 品 部 °鈴木 隆
武 田 明 治
内 山 充

3. 食用色素 106 号 (Acid Red) のラット胎仔内移行と次世代におよぼす影響

薬 理 部 簗 内 桃 子

4. 結合組織構成成分由来の血管透過亢進因子

薬 理 部 溝 上 敬 之 助

5. ブドウ糖の水溶液中での安定性と分解生成物の挙動

薬 品 部 緒 方 宏 泰
柴 崎 利 雄
江 島 昭

第 200 回 (昭和 53 年 9 月 12 日)

1. フタル酸エステル類の試験法について

食 品 部 °斎 藤 行 生
武 田 明 治
内 山 充

2. Diisooheptyl Phthalate (DIHP) のラットによる代謝

医 化 学 部 °佐 藤 道 夫
足 立 透

3. 新生肉芽腫における血管反応の特異性

薬 理 部 溝 上 敬 之 助

4. カキ食中毒予防に関する研究 (I) 生カキの微生物叢について

衛生微生物部 °小 沼 博 隆
河 西 勉
鈴 木 昭

5. ニトロソ尿素による白血病の発生について

病 理 部 °荻 生 俊 昭
竹 内 正 紀
松 岡 千 明
古 田 京 子
小 田 嶋 成 和
合成化学研究部 中 館 正 弘

6. タール色素の光分解とその TLm 試験について

大阪支所食品部 °外 海 泰 秀
慶 田 雅 洋

第 201 回 (昭和 53 年 10 月 11 日)

1. 1-ニチル-(ENU) および 1-プロピル-1-ニトロソ尿素 (PNU) による Fischer ラットの腫瘍発生

病 理 部 °竹 内 正 紀
荻 生 俊 昭

2. 幼若期ラット脳におよぼすニトロソウレア化合物の影響

松 岡 千 明
古 田 京 子
前 川 昭 彦
小 田 嶋 成 和
合成化学研究部 中 館 正 弘

2. 幼若期ラット脳におよぼすニトロソウレア化合物の影響

薬 理 部 藤 森 観 之 助

3. 亜硝酸と薬物との相互作用 (IV) アミノピリンとの併用によるモルモット肝酵素活性の変動

薬 理 部 大 野 泰 雄

4. 有害性金属の衛生化学的研究 (第 7 報) カドミウム連続経口投与時の骨構成成分ならびに酵素活性について

環境衛生化学部 佐 谷 戸 安 好
安 藤 正 典

第 202 回 (昭和 53 年 11 月 14 日)

1. マンガン化合物の毒性に関する研究 (第 2 報)

毒 性 部 安 原 加 寿 雄

2. 消炎剤 TRIS-BP 類似物質とハロアルカノール類の突然変異原性について

療 品 部 中 村 晃 忠

3. リボスクレアーゼ T₁ の定量的アフィニティークロマトグラフィー

生 物 化 学 部 押 沢 正

4. フェノバルビタールの免疫学的確認法

生 物 化 学 部 木 村 俊 夫

5. 血液によるニトロソグアニジンの非活化について

衛生微生物部 下 平 富 子

第 203 回 (昭和 53 年 12 月 12 日)

1. 塩化ベンゼトニウムの薬理作用 (I) 行動, 脳波, 筋電図, 呼吸および循環への作用

薬 理 部 藤 森 観 之 助

2. 塩化ベンゼトニウムの薬理作用 (II) 平滑筋, 心筋, 骨格筋, 神経および血液への作用

薬 理 部 大 野 泰 雄

3. クーロメトリー検出器を用いた医療品の分析

薬 品 部 石 橋 無 味 雄

4. 医薬品製剤中の不純物分析への FPD および FTD の利用

薬 品 部 鯉 渕 昌 信

5. LAS のウサギでの催奇形性試験

毒 性 部 落 合 敏 秋

6. 低温管理食品の酵母による汚染

衛生微生物部 小 島 満 子

第 204 回 (昭和 54 年 1 月 9 日)

1. 発熱反応よりみた内毒素の種属特異性の決定因子について

大阪支所 薬理微生物部 °小 室 徹 雄
小 川 義 之
加 納 晴 三 郎

2. 血液生化学検査用オートアナライザーについて

毒 性 部 齊 藤 実

3. 採血部位の差による血液生化学検査値の変動

毒 性 部 鈴 木 幸 子

4. 腎診断薬 ^{99m}Tc -DMS の基礎的研究と臨床応用について

医 化 学 部 田 中 彰

5. DNA 修復欠損株による突然変異性について

変 異 原 性 部 °吉 川 邦 衛
能 美 健 彦
石 館 基

第 205 回 (昭和 54 年 2 月 13 日)

1. 酵素免疫定量法起炎性レクチンへの適用

大阪支所 薬品部 °古 謝 紀 和
柴 田 正
持 田 研 秀

2. Aminopyrine と亜硝酸との相互作用におよぼす Ascorbic acid, Sodiumerythorbate, Sorbic acid の効果

薬 理 部 川 西 徹

3. 光過敏症の原因クロレラ中のクロロフィル分解物

食 品 部 天 野 立 爾

4. トリアジン系, カルバメイト系農薬およびそれらのニトロソ化体の変異原性

変 異 原 性 部 °林 真
F. Lienard

吉 川 邦 衛

石 館 基

5. 安息香酸ナトリウムの催奇形成について

病 理 部 °小 野 寺 博 志
荻 生 俊 昭
小 田 嶋 成 和

第 206 回 (昭和 54 年 3 月 13 日)

1. 水銀による中枢神経系障害におよぼす PCB 投与の影響

毒 性 部 °高 村 二 三 知
金 子 豊 蔵

2. ポリオレフィンからの酸化防止剤の溶出について

食 品 添 加 物 部 °井 上 た き 子
辰 濃 隆
谷 村 顕 雄

3. ラットの四塩化炭素投与および老化における脂質過酸化と脂肪酸組成の変化

食 品 部 三 原 翠

4. 固定化ニューロフィジン: 後葉ホルモンとの相互作用ならびにオキシトシン製剤中の不純ペプチド分離への適用性

生 物 化 学 部 福 田 秀 男

5. 突然変異試験法に用いられる代謝活性化法について

変 異 原 性 部 °能 美 健 彦
吉 川 邦 衛
石 館 基

支 所 例 会

昭和 54 年 3 月 19 日

1. Effect of reserpine on the pregnant rat.

加 納 晴 三 郎

2. Imunoassay を応用した超微量分析について

3. 食品部活動報告

持 田 研 秀

慶 田 雅 洋

所 内 講 演 会

1. イムノアッセイ
昭和53年10月16日
昭和大学薬学部教授
辻 章夫
2. 衛生行政の変遷と今日の課題
昭和53年11月21日
厚生省環境衛生局食品化学課長
宮沢 香
3. 金属による発癌と制癌
昭和53年12月4日
千葉大学薬学部教授
山根靖弘
4. 薬物の代謝的活性化と毒性発現
昭和54年1月30日
慶応義塾大学教授
加藤隆一
5. インターフェロンについて
昭和54年2月21日
国立予防衛生研究所室長
山崎修道
6. N-Nitroso Compound in Food
Deutsches Krebsforschungszentrum.
Dr. Rudolf Preussman

大 阪 支 所

1. 抗生物質のクロマトグラフィーによる分析・一ベ
ータラクタム系を中心として—
昭和54年5月10日
京都大学教授
宇野豊三

昭和 53 年度に行った主な研究課題

特別研究

- 1) 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

- 2) 生活関連物質の微量分析新技術の開発研究

国立機関原子力試験研究費関係（科学技術庁）

- 1) γ 線照射かまぼこの安全性に関する研究
- 2) 短半減期放射性医薬品の品質に関する研究
- 3) 電子線照射によるみかんの毒性試験
- 4) ハプテンラジオイムノアッセイの臨床分析への応用に関する研究
- 5) 照射食品の突然変異原性試験
- 6) 人工腎臓用ダイヤライザーの放射線滅菌と透析能に関する研究
- 7) 標準医薬品等の合成と代謝に関する研究

放射能調査研究費関係（科学技術庁）

- 1) 環境試料中の天然放射性物質の調査に関する研究
- 2) 環境試料中の微量放射性ヨウ素の分析法に関する研究

特別研究促進調整費関係（科学技術庁）

- 1) 赤かび毒による造血器障害等の発生機構に関する総合研究
- 2) 化学物質の毒性簡易試験法の開発に関する総合研究
- 3) 動物における微生物叢の役割に関する総合研究

国立機関公害防止等試験研究費関係（環境庁）

- 1) PCB の生体機能におよぼす影響に関する研究
- 2) 海洋の油汚染と海産食品の汚染との関連性に関する研究
- 3) 環境汚染物質の動植物体内における存在形態に関する研究

- 4) 環境汚染物質の生体影響に対する共存化学物質の効果に関する研究

科学研究費補助金関係（文部省）

- 1) マイコトキシンのスピンドルベイルイムノアッセイ
- 2) 合成制癌剤開発に関する研究
- 3) がん細胞変異の細胞病理学的研究
- 4) 染色体分染法による腫瘍性発現機構の細胞遺伝学的解析
- 5) がん原物質の構造・代謝と臓器特異的発がん相関
- 6) 植物中の発がん物質の研究
- 7) 薬用植物の病害に関する研究
- 8) Gottingen miniature pig の実験動物化と Biomedical 研究における有用性に関する研究
- 9) 化学物質の経口投与による消化管発癌

がん研究助成金関係（厚生省）

- 1) フラボノイド等植物成分中の発がん物質に関する研究
- 2) ヒトのがん発生に関連する環境物質の変異・癌原性の研究
- 3) 生活環境下の発がん(原)物質の研究
- 4) 微生物代謝産物の発がん性に関する研究
- 5) ヒト胃癌と実験犬がんの対比とその臨床応用に関する研究
- 6) 変異原性物質の動物発癌テストに関する研究
- 7) 遺伝変異原性を主とする発がん物質スクリーニングの技術開発

厚生省特別研究補助金関係

- 1) ディスポーザブル医療用具に残留するエチレンオキサイドの安全性に関する研究

国家検定および検査等の処理状況

Survey of the Results of National Tests

昭和53年度における検定および検査等の処理状況は次のとおりである。

国家検定については、総件数で前年度に比べて 6.1 % (125件) の減少となった。検定品目の中ではブドウ糖注射液が最も多く全体の 79% を占め、そのほかでは塩酸エタンプトール錠が 6 % 塩酸エタンプトールが 4 % となっており前年度とほぼ同様な状況であった。

つぎに一斉取締試験 43% 特別行政試験 23% 製品検査 1 % 輸出検査 2 % と前年度に比べてそれぞれ増加している。反面特別審査試験は 23% 輸入食品 7 % の減少となった。

なお総処理件数は 6,279件 (下表のとおりで前年度に比べて 347 件, 6 % の増加) であった。

国家検定および検査等の処理実績表 (次頁以下に掲載) は次のとおりである。

○昭和53年度国家検定品目別月別判定別実績表…………… 290頁

○昭和53年度製品検査月別判定別件数実績表… 292頁

○昭和53年度輸出検査月別判定別件数実績表… 292頁

○昭和53年度特別審査試験月別判定別件数実績表…………… 292頁

○昭和53年度輸入食品検査品目別月別判定別件数実績表…………… 294頁

○昭和53年度特別行政試験月別件数実績表…… 296頁

○昭和53年度一斉取締試験判定別件数実績表… 296頁

区 分	53 年 度 試 験 件 数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	1,070	1,243	2,313
製 品 検 査	331	501	832
輸 出 検 査	56	0	56
特 別 審 査 試 験	333	0	333
輸 入 食 品 検 査	744	441	1,185
特 別 行 政 試 験	607	93	700
一 般 依 頼 試 験	1	0	1
一 斉 取 締 試 験	829	30	859
計	3,971	2,308	6,279

月別判定別件数実績表 (No. 1)

[illegible]

昭和53年度国家検定品目別

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	
フェリブレンシン注射液（塩酸プロビトカイン3%を含むもの）		東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	6 —	0 —	6 —	2 —	0 —	2 —	— —	— —	— —	4 —	0 —	4 —	
ブドウ糖注射液		東京 大阪	46 120	0 0	46 120	62 120	0 0	62 120	46 106	0 0	46 106	64 101	0 0	64 101	36 71	0 0	36 71	60 115	0 0	60 115
リンゲル液		東京 大阪	— 3	— 0	— 3	1 —	0 —	1 —	1 3	0 0	1 3	1 1	0 0	1 1	— 2	— 0	— 2	1 —	0 —	1 —
計		東京 大阪	80 125	0 0	80 125	91 120	0 0	91 120	94 109	0 0	94 109	108 104	0 0	108 104	67 78	0 0	67 78	108 115	0 0	108 115
合 計			205	0	205	211	0	211	203	0	203	212	0	212	145	0	145	223	0	223

昭和53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	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	5	0	5	4	0	4	54	0	54	55	0	55	—	—	—	45	0	45
大 阪	49	0	49	23	0	23	28	0	28	55	0	55	53	0	53	15	1	16
合 計	54	0	54	27	0	27	82	0	82	110	0	110	53	0	53	60	1	61

昭和53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	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	2	0	2	3	0	3	4	0	4	9	0	9	3	0	3	4	0	4

昭和53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	29	0	29	21	0	21	14	0	14	46	0	46	19	0	19	13	0	13

月別判定別件数実績表 (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
3	0	3	—	—	—	—	—	—	4	0	4	—	—	—	4	0	4	23	0	23
41 78	0 0	41 78	48 96	0 1	48 97	72 113	1 0	73 113	31 68	1 0	32 68	50 113	0 0	50 113	57 105	0 0	57 105	613 1206	2 1	615 1207
2 2	0 0	2 2	1 1	0 0	1 1	1 3	0 0	1 3	1 —	0 —	1 —	— 2	— 0	— 2	— 3	— 0	— 3	9 20	0 0	9 20
88 83	0 0	88 83	63 97	0 1	63 98	132 116	1 0	133 116	47 69	1 0	48 69	93 113	0 0	93 113	99 111	0 0	99 111	1068 1242	2 1	1070 1243
171	0	171	160	1	161	248	1	249	116	1	117	206	0	206	210	0	210	2310	3	2313

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
10	0	10	46	0	46	53	0	53	8	0	8	8	0	8	43	0	43	331	0	331
50	1	51	42	0	42	53	0	53	31	0	31	42	0	42	58	0	58	499	2	501
60	1	61	88	0	88	106	0	106	39	0	39	50	0	50	101	0	101	830	2	832

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
7	1	8	3	0	3	9	0	9	4	0	4	3	0	3	4	0	4	55	1	56

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
23	0	23	77	0	77	48	0	48	4	0	4	12	0	12	26	1	27	332	1	333

昭和53年度輸入食品検査

区分		4 月				5 月				6 月				7 月				8 月				9 月			
		合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計
農 産 物	東京	10	—	1	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[8] 8
	大阪	7	2	—	9	3	1	—	4	12	1	—	[2] 15	3	2	—	5	—	—	—	[1] 1	3	—	—	[1] 4
水 産 物	東京	—	3	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	27	2	—	29	40	—	—	40	—	—	—	—
	大阪	8	1	—	[13] 22	—	—	—	[8] 8	7	—	—	[21] 28	2	—	—	2	5	2	—	7	13	—	—	[5] 18
畜 産 物	東京	12	1	—	13	60	6	—	[26] 92	47	—	12	59	26	5	—	31	13	—	—	13	70	4	—	74
	大阪	1	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
かんびん詰類	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	2	—	2	5	—	—	[4] 9	—	—	—	—
添 加 物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒 精 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	6	12	—	18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	2	—	—	—	—
清 涼 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
その他の飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	2	3	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器具・容器包装 おもちゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	5	—	—	[3] 8	—	5	—	[5] 10	3	10	—	[1] 14	—	—	—	[1] 1	—	—	—	—	—	—	—	—
上記いずれにも 属さないもの	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	5	3	—	8	—	—	—	—	5	7	—	12	6	—	—	[5] 11	2	—	—	2	—	—	—	—
東 京 大 阪	東京	22	4	1	27	60	6	—	[26] 92	47	—	12	59	53	7	—	60	53	—	—	53	70	4	—	[8] 82
	大阪	32	19	—	[16] 67	3	6	—	[13] 22	31	22	—	[24] 77	11	4	—	[6] 21	13	3	—	[5] 21	16	—	—	[6] 22
計	東京	54	23	1	[16] 94	63	12	—	[39] 114	78	22	12	[24] 136	64	11	—	[6] 81	66	3	—	[5] 74	86	4	—	[14] 104
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

〔 〕 印内数字は無判定

品目別月別判定別件数実績表

10 月				11 月				12 月				1 月				2 月				3 月				合 計			
合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計
—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	—	3	[8] 21			
6	—	—	[1] 7	24	—	—	24	4	5	—	9	1	1	—	[1] 3	3	—	—	[2] 5	5	—	—	[3] 8	71	12	—	[11] 94
—	—	—	—	28	—	11	39	39	—	9	[1] 49	—	—	—	—	—	—	—	—	51	—	1	52	185	521	—	[1] 212
8	5	—	13	25	3	—	28	—	—	—	[4] 4	1	—	—	1	13	—	—	13	3	—	—	3	85	11	—	[51] 147
114	3	—	117	27	7	—	34	23	6	17	46	—	—	—	—	—	—	—	[7] 7	6	—	—	6	398	32	29	[33] 492
8	—	—	8	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	12	—	—	12
—	—	—	—	—	—	5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	5
3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	3	—	[4] 15
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	3	3	1	—	4
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	[9] 12	1	3	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	—	4	4	—	—	4	17	18	—	[9] 44
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	5	1	3	—	4	6	5	—	11
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	1	—	—	1	—	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	3	—	5	5	8	—	13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	8	3	—	[1] 12	8	6	—	[2] 16	2	5	—	7	—	—	—	—	26	29	—	[13] 68
—	—	—	—	—	—	—	[4] 4	4	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[6] 6	4	—	—	[10] 14
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18	10	—	[5] 33
114	3	2	119	55	7	16	[4] 82	66	6	26	[1] 99	—	—	—	—	—	—	—	[7] 7	57	—	1	[6] 64	597	37	58	[52] 744
28	5	—	[10] 43	52	7	—	59	12	10	—	[5] 27	10	7	—	[3] 20	25	7	—	[2] 34	18	7	—	[3] 28	251	97	—	[93] 441
142	8	2	[10] 162	107	14	16	[4] 141	78	16	26	[6] 126	10	7	—	[3] 20	25	7	—	[9] 41	75	7	1	[9] 92	134	134	58	[145] 1,185

昭和53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	32	117	219	23	8	16	0	117	0	14	55	6	607
大 阪	0	0	83	0	10	0	0	0	0	0	0	0	93
計	32	117	302	23	18	16	0	117	0	14	55	6	700

昭和53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	732	97	829
大 阪	30	0	30
計	762	97	859

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	7,900 ^円	アスコルビン酸散, 同注射液, 注射用コルチコトリピン, 持続性コルチコトリピン注射液の定量法
2	安息香酸エストラジオール	20mg入 1本	6,900	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	7,600	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	6,500	エストラジオールの純度試験
5	塩酸チアミン	200mg入 1本	7,900	塩酸チアミン, 同散, 同注射液, 乾燥酵母の定量法
6	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	9,200	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	8,400	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	5,500	ジゴキシン, 同錠, 同注射液の純度試験
9	血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	17,100	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	6,600	酢酸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
11	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	3,100	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	4,500	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	6,900	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	6,600	ジギタリス, 同末の定量法
15	ジギトキシン	50mg入 1本	9,700	ジギト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	10,200	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	5,100	エピネフリン, 酒石酸水素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	5,700	エピネフリン, 酒石酸水素ノルエピネフリンの純度試験, 同注射液の定量法
19	G-ストロファンチン	100mg入 1本	10,500	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	16,000 ^円	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	4,300	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	11,100	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	トロロンビン	500単位入 2本	12,600	トロロンビンの定量法
24	ニコチン酸	500mg入 1本	6,300	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	6,700	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	4,300	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	3,100	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	3,100	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	バラアミノベンゾイルグルタミン酸	500mg入 1本	11,100	葉酸の純度試験
30	ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	6,300	ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験
31	ブレドニゾロン	100mg入 1本	5,500	ブレドニゾロン、同錠の確認試験
32	プロゲステロン	10mg入 1本	7,000	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	11,000	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	6,700	マレイン酸エルゴメトリンの純度試験および定量法、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	メトトレキサート	200mg入 1本	12,500	メトトレキサートの確認試験および定量法
36	葉酸	500mg入 1本	7,400	葉酸、同錠、同注射液の定量法
37	ラナトシドC	100mg入 1本	11,600	ラナトシドCの純度試験および定量法、同錠の確認試験および定量法
38	リボフラビン	200mg入 1本	8,300	リボフラビン、同散、リン酸リボフラビンナトリウム、同注射液の定量法
39	硫酸プロタミン	100mg入 1本	10,300	イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
40	リン酸ヒスタミン	20mg入 1本	3,400	注射用コルチコトリピン、持続性コルチコトリピン注射液の純度試験
41	レセルピン	50mg入 1本	11,000	レセルピン、同散、同錠、同注射液の定量法

国 立 衛 生 試 験 所 標 準 品

	標 準 品 名	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	エ ス ト ロ ン	20mg入 1本	5,200	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	2,500	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	3,600	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	2,100	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	パ レ イ シ ョ デ ン プ ン	100 g 入 1本	10,500	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	7,600	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	9,400	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	4,300	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, ワニリン	各 1 g 入 6本	18,100	融点測定用温度計, 同装置の補正
10	リ ゾ チ ー ム	500mg入 1本	10,400	リゾチーム製品の定量法
11	ル チ ン	500mg入 1本	6,000	ルチン製品の定量法
12	アシッドバイオレット 6 B	1 g 入 1本	2,230	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 6 B の確認試験
13	ア シ ッ ド レ ッ ド	1 g 入 1本	1,480	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	1 g 入 1本	1,640	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	1 g 入 1本	1,270	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	1 g 入 1本	1,700	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	1 g 入 1本	1,080	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	1 g 入 1本	1,190	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	1 g 入 1本	1,220	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 A B	1 g 入 1本	1,110	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 O B	1 g 入 1本	1,140	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 S S	1 g 入 1本	1,070	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 X O	1 g 入 1本	1,130	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	1 g 入 1本	1,200	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	1 g 入 1本	1,650	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	1 g入 1本	1,970	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	1 g入 1本	1,090	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	1 g入 1本	1,270	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	1 g入 1本	1,470	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	1 g入 1本	1,400	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	1 g入 1本	1,320	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	1 g入 1本	1,070	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	1 g入 1本	1,270	食品、医薬品、化粧品および製剤中のニューコキシンの確認試験
34	パーマネントオレンジ	1 g入 1本	1,330	外用医薬品、化粧品および製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
35	ハンサエロー	1 g入 1本	1,320	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	1 g入 1本	2,840	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	1 g入 1本	1,860	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	1 g入 1本	2,180	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	1 g入 1本	1,370	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	1 g入 1本	1,270	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	1 g入 1本	1,210	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	1 g入 1本	1,170	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	1 g入 1本	1,190	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	リソールルビン BCA	1 g入 1本	1,230	外用医薬品、化粧品および製剤中のリソールルビンBCAの確認試験
45	レーキレッド C	1 g入 1本	1,230	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	1 g入 1本	1,370	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	1 g入 1本	1,370	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	1 g入 1本	1,190	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53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	166	61	176	0	51	
安息香酸エストラジオール	43	0	10	0	33	
インシュリン	98	0	27	5	66	
エストラジオール	42	0	3	0	39	
エストロン	47	0	0	0	47	
塩酸チアミン	95	400	483	0	12	
塩酸チアミン液	0	97	12	0	85	
塩酸ピリドキシン	32	170	155	0	47	
含糖ベプシン	28	44	22	0	50	
ギトキシシン	41	0	1	0	40	
血清性性腺刺激ホルモン	58	60	16	0	102	
酢酸コルチゾン	32	0	8	0	24	
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	53	0	33	0	20	
酢酸プレドニゾロン	22	0	3	0	19	
シアノコバラミン	159	200	195	0	164	
ジエチルスチルベストロール	14	0	0	0	14	
ジギタリス	43	0	0	0	43	
ジギトキシシン	15	70	70	2	13	
ジゴキシシン	14	69	56	1	26	
酒石酸水素エビネフリン	0	0	0	0	0	
酒石酸水素ノルエビネフリン	1	0	0	0	1	
G-ストロファンチン	42	0	5	0	37	
胎盤性性腺刺激ホルモン	58	0	34	0	24	
チロジン	186	0	112	0	74	
デスラノシド	9	37	10	0	36	
トロンビン	14	50	21	0	43	
ニコチン酸	69	0	14	0	55	
ニコチン酸アミド	149	0	77	0	72	
脳下垂体後葉	13	60	34	2	37	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	51	0	9	1	41	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	83	0	8	1	74	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	27	0	8	0	19	
パレイショデンプン	0	0	0	0	0	
ヒアルロニダーゼ	17	0	7	0	10	
ビタミンA油	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	68	0	15	2	51	
プレドニゾロン	16	50	25	0	41	
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	33	0	2	0	31	
ヘパリンナトリウム	50	100	116	8	26	
マレイン酸エルゴメトリン	152	0	114	0	38	
融点測定用	3	50	15	0	38	

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
葉酸	162 ^個	0 ^個	30 ^個	0 ^個	132 ^個	
ラナトシドC	3	51	13	0	41	
リゾチーム	19	203	172	0	50	
リボフラビン	162	200	252	0	110	
硫酸プロタミン	21	0	6	0	15	
リン酸ヒスタミン	90	0	59	0	31	
ルチン	18	50	18	0	50	
レセルピン	26	93	48	0	71	
メトトレキサート	0	0	0	0	0	
計	2,544	2,115	2,494	22	2,143	

(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	売却数量	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 6 B	149個	0個	3個	0個	146個	
アシッドレッド	46	0	9	2	35	
アゾルビンエキストラ	156	0	2	0	154	
アマランス	0	0	0	0	0	
インジゴ	160	0	3	0	157	
インジゴカルミン	70	0	8	0	62	
エオシン	157	0	3	0	154	
エリスロシン	78	0	9	0	69	
オイルエロー A B	291	0	3	0	288	
オイルエロー O B	300	0	3	0	297	
オイルオレンジ S S	300	0	3	0	297	
オイルレッド X O	282	0	3	0	279	
オレンジ I	349	0	3	0	346	
オレンジ II	188	0	5	0	183	
ギネアグリーン B	146	0	3	0	143	
サンセットエロー F C F	3	0	3	0	0	
タートラジン	7	0	6	1	0	
テトラクロルテトラブロム フルオレセイン	181	0	4	0	177	
テトラブロムフルオレセイン	149	0	5	0	144	
トルイジンレッド	102	0	2	0	100	
ナフトールエロー S	251	0	10	1	240	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマネントオレンジ	64	0	3	0	61	
ハンサエロー	98	0	2	0	96	
ファストグリーン F C F	136	0	8	0	128	
ファストレッド S	221	0	1	1	219	
ブリリアントブルー F C F	54	0	19	0	35	
フルオレセイン	216	0	3	0	213	
フロキシソ	475	0	9	1	465	
ボンソー R	285	0	2	0	283	
ボンソー S X	230	0	3	0	227	
ボンソー 3 R	241	0	3	1	237	
リソールルビン B C A	400	0	4	0	396	
レーキレッド C	415	0	4	0	411	
レーキレッド C B A	153	0	4	0	149	
レーキレッド D B A	180	0	3	0	177	
ローズベンガル	40	0	9	0	31	
計	6,573	0	167	7	6,399	

衛生試験所報告への投稿について

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）及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：所員の調査又は研究を中心とした総説で、図書委員会が執筆を依頼したもの。
3. 用紙及び枚数の制限：衛生試験所所定の下記用紙を用い、原則として下記の規定に従う。
 報 文：図表を含めて20枚以内。
 ノート及び資料：図表を含めて15枚以内。
 誌上発表：1題目について1枚程度。
 業務報告：各部及び各薬用植物栽培試験場について8枚以内。
 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
4. 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書し、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否及び分類を決定する。又、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。
 なお、外国文はタイプライター（ダブルスペース）で打つこと。
2. 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない。例えば塩酸と書き、 HCl としない。又、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：次の例示のほかは学会の慣例に従う。又、物質名あるいは分析法などを略記するときは、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー (DTA-GC) と書き、(以下 INA と略す) などとしない。

3・1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

テ	ラ (tera)	10^{12}	T	ミ	リ (milli)	10^{-3}	m
ギ	ガ (giga)	10^9	G	マイクロ (micro)	10^{-6}	μ	
メ	ガ (mega)	10^6	M	ナ	ノ (nano)	10^{-9}	n
キ	ロ (kilo)	10^3	k	ピ	コ (pico)	10^{-12}	p
デ	シ (deci)	10^{-1}	d	フェムト (femto)	10^{-15}	f	
セ	ンチ (centi)	10^{-2}	c	ア	ト (atto)	10^{-18}	a

3・2 物理量、化学量、物性などの単位及び定数の記号又は略号は、次に掲げるものを用いる。

メートル	m	度(セルシウス)	°	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	(℃としない)		モル濃度	M
ナノメートル	nm	ケルビン度	K	規定濃度	N
(mμ を用いない)		キュリー	Ci	旋光度	α
オングストローム	Å	カウント毎分	cpm	吸光度	A
平方メートル	m ²	(cps は用いない)		水素イオン指数	pH
アール	a	ラ ド	rad	pK 値	pK
リットル	l	レ ム	rem	ミハエリス定数	K _m
(L を用いない)		レントゲン	R	R _f 値	R _f
ミリリット	ml	サイクル	cycle	保持時間	t _R
(cc を用いない)		回毎分	rpm	50%致死量	LD ₅₀
マイクロリットル	μl	ヘルツ	Hz	50%有効量	ED ₅₀
(λ を用いない)		キャンデラ	cd	経口投与	p. o.
立方メートル	m ³	ルクス	lx	静脈投与	i. v.
グラム	g	ダイン	dyn	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	気 圧	atm	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		ト ル	Torr	筋肉投与	i. m.
時	hr	水銀柱ミリメートル	mmHg	標準偏差	S. D.
分	min	毎センチメートル (カイザー)	cm ⁻¹	標準誤差	S. E.
秒	sec	融 点	mp		
(時間は複数でも s をつけない)		分解点	dp	紫外吸収	UV
アンペア	A	沸 点	bp	赤外吸収	IR
ボルト	V	凝固点	fp	核磁気共鳴	NMR
オーム	Ω	比 重	d	電子スピン共鳴	ESR
ガウス	G	屈折率	n	旋光分散	ORD
エルステッド	Oe	重量パーセント	%	円偏光二色性	CD
ジュール	J	容量/重量パーセント	v/w%	マスペクトル	MS
カロリー	cal	parts per million	ppm		

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。但し、成語となっている数字は漢字とする。

6. 字体の指定: 黒鉛筆で次のように記す。

ゴ シ ッ ク 体~~~~	例: 見出しなど	試薬
イ タ リ ッ ク 体——	例: 学名など	<i>Papaver somniferum</i> L.
スモールキャピタル --	例: 著者名など	Masato <u>ASAHI</u> NA

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: 次の例に従い、表紙(用紙1枚全部)をこれに当てる。

例:

医薬品の確認試験法に関する研究(第2報)

鎮痛剤のクロマトグラフィー

用賀 衛・世田一郎・東 京子

Studies on the Identification of Drugs. II

Chromatographic Methods for the Analgesics

Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英文要旨：論文の内容を簡潔にまとめ、タイプライターで打つ。参考のため別紙に書いた和文を文献の次に添える。

7・4 本文：新しいページから書き始める。本文のスタイルは特に規定しないが、内容の重複を避ける。凸版にする図、又は原稿用紙に書き切れない表がある場合、それらのそう入位置に若干の余白を設け、図表の番号を明記する。

7・5 文献：本文の引用箇所の右肩に^{3), 2, 5), 1-4)}のように記し、終わりに文献として引用順に書く。

雑誌名は Chemical Abstracts 及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表し、単行本は書名を省略しない。

例：

- 1) 神蔵美枝子, 谷村顕雄：衛生試報, 88, 112 (1970)
- 2) 菅野三郎ら：衛生化学, 17, 19 (1971)
- 3) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)
- 4) A. White *et al.*: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York
- 5) 佐々木慎一：マスペクトル解説, p. 61 (1967) 広川書店
- 6) USP XVIII, p. 321
- 7) JIS K 1234 (1970)

7・6 図表：図又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が青色方眼紙に黒インク又はすみで書き、図中の数字、記号又は説明などの文字は黒鉛筆で記す。図の大きさは原則として原稿用紙 1/2 枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書く。

図の番号は Fig. 1., Fig. 2., ……とし、表題、説明はともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き（資料の場合はこの限りでない）、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例：

Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図及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、並びに図、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：題名の次に改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。更に改行して論文の要旨のみに記す。

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

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。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。

国立衛生試験所図書委員会

昭和 54 年度 図 書 編 集 委 員

鈴 木 郁 生	川 村 次 良	石 居 昭 夫
末 吉 祥 子	齊 藤 恵美子	木 村 俊 夫
永 松 国 助	佐 竹 元 吉	中 村 晃 忠
安 藤 正 典	関 田 寛	川 崎 洋 子
石 関 忠 一	南 原 精 一	松 本 清 司
川 島 邦 夫	小久保 武	林 真
岡 恒	畠 山 好 雄	

衛 生 試 験 所 報 告 第 97 号

昭和 54 年 10 月 15 日 印 刷
昭和 54 年 10 月 20 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 2-21-8