



衛生試験所報告

第 98 号

昭和 55 年

**BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES**

No.98 1980

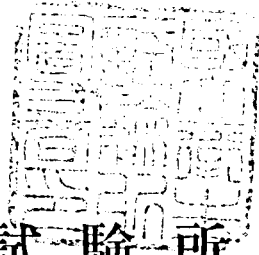
国立衛生試験所

衛生試験報

Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試報98号正誤表

ページ	位置, 行	誤	正
I	目次上, 10	斉藤	斉藤
II	" , 7	斉藤	斉藤
"	" , 10	(HBC)	(HCB)
"	" , 11	斉藤	斉藤
6	図2. 右上, 3	Sodium etythorbate	Sodium erythorbate
11	表10. 上, 20	N- <i>i</i> -Butyl-	N-Propyl-
"	" , 23	N-Propyl-	N- <i>i</i> -Butyl-
41	上, 17	chlorophyll	chlorophyll
51	Fig. 1. 下, 2	food consum	food consum-
53	Table 3. 上, 11	(0.9±1.9)	(9.9±1.9)
54	Table 4. 上, 12	23.45 ±3.60	23.85 ±3.60
58	左上, 5	1×10 ⁵ dpm/80 μmol/0.025ml	1×10 ⁵ dpm/80 n mol/0.025ml
"	Fig. 1. 左上, 10	NMR(CDCl ₂ , δ)	NMR(CDCl ₃ , δ)
"	" 右上, 11	(>OH, br)	(-OH, br)
68	右下, 11	迅速細菌	迅速滅菌
"	" 3	Hayashi	Hayatsu
69	右上, 19	Nature, 233, 5320.	Nature, 233, 5320(1971)
99	左下, 10	ヨオ素イオン	ヨウ素イオン
"	Table 5. 上, 1	Effect o salt	Effect of salt
107	上, 18	varnished	varnishes
"	" , 20	rat and mice	rats and mice
118	Table 1. 下, 15	CA	Ca
128	Fig. 5. 下, 1	Chart speed: 2.5cm/min	Chart speed: 2.5mm/min
133	左上, 1	アルデヒド	アルカロイド
134	上, 6	the latter	the latter of which
138	上, 17	(HBC)	(HCB)
139	柱	(HBC)	(HCB)
141	"	(HBC)	(HCB)
143	"	(HBC)	(HCB)
144	上, 14	<i>S. tanana rive</i>	<i>S. tananarive</i>
"	左下, 10	する必要がある.	することである.
146	Fig. 1. 中の単位	μg/ml	MIC(μg/ml)
173	左下, 7	当初	当所
"	右上, 13	行えないような業務	行えないような重要な業務
"	右下, 2	45814m ³	45814m ²
184	右上, 12	食品と生態系内	食品を生態系内
190	左上, 17	ポリリジン	ポリリジン
196	右下, 7	リシンロ	リシンD
201	左上, 9	2585.86m ³	2585.86m ²
"	右上, 10	比較高含量	比較的高含量
208	左下, 15	利酸剤	制酸剤
"	右下, 2	より多く酸化される	更に酸化される
209	左上, 2	スルピリン 液中	スルピリン溶液中
212	右上, 5	Usings	Using
217	左上, 15	20030~20049	2.0030~2.0049
218	左上, 1	CHCl ₃ -MeOH(97+3)	CHCl ₃ -MeOH(97+3)
"	左上, 17	(LOP)	(LPO)
223	左下, 12	Some 1-Alkyl-Nitrosoureas	Some 1-Alkyl-1-Nitrosoureas
"	右上, 5	alkyl- ¹⁴ C 基の核酸への結合は EBNU や MNU の10分の1以下,	alkyl- ¹⁴ C 基の核酸への結合は EBNU や MNU において高かった。しかし ENU では MNU の10分の1以下,
225	左上, 2, 3	Donr yu	Donryu
"	右上, 10	1-Propyl-1-nitros-ourea	1-Propyl-1-nitroso-urea
"	右下, 2	間葉の状態の大きな	間葉の状態が大きな
226	左上, 20	染色性レベル	染色体レベル
245	右上, 5	木下孝三*	木下孝三*
248	左上, 3	第215回(昭和55年12月12日)	第215回(昭和55年2月12日)
252	右上, 14	内容固型医薬品	内容固形医薬品



衛生試験所報告

第 98 号

昭和 55 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 98 1980

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説

生活関連化学物質に関する変異原性試験の現状とその評価……………石館 基…… 1

報 文

- 医療用具の放射線滅菌に関する研究(第6報) γ 線照射による人工腎臓用ダイアライザーの化学的影響と血液透析能並びに滅菌効果について
……………辻 楠雄・新谷英晴・菊池 寛・水町彰吾・柳町きみゑ・栗栖弘光・倉田 浩・大場琢磨……21
- 室内空気汚染に関する研究(第1報) 大規模建築物内における窒素酸化物濃度について
……………松村年郎・樋口英二・村松 学・谷村顕雄・亀谷勝昭・河上一美……26
- 蜂蜜中の中毒原因物質の検索……………齊藤行生・光染昭雄・佐々木久美子・佐竹元吉・内山 充……32
- 輸入牛肉エキスの微生物叢について……………小沼博隆・高山澄江・河西 勉・鈴木 昭……36
- クロレラ錠による光過敏性皮膚障害に関する実験的研究……………関田清司・降矢 強・川崎 靖
……………松本清司・萩埜恵子・落合敏秋・天野立爾・池 慶子・内山 充・戸部満寿夫……41
- Tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate 妊娠期投与のラット胎仔及び出産仔に及ぼす影響
……………川島邦夫・田中 悟・中浦慎介・長尾重之・小野田欽一・粕谷 豊・大森義仁……50
- Hexobarbital radiometry の開発とその応用
……………井上和秀・溝上敬之助・簾内桃子・高仲 正・粕谷 豊・大森義仁……56
- F-344 ラットにおける次亜塩素酸ナトリウムの癌原性試験実施にあたっての予備試験(急性毒性・亜慢性毒性)の成果について……………古川文夫・倉田 靖・小久保 武・高橋道人・中館正弘……62
- チラム(Tetramethylthiuram Disulfide)の癌原性試験実施にあたっての予備試験(亜慢性毒性)の成果について……………倉田 靖・古川文夫・小久保 武・高橋道人・中館正弘……69
- Pyrogen Test と Limulus Test の相関性II ………………加納晴三郎・川崎浩之進……76
- 家兔におけるサルファ剤の血中濃度とそれに及ぼす発熱物質の影響……………吉田 稔・伊丹孝文・加納晴三郎……81

ノ ー ト

- 酵素製剤の定量試験(その1) リゾチーム製剤……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……87
- 酵素製剤の定量試験(その2) プロメライン製剤……………谷本 剛・福田秀男・川村次良……91
- ラットの老化及び四塩化炭素中毒肝における脂質過酸化傾向と脂肪酸構成の変化
……………三原 翠・近藤龍雄・内山 充……94
- チェリー中の総臭素の定量法の検討……………鈴木 隆・武田明治・内山 充……97
- 溶媒抽出—フレイムレス原子吸光法による粉乳中のカドミウム及び銅の分析
……………鈴木 隆・武田明治・内山 充……102
- プラスチックに関する衛生化学的研究(第4報) 2,4-トルエンジアミンのボルタンメトリー・高速液体クロマトグラフィー及び窒素・リン検出器付ガスクロマトグラフィーによる分析法の検討……………辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄……107
- プラスチックに関する衛生化学的研究(第5報) ABS樹脂とAS樹脂からのアクリロニトリルの長期溶出試験……………辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄……110
- 実験動物の血清生化学値IV 前処置による血清生化学値の変動……………鈴木幸子・齊藤 実・中路幸男……116

資 料

- 合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍効果(IV)
……………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・(故)小田嶋成和……123

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“酢酸コルチゾン標準品（Control 741）”について	太田美矢子・木村俊夫・川村次良…	125
国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“マレイン酸エルゴメトリン標準品（Control 751）” について.....	太田美矢子…	129
国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“レセルピン標準品（Control 761）”について	太田美矢子…	132
輸入パーボンウィスキー中のフタル酸エステル類.....	齊藤行生・武田明治・内山 充…	134
マヨネーズ、マーガリン及びショートニングの規格基準に関する検討.....	三原 翠・近藤龍雄・内山 充…	135
食品中の残留農薬の分析に関する研究（第30報） 食品及び飲料水中に残存するヘキサクロロベ ンゼン（HBC）のガスクロマトグラフィー・質量分析法による確認	関田 寛・武田明治・齊藤行生・内山 充…	138
輸入食肉由来サルモネラの抗生物質感受性について（その3） 昭和51年～昭和53年度分離株の 成績について.....	河西 勉・鈴木 昭・小沼博隆…	144
医薬品の溶出試験法に関する研究（第4報） 市販シンナリジン製剤の溶出結果について	辻 澄子・伊阪 博・持田研秀…	148
Detection and Identification of Blue Dye Adsorbed on Frozen Tetrodon (<i>Fugu rubripes</i> <i>chinensis</i>)	Y. TONOGAI, Y. ITO and M. IWAIDA…	152
種子島自生植物目録.....	鍋木紘一・高城正勝…	154
業務報告.....		173
誌上发表.....		207
学会発表.....		236
衛試例会.....		246
昭和54年度に行った主な研究課題.....		252
国家検定、国家検査などの試験状況報告.....		255
国立衛生試験所標準品.....		263

CONTENTS

Review

- M. ISHIDATE, Jr., K. YOSHIKAWA and T. SOFNI: Recent Aspects of Mutagenicity Tests on Chemicals in our Environment 1

Originals

- K. TSUJI, H. SHINTANI, H. KIKUCHI, S. MIZUMACHI, K. YANAGIMACHI, H. KURISU, H. KURATA and T. OBA: Radiosterilization of Medical Products VI. Studies on Changes of Chemical Properties and Dialysance of Hemodialyzers Irradiated by the Gamma Ray of ^{60}C and on the Sterilization Effects21
- T. MATSUMURA, E. HIGUCHI, S. MURAMATSU, A. TANIMURA, K. KAMETANI and H. KAWAKAMI: Studies on Indoor Air Pollution 1. The Concentration of Nitrogen Oxides in Air in Large Buildings26
- Y. SAITO, A. MITSURA, K. SASAKI, M. SATAKE and M. UCHIYAMA: Detection of the Poisonous Substances in the Honey which Caused the Intoxication32
- H. KONUMA, S. TAKAYAMA, T. KAWANISHI and A. SUZUKI: Microbialflora of Beef Extract Imported from Australia, Uruguay, Italy and Brazil36
- K. SEKITA, T. FURUYA, Y. KAWASAKI, K. MATSUMOTO, K. HAGINO, T. OCHIAI, R. AMANO, K. IKE, M. UCHIYAMA and M. TOBE: Experimental Study on Photosensitized Skin Lesions to Ingestion of Chlorella Tablet41
- K. KAWASHIMA, S. TANAKA, S. NAKAURA, S. NAGAO, K. ONODA, Y. KASUYA and Y. OMORI: Effects of Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate on the Prenatal and Postnatal Developments of the Rats50
- K. INOUE, K. MIZOKAMI, M. SUNOUCHI, A. TAKANAKA, Y. KASUYA and Y. OMORI: Development of Hexobarbital Radiometry and Its Application56
- F. FURUKAWA, Y. KURATA, T. KOKUBO, M. TAKAHASHI and M. NAKADATE: Oral Acute and Subchronic Toxicity Studies for Sodium Hypochlorite in F-344 Rat62
- Y. KURATA, F. FURUKAWA, T. KOKUBO, M. TAKAHASHI and M. NAKADATE: Oral Subchronic Toxicity Test for Tetramethylthiuram Disulfide (THIRAM) in F344/Ducrj Rat69
- S. KANOH and H. KAWASAKI: Studies on the Relationship between Pyrogen Test and Limulus Test76
- M. YOSHIDA, T. ITAMI and S. KANOH: Effect of Bacterial Pyrogen on Plasma Concentrations of Sulfonamides in Rabbit81

Notes

- T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Assay of Enzyme Preparations (I) Lysozyme Preparations87
- T. TANIMOTO, H. FUKUDA and J. KAWAMURA: Assay of Enzyme Preparations (II) Bromelain Preparations91
- M. MIHARA, T. KONDO and M. UCHIYAMA: Alterations of Lipid Peroxidation and Fatty Acid Composition of Liver Mitochondria and Microsomes from Rats in Various Age Groups and Carbon Tetrachloride-Intoxication94
- T. SUZUKI, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Investigation of the Quantitative Analytical Method for Total Bromide in Cherry97

T. SUZUKI, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Analysis of Cadmium and Copper in the Powdered Milk Products by Solvent Extraction-Flameless Atomic Absorption Spectrometry	102
T. TATSUNO, T. INOUE and A. TANIMURA: Hygienic Chemical Studies on Plastics (IV) Analysis of 2,4-Toluene Diamine by High Performance Liquid Chromatography with Volutanmetry Detector and Gas-liquid Chromatography with Nitrogen-phosphorous Detector	107
T. TATSUNO, T. INOUE and A. TANIMURA: Hygienic Chemical Studies on Plastics (V) Migration of Acrylonitrile from Acrylonitrile-Butadiene-Styrene Copolymer and Acrylonitrile-Styrene Copolymer into Various Food Simulating Solvents in Long Period	110
S. SUZUKI, M. SAITO and Y. NAKAJI: Biochemical Values in Serum of Laboratory Animals IV. Variation of the Biochemical Values of Rat Serum due to the Differences of the Pretreatments	116

Technical Data

M. MIYAIHARA, S. KAMIYA, M. NAKADATE, S. SUEYOSHI, M. TANNO, M. MIYAHARA, A. MAEKAWA and the late S. ODASHIMA: Antitumor Effect of Compounds Synthesized in the Division of Synthetic Chemistry (IV)	123
M. OHTA, T. KIMURA and J. KAWAMURA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (Japanese Pharmacopoeia Standard) "Cortisone Acetate Reference Standard (Control 741)"	125
M. OHTA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Ergometrine Maleate Reference Standard (Control 751)"	129
M. OHTA: On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) "Reserpine Reference Standard (Control 761)"	132
Y. SAITO, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Phthalic Acid Esters in the Imported Bourbon Whisky	134
M. MIHARA, T. KONDO and M. UCHIYAMA: Studies on the Valuation of Peroxide Value and Acid Value of Mayonnaise, Margarine and Shortening for Establishing Food Standards	135
H. SEKITA, M. TAKEDA, Y. SAITO and M. UCHIYAMA: Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods XXX Identification of Hexachlorobenzene (HCB) Residue in Foods and Drinking Water by Gas Chromatography-Mass Spectrometry	138
T. KAWANISHI, A. SUZUKI and H. KONUMA: On the Antibiotic-Sensitivity <i>In Vitro</i> of Salmonellae Isolated from Imported Meats (III) Results of the Isolates in 1976 to 1978	144
S. TSUJI, H. ISAKA and K. MOCHIDA: Studies on the Dissolution Test of Drugs IV Results of the Dissolution on the Commercial Preparations of Cinnarizine	148
Y. TONOGAI, Y. ITO and M. IWAIDA: Detection and Identification of Blue Dye Adsorbed on Frozen Tetrodon (<i>Fugu rubripes chinensis</i>)	152
K. KABURAGI and M. TAKI: Flora of Tanegashima	154
Annual Reports of Divisions	173
Summaries of Papers Published on Other Journals	207
Titles of Speeches at Scientific Meetings	236
Seminars	246
Survey of the Results of National Tests	255
Refere Standards Prepared by National Institute of Higienic Sciences	263

生活関連化学物質に関する変異原性試験の現状とその評価

石館 基・吉川邦衛・祖父尼俊雄

Recent Aspects of Mutagenicity Tests on Chemicals in our Environment

Motoi ISHIDATE, Jr., Kunie YOSHIKAWA and Toshio SOFUNI

A battery of mutagenicity tests is a reliable and useful tool of the short-term toxicity tests for chemicals in our environment. Almost all carcinogens examined so far have been found to be positive in mutagenicity tests with microbial systems and in chromosome aberration tests with mammalian cells *in vitro*. Combining with rat microsome fraction (S9), these tests have been more effective for detection of mutagenicity in potential carcinogens requiring metabolic activation.

Nearly 400 chemicals have been tested for their mutagenicity in our laboratory for past 5 years. They consist of medical drugs, food additives, pesticides, cosmetic ingredients and other chemicals using in industries or laboratories. About 140 out of them were found to be positive in the chromosome test with Chinese hamster cells *in vitro*, and about 90 in the Ames test.

The chemicals which were positive in such primary tests, however, were not always positive in whole animal tests on carcinogenicity. Therefore, the establishment of quantitative estimation rather than qualitative one in mutagenicity tests seems to be necessary for the predictive evaluation of carcinogenicity and also genetic hazard of chemicals to man.

はじめに

最近の米国における調査によると、現在 CAS に登録されている化合物の数は 400 万余に達し、その数は一週間に平均 6000 箇所増加しているという¹⁾。われわれが日常接している化合物は約 48000 種類であるが、そのうち 5000 種のは年間生産量が 500 トンを越しているともいわれる。ちなみに、食品に加えられているものは 5500、医薬品類は 4000、家庭用品関係では少なくとも 1200 種の化合物が使用されている²⁾。近代工業国に生きるわれわれは、これらの種々化学物質を避けて通るわけにはいかない。幸い、これらの物質の多くは、人体に対してそれほど有害ではないが、そのうちのあるものは極めて有害であり、そのためにわれわれの健康がおびやかされている。アスベスト、砒素、あるいはビスクロロメチルエーテルなどによって誘発される肺癌の問題、ビニールクロライドによる血管肉腫の問題、アスベストによる中皮腫の問題、あるいは、ケボンや、ジプロモクロプロパンなどによって起る男性不妊の問題、更に、ケボン、メチル水銀、鉛、あるいは、メチルブチルケトンによる神経障害などは、特に労働衛生上の重要な問題である。

1975年、米国の環境変異原学会の特別委員会は、Science 誌上で環境中に存在する種々化学物質の危険性を勧告し、特に遺伝形質に影響を及ぼす物質に対する監視機構の重要性を力説した³⁾。ウイルスからヒトの細胞に至るまで、遺伝物質 DNA の基本構造と機能は共通しており、もしも DNA 障害がわれわれの生体を構成する体細胞に及べば癌の発生要因となり、また、生殖細胞に及べば子孫に影響を及ぼしうる遺伝的要因となる。そのためには微生物その他を用いる短期スクリーニング法の開発が極めて重要であることを指摘している。

本邦においては既に昭和47年に環境変異原学会が発足した。昭和50年度第80回通常国会において、労働安全衛生法の一部が改正され、新たに化学物質の有害性調査制度が設けられた。その一環として新規化学物質の有害性の調査に関する規定が定められ、昭和54年6月に施行された。これによって、新規化学物質を製造し、または輸入しようとする事業者は、原則として、微生物を用いる変異原性試験 (Ames テスト) を行う義務が課せられたことになる。現在、大半の企業では、既に、これらの規制に対処するため、技術の修得あるいは試験設備の拡張を急いでいる。

変異原性試験には次のような特性がある。第1に、時間と経費がかからず、短期間に多くの物質を対象とすることができる。第2に、生活関連物質のうちから、発癌性あるいは遺伝毒性を疑わしめる物質を選別しうる。第3に、より安全性の高い代替品の開発に役立つ。第4に、化学構造と遺伝物質との反応機構の解析、並びに、この反応を通じて逆に遺伝子本体の解明に役立つ。第5に、発癌過程の分子レベルでの解析、並びに、その促進物質、あるいは、抑制物質の究明に役立つ。

現在、変異原性物質のデータはかなり蓄積されつつある⁴⁾。またその試験法も多種であり、目的に応じてどのようなシステムを採用すべきかについては、本邦はもとより、諸外国においても、独自に検討が進められている⁵⁾。また、WHO、OECD などにおいては試験法の国際的統一化の試みがなされている。

本誌においては、変異原試験の概略、並びにその動向についてふれ、特に、過去数年間に渡り、当研究室で取扱った生活関連化合物に関する実験成績を中心として紹介する。

変異原性試験法の種類

変異原性試験法は、指標の選択によって次の3つに大別される⁶⁾。

1. 遺伝子突然変異

DNA の構造単位であるヌクレオチドの一对に変化を生じる場合を特に点突然変異 (point mutation) と呼ぶ。損傷を受けたDNAの修復型によって、更に、塩基交換型及びフレームシフト型に区別されている。Ames テスト⁷⁾で使用されているサルモネラ菌のうちTA 1535, TA 100などは前者によって変異を生じ、TA 1536, TA 1537, TA 1538, 及びTA 98などは後者によって変異を生じる。いずれも、ヒスタジンを要求性から非要求性(野性型)への復帰突然変異を指標としているため、一定量以上のヒスタジンを含む検体の場合には検索が困難となる。そのため、ストレプトマイシン(SM)依存性から非依存性への変異を指標とする方法もある⁸⁾。また、トリプトファン要求性を指標として大腸菌WP 2株に薬剤耐性プラスミド(R因子)pKM 101を導入した菌を用いることも可能である⁹⁾。本邦の労安法ではサルモネラ菌5種と大腸菌1種合計6種の菌についていずれも復帰変異を対象としているが、欠失型そのほかの変異をすべて捕えるためには、更に前進変異を指標とする必要性も指摘されている¹⁰⁾。上記の微生物試験のいずれの場合にも代謝活性化のために、ラットその他の動物のマикроゾーム

分画(S9)を併用する必要がある。

哺乳動物の培養細胞を材料として突然変異を検索する方法は一般に体細胞突然変異法と呼ばれている¹¹⁾。これには、遺伝的な背景がかなり知られており、材料として使い易いという点からチャイニーズ・ハムスター培養系細胞(CHOあるいはV79)をはじめ、マウスの白血球細胞(L 5178, L 1210, P 388)やハムスター腎細胞(BHK 21/13)などが好んで用いられている。変異の指標としては、栄養要求性、薬剤耐性、あるいは温度感受性などが挙げられるが、一般に8-アザグアニン、6-チオグアニン及びウワバインに対する抵抗性の発現を指標とする場合が多い。微生物の場合と同様、肝細胞から得られたS9分画を併用したり、また、肝細胞そのほかと同時に培養する方法によって代謝活性化を促進する工夫がなされている。発癌性物質についてはかなりのデータが蓄積しているが、多くの物質についてスクリーニングする上にはなお色々な問題が残されている。

動物個体を用いる方法として、ショウジョウバエを用いる伴性致死突然変異、カイコあるいはマウスを用いる特定座位試験法が知られている。特に後者の場合には、親動物に検体を投与し、交配後生まれた仔のなかから、親と異なった形質を持つ仔の出現率を求める。本試験で陽性となった場合は、狭義の遺伝毒性の証拠となりうるが、特にマウスを用いる場合にはかなりの動物数を必要とするため、あまり実用的ではない。このほか、遺伝子突然変異を指標とする方法には、細菌の代わりにバクテリオファージを用いる変異誘発法、溶原菌を用いるプロファージ誘発法、あるいはコリソン誘発法などがある。更に、真核細胞であることから、カビや、イーストを用いる検索法も開発されている。これらの手法の詳細については別書に譲りたい¹²⁾。

2. 染色体異常試験

染色体異常を指標とする検索には通常哺乳動物細胞が用いられるが、植物の根端細胞などを用いる方法¹³⁾も知られている。哺乳動物細胞の場合は、培養細胞を用いる*in vitro*法¹⁴⁾と骨髄細胞あるいは生殖細胞(特に精原、精母細胞)などを用いる*in vivo*法¹⁵⁾に分けられる。また、経胎盤法¹⁶⁾あるいは末梢血を用いる方法¹⁷⁾の如く、検体を生体に投与した後、胎児細胞あるいはリンパ球を改めて培養して検索する*in vivo-in vitro*法なども用いられている。培養細胞を用いる検索は最も簡便な方法であるが、微生物細胞と同様、検体の代謝活性化のためにS9 mixなどを併用する必要がある¹⁸⁾。使用する細胞の種類は問わないが、染色体数

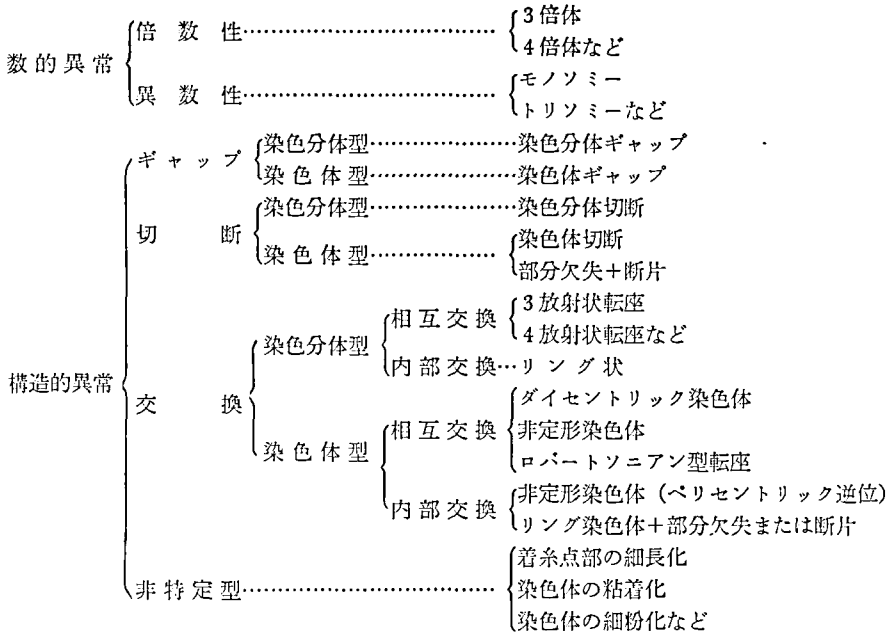


図 1. 主な染色体異常の種類 (高木：胎児毒性と遺伝毒性, 1975より)

も少なく、形も大きく、観察しやすいという点で、チャイニーズ・ハムスター細胞を用いるのが便利である¹⁹⁾。一般に、ヒトの細胞はチャイニーズ・ハムスター細胞に比較して感受性が低い傾向にある。

染色体異常は数の変化と形の変化に分けられる。放射線の場合には染色体型 (chromosome type) 及び染色分体型 (chromatid type) の構造異常が誘発されるが、化学物質の場合には一般に染色分体型を生じる²⁰⁾。数の異常では、モノソミー、トリソミーなどの異数体 (aneuploid) が出現する場合と、染色体数が倍化することによって倍数体 (polyploid) が出現する場合とがある。形態的 (構造的) 異常では、ギャップ、切断、交換、環状あるいは断片化などを中期分裂像で観察する (図 1)。架橋あるいは多極分裂の形で後期分裂像で観察する方法もある²¹⁾。

染色体異常を直接観察する代わりに、間接的にその結果を指標とする方法としてマウスの骨髄細胞を用いる小核試験がある²²⁾。この場合には、赤芽球の分化の過程で染色体異常を起こすと、脱核後の多染性赤血球内に小核が残存する。マウスあるいはラットを用いる優性致死試験もまた染色体異常に起因するものである^{23,24)}。この場合には、雄に検体を投与し、正常の雌と交配し、妊娠10—12日に開腹して、胎児数及び着床後死亡した受精卵 (脱落模種) との比率から優性致死率を求める。ショウジョウバエを用いる伴性劣性致死試験もかなり広く使用されているが、一般に芳香族

アミン類や多環炭化水素などの発癌物質にはかかりにくいといわれている²⁵⁾。

哺乳類の細胞は細菌の約 1000 倍の DNA を持ち、ヒトの遺伝子の数は約 3—10万の間と推定されている。大腸菌の遺伝子数は約 3000 であるから、DNA 量の増大と遺伝子の数は必ずしも平行していないが、染色体の切断あるいは融合は、直接 DNA の切断、融合に関係する。

3. DNA 損傷試験

DNA の損傷は細胞自らの酵素によって修復される。修復機構の違いによって障害除去型 (excision) と組み換え (recombination) に分かれる²⁶⁾。枯草菌を用いる Rec assay²⁷⁾は、組み換え欠損株を用いて、DNA 傷害性物質を選別するための有効な手段である。最近では、胞子を用いる改良法によって、代謝活性化、あるいは、ガス状物質に対する検索が可能となった²⁸⁾。哺乳動物培養細胞を用いる方法として不定期 DNA 合成法 (UDS)²⁹⁾ あるいは、中期染色体上で観察する姉妹染色分体交換法 (SCE)³⁰⁾ などがあげられる。前者は細胞を ³H-サイミジンで標識し、静止核上に出現してくる修復 DNA 合成能をオートラジオグラフで観察するものであり、後者は、染色体を構成する二本の染色分体間相互で起こった交換頻度を観察するものである。最近では、*in vivo* で臓器別に観察することも可能となった³¹⁾。いずれにせよ、DNA 損傷試験は、突然変異

表 1. 「食品添加物などの遺伝的安定性評価基準」として食品衛生調査会でまとめた試験項目の概略³³⁾

- I. 第1次スクリーニング
微生物を用いる諸試験
- II. 第2次スクリーニング
 - 1) 哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常
 - 2) ショウジョウバエを用いる伴性劣性致死カイクの特定座位
- III. 哺乳動物を用いる *in vivo* 試験
 - 1) 代謝活性化, 宿主経由法
 - 2) 生体内染色体異常
 - 3) 優性致死法
 - 4) 特定座位法
 - 5) 生体内運命

現象を直接とらえるものではないが、DNA 修復機構を指標として DNA に特異的に損傷を及ぼす物質を簡便に選別していくために有用な手段である。

方法論の比較及び結果の評価については、最近 Hollstein 及び McCann が *Mutation Res.* に総説を書いているので参考にされたい³²⁾。

試験法の国際動向

本邦では AF-2 問題を契機として、食品衛生調査会、毒性、食品添加物合同部会の手で、表 1 に示すような、「食品添加物の遺伝的安全性評価の暫定基準」が作成された³³⁾。この試験項目には、遺伝毒性を予測しうる重要な試験項目が含まれている。その基本的な考え方には、既に英国の Bridges らによって提唱されている段階システム³⁴⁾が取上げられている。ここでは第一次スクリーニングとして微生物を用いる検索、第二次スクリーニングとして哺乳動物培養細胞による染色体異常、及び昆虫による遺伝子突然変異試験を行い、更に次の段階として、哺乳動物個体を用いる 3 種の *in vivo* 検査法を行うよう提案されている。最後に、マウスによる特定座位法、薬物の生体内運命に関する検索も加えられている。変異原性試験の究極の目的は、ヒトへの影響である。したがって、まず、テストの対象となる検体が社会的にどの程度必要なものであるか、その用途及び代替品の有無を考慮した上で試験法の種類を増していくという姿勢は重要である。米国 EPA の毒物規制法 (TSCA)³⁵⁾ はわが国の「化審法」及び「労安法」を合わせた性格を持つものであるが、そこには生物学的試験として表 2 に示すような 12 種類の変異原性試験があげられており、そのうち 8 項目が要求されている。その後、発表された農業に関する規制 (FIF-

表 2. 米国 TSCA による変異原性試験項目³⁵⁾

- A. 変異原性 (突然変異性) 試験一次のうちの 3 項目が必要
 - i) バクテリア検出法—代謝活性化及び非活性化
 - ii) 有糸菌類検出法—代謝活性化及び非活性化
 - iii) 昆虫検出法
 - iv) 哺乳動物の培養細胞試験—代謝活性化及び非活性化
 - v) マウスを用いる特定座位試験法
- B. 染色体異常性試験一次のうちの 3 項目が必要
 - i) 哺乳動物の細胞の染色体異常試験 (*in vivo*)
 - ii) 昆虫の染色体異常試験
 - iii) けっ歯類を用いた優性致死法試験
 - iv) けっ歯類の遺伝子の転座 (位) 試験
- C. DNA 損傷試験一次のうちの 2 項目が必要
 - i) バクテリアの DNA 修復試験—代謝活性化及び非活性化
 - ii) 哺乳動物細胞の DNA 修復試験
 - iii) 酵母の遺伝子組み換え及び塩基対置換
 - iv) 哺乳動物細胞の染色体対の転換試験

RA)³⁶⁾にも同じ項目が採用されている。しかし、実際には、これらの項目すべてを満足すべきデータを企業側に要求することには多少無理があるとの反論もある。OECD では既に 1971 年より化学物質の規制問題について討議が進められているが、特に、ヒトあるいは環境に対する汚染を未然に防ぐため、各種毒性試験のガイドラインを作製中である。変異原性試験法については、今年の 10 月頃までにある程度の結論が出るようであるが、カナダ政府から出された基本的な考え方 (英国の考え方に似ている) は次のようなものである³⁷⁾。すなわち、変異原性の有無は単独な試験法で結論は得られないこと。試験項目は、大略、遺伝子突然変異、染色体異常、及び、DNA 損傷試験を基本とするものであるが、特に前二者の項目を必須試験項目に取上げている。ヒトが接触し得るすべての化学物質について、必ず変異原性のデータを要求する。まず第 1 に、微生物を用いる突然変異試験には、サルモネラ菌及び大腸菌を用いる検索を行う。染色体試験としては、哺乳動物培養細胞、あるいは、小核試験のような生体内の試験を行う。これらの 2 項目両者は同時に必要であり、その結果、社会的重要性を加味した上で、より高次の動物実験を行う。このためには、TSCA にうたわれているような他の試験項目が上げられている。上記のシステムは、主に遺伝毒性に焦点が向けられているが、発癌性を対象とする場合には、上記簡易試験のほか、

表 3. 食品添加物等の安全性評価指標としての変異原性試験(案)⁴⁰⁾

1.	細菌による遺伝子突然変異の検出 サルモネラ菌 大腸菌
2.	細菌の DNA 修復試験 (Rec assay) 枯草菌 (孢子)
3.	培養細胞による染色体異常試験 チャイニーズ・ハムスターその他
4.	生体内小核試験 マウスその他の哺乳動物
5.	優性致死試験 マウスあるいはラット

表 4. 厚生省がん研究「スクリーニング班」で配布された検体の種類及び数 (1973—1978年)

a)	日米で協力して行うもの	26
b)	医薬品及びその関連化合物	73
c)	食品添加物及びその関連化合物	51
d)	化粧品材料	37
e)	農薬及びその関連化合物	38
f)	工場・実験室内で使用されるもの	62
	検体別合計*	182

* a)～f)にわたって共通しているものを除いた総検体数

培養細胞を用いる形質転換 (cell transformation) 法³⁸⁾, あるいは体細胞突然変異法^{11, 39)}を用いる。形質転換法は特に腫瘍の発生に直接つながる方法として有効なものである。

わが国の厚生省がん研究班では、食品化学課の依頼によって、食品添加物などの安全性を評価するため試験法の基準⁴⁰⁾を作製中であるが、その一環として変異原性試験の最低基準を検討中である。米国 TSCA の試験項目から、わが国で実際に実施可能なもの、及び、実験結果がかなり多く蓄積しているものを取上げると表 3 の如くなる。これらの項目を段階的に行うべきか、また、並列的に行うべきかについてはまだ結論が得られていない。しかしながら OECD における基本方針に準ずるとすれば、1), 2)の項目を第一段階とし、その結果、他の項目に進む考え方が妥当のように思われる。試験項目の必要性は、検体の用途によっても異ってくるであろう。また、たとえ簡便法で陰性の結果が出ても、生産量が多く、社会的に必要性の高いものについては、動物個体を用いる高次の試験を行う必要がある。

表 5. 厚生省がん研究班で行われてきたスクリーニング試験項目*

I	微生物を用いる検索法
1.	微生物による修復試験
i)	枯草菌孢子 (rec ⁺ , rec ⁻) (代謝活性化を含む)
ii)	大腸菌 (WP 100, WP-2) (液体法, 固形法)
2.	微生物による突然変異試験
i)	サルモネラ菌 TA 100, TA 98, TA 1537 (代謝活性化を含む)
II	哺乳動物細胞を用いる検索法
1.	培養細胞による染色体異常試験 チャイニーズ・ハムスター (CHL, DON) (代謝活性化を含む) ヒト 2 倍体細胞 (HE 2144)
2.	培養細胞による SCE 試験 (DON, HE 2144)
3.	培養細胞による小核試験
4.	ラット骨髓細胞による染色体異常試験
III	昆虫を用いる変異原性試験
1.	カイコによる特定座位試験
2.	ショウジョウバエによる検索 (M-5 法)

* 年度によって実験方法あるいは材料が変わる場合もある

わが国の厚生省がん研究班⁴¹⁾では、1973年以来、発癌性物質の短期スクリーニング法の開発が行われてきた。既知発癌性物質及びその関連化合物、あるいは、社会的に重要と思われる生活関連諸物質を年間約30種類選び、それらを同時に全国の大学あるいは研究機関の班員に配布する仕組みになっている。検体の選別、純度の測定、配布に当たって特に当試験所スタッフの貢献は大きい。1973—1978年の間に配布された検体の種類及び検体数を表 4 に示す。また、1975年以降にスクリーニング班(河内班)で行われた試験項目を表 5 に示す。これらの試験いずれかで陽性となったもの、及び、社会的に重要と思われるものについて順位をつけ、翌年に第二のグループの発癌性テスト班(小田嶋班)に回される仕組みとなっている。ここでは、WHO⁴²⁾及び、米国の NCI⁴³⁾手法に準じたシステム⁴⁴⁾で年間約7検体についての発癌実験が開始される。発癌試験は、マウス及びラットで行われ、いずれかで陽性の場合には、発癌性ありと判定されるが、明確な結論を得るためには3年間を要する。したがって、現在、上記検体の一部だけが終了している段階である(後述)。

米国の NTP (National Toxicology Program)⁴⁵⁾では、国際環境変異原学会 (IEMS) の協力を得て、変異

原性試験が発癌性を予測できるかという問題について国際的共同研究を行っている⁴⁶⁾。近くそれらの調査結果が公表される予定である。一方、EPA では TSCA の規制に基づき、遺伝毒性に関するデータを評価するため、新しく Gene-Tox (Evaluation of Current Status Bioassay in Genetic Toxicology) 計画を発足した(1979)⁴⁷⁾。ここでは、米国の Oak Ridge 国立研究所にある環境変異原情報センター (EMIC) に集録された実験データ^{4,48)} の体系的評価を行っている。この活動によって、化合物の構造と変異原性、必要な試験項目の組合せ、あるいは、遺伝毒性と発癌性試験との相関性がより明確になってくるであろう。

同様な調査は、1977年に発足した国際変異原・がん原物質防護委員会 (International Commission for the Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens, ICPEMC)⁴⁹⁾でも行われている。このグループは環境化学物質の規制に対する勧告を目的とするものであるが、オランダの F.H. Sobels が代表となり、技術的開発を含める6つの小委員会から成っている。わが国からは杉村がんセンター所長が中央委員として加わっておられ、各小委員会には、田島弥太郎、近藤宗平、賀田恒夫、松島泰次郎の諸先生が参加しておられる。このグループは環境化学物質の規制に対する勧告を目的とするものだけに、Gene-Tox 計画とは対照的に、どちらかといえば化合物の方に焦点がおかれている。いずれにせよ、今後、環境化学物質の法的規制をどのように行っていくべきか、そのためにどの試験項目を採用すべきか、そして、得られた結果をどのようにヒトに外挿していくかなどの諸問題について国際的コンセンサスを得なければならぬ時期にきている。

変異原性と発癌性

ベンツピレンをはじめ発癌性物質の多くは代謝活性化を受けて生物活性を生ずる。in vitro による変異原性試験に、ラット肝マイクロゾーム分画 (S9) を併用することによって発癌性物質の大部分のものが Ames テスト陽性となったことは大きな発展であった。発癌性の知られているもの、発癌性がないといわれているもの、及び、発癌性がまだ不明であるものについて、それぞれ別々の研究者によって行われた Ames テストの結果を定性的に比較すると表 6 の如くなる⁵⁰⁾。これによると、発癌性物質のうち Ames テストで陽性となったものは McCann らで 89.7%、Purchase らで 91%、杉村らで 85%となる。ただし、これらの比率は、実験者がどういふ種類の発癌剤をテストしたかで多少

表 6. 変異原性と発癌性との定性的比較⁵⁰⁾

発癌性	Ames テスト	M:Cann ら	Purchase ら	杉村ら
+	+	157	53	136
+	-	18	5	24
-	-	94	58	60
-	+	14	4	21
?	+			178
?	-			207

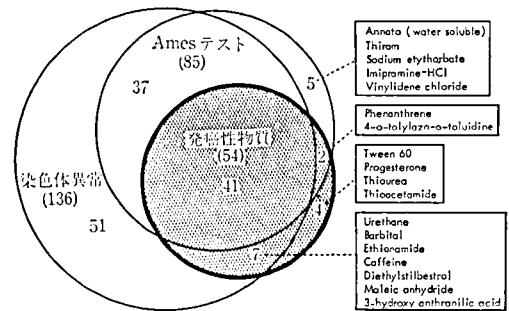


図 2. 発癌性と Ames テスト及び染色体異常誘発性との相関 (定性的)

異なるはずである。われわれの研究室で行ったチャイニーズ・ハムスター培養細胞による染色体異常の成績によると発癌性物質 54 のうち陽性となったものは 48 (89%) であり、Ames テストでは 43 (80%) であった。両者の試験成績を合わせると 93% という高い値となる。われわれは現在までに約 400 種類の化合物をスクリーニングしてきた。そのうち、染色体異常を誘発したものは 136 種類、Ames テストで陽性であったものは 85 種類であった。両者が共に陽性であったものは 78 種類であった。染色体試験のみが陽性で Ames テストは陰性のものもかなり多いが、そのうちには 7 種類の発癌性物質が含まれていた。発癌性物質とされながら、両試験でともに陰性となったものも 4 種類存在した。以上の定性的な結果を模式的に示すと図 2 の如くなる。

発癌性物質のスクリーニングを目的とする場合には、その試験法でどの位の発癌性物質を逃すか (false negative) が問題となる。染色体試験の場合には Ames テストよりも多くの物質を拾う傾向 (false positive) があるが、発癌性物質を逃していないという点、すなわち、図 2 の中で発癌性物質の輪を含んでいるという点で、両者ともにスクリーニング法として満足すべきものと思われる。

従来、変異原性試験のいずれかの項目で陽性となり、

表 7. 変異原性が知られ、その後発癌性が確認された化合物⁵¹⁾

化 合 物	変異原性試験実験者(年号)	発癌性試験実験者 (年号)
MNNG	Mandel (1960)	杉 村 (1966)
AF-2	外 村 ほ か* (1973)	池 田 (1974)
Methylnitrosocyanamide	遠 藤 (1973)	遠 藤 (1974)
Captan	Bridges (1972)	NIH (1977)
Phenacetin	石 館 (1974)	井 坂 (1978)
Barbital	石 館 (1975)	松 山 (1978)
Hydralazine	矢 作 ほ か* (1976)	Toth (1978)
Nitroquinoline	長 尾 (1977)	高 橋 (1978)
Tris-BP (TDBPP)	Rosenkranz (1977)	Van Duuren (1978)
Trp-P-1	杉 村 (1977)	高 山 (1978)
Hydrogen peroxide	石 館 (1976)	伊 藤 (1980)

* 他の研究室でも同時に同様な結果が得られた。

その後、長期動物実験で発癌性が実証されたものを上げると表 7 の如くなる⁵¹⁾。表中、AF-2 は最初 1973 年に東京医科歯科大学の外村教授のもとでヒトの細胞に対して染色体異常を誘発する事実が報告され⁵²⁾、その後、1974 年に本試験所で当時毒性部長をされていた池田博士によってマウスによる発癌性が実証されたものである⁵³⁾。AF-2 に関しては、その後、厚生省のがん研究班で追試され、変異原性はもとより、ラットにも癌原性のあることが実証された。また、医薬品である phenacetin 及び、barbital あるいは、最近発癌性が問題となった hydrogen peroxide は、われわれの実験室で染色体異常誘発性が確認されたものである。しかしながら、変異原性が認められながら実際に発癌実験で陰性に終わっている物質もいくつか知られている。前述した如く、厚生省がん研究班でスクリーニング班から発癌テスト班に回された化合物について変異原性の結果、及び、既に終了している発癌性試験の結果を表 8 に示す。表中 ? 印のものはまだ不明である。現在まで sodium benzoate, sodium nitrite, sodium nitrate, erythrosine, aspirin, sodium sorbate, potassium metabisulfite, acid red については、変異原性試験のいずれかが陽性であるのかかわらず、マウス、ラットにおける発癌性は認められていない。

現在、わが国あるいは米国で行われた Ames テストの結果、発癌性があるにもかかわらず陰性に終わっている化合物 (non-mutagenic carcinogens) 及び、逆に発癌性がないにもかかわらず陽性となった化合物 (non-carcinogenic mutagens) をまとめて表 9-1, -2 に示す^{54, 55)}。両国の間で共通している物質もあるが、* 印の化合物は、チャイニーズ・ハムスター培養細胞による染色体試験で陽性となったものである。

哺乳動物培養細胞の形質転換(実験管内発癌を含む)を指標とする検索は、発癌性物質のスクリーニングとしてより直接的であり、有効な手段と思われる⁵⁶⁾。特に、米国の Pienta らによって開発された方法は³⁹⁾、約 10 日間で判定が可能である点から、かなり多くの物質についてのデータがある。彼らによると発癌性物質の 90.8% が陽性になるという。しかしながら判定基準、血清材料の選択、再現性、濃度依存性など技術的な面でなお問題点があり、本法に批判的な学者も多い。

後で触れるように、変異原性並びに癌原性は単に定性的に有無の差で論ずることは危険である。Ames らは、1952—1977 年の間に世界中で報告された発癌実験の報告計 825 篇を調査し、その中から信頼すべき実験 307 篇を選び、実験動物の 50% に腫瘍を生じる検体の濃度 (TD₅₀) を算出した。彼らは、この値と Ames テストで 1000 箇の復帰変異コロニーを生じる検体濃度とを比較した⁵⁷⁾。その両者、すなわち発癌性の強さと変異原性の強さとの間にはほぼ直線関係があるという。しかしながら、検体によっては必ずしもこの線上に乗らないものがあることも事実である。例えば、AF-2 は Ames テストではかなり強い値を示す (mg 当たり 4.7×10^7 箇の復帰コロニー数) が、発癌性はさほど強い方ではない。Ames らによれば、本物質の代謝機構が微生物と哺乳動物細胞では大分異なるためであろうという。これに対し、Ashby らの如く、Ames テスト結果と発癌性の強さとの間には必ずしも比例関係があるとはいえないと反論する学者もいる⁵⁸⁾。発癌性の有無、及びその程度は、検体の純度、投与方法、あるいは動物種によってかなり変動するものである。AF-2 の場合も、マウスの系統によって陰性に終わった実験も知られている。陽性であるという実証は比較的簡単

表 8. 厚生省がん研究・スクリーニング班から発癌性テスト班に回された検体と
今までに得られた成績 (昭和55年5月現在)

年度	検 体	用 途	変 異 原 性			発 癌 性	
			Ames*1	Rec*2	Ch.*3	マウス	ラット
1974	AF-2		+	+	+	+	+
1975	Sodium benzoate	保 存 料	-	+	+	-	-
	Sodium nitrate	発 色 剤	+		+	-	-
	Sodium nitrite	"	+	+	+	-	-
	Erythrosine (No. 3)	着 色 料	-	+	+	-	-
	Caffeine	医 薬 品	-		+	-	±
	Aspirin	"	-	+	+	-	-
	Phenacetin	"	(+)*4	-	+	?*5	+
1976	Potassium sorbate	保 存 料	-	+	+	?	-
	Potassium metabisulfite	漂 白 剤	-	+	-	-	-
	Barbital	医 薬 品	-	-	+	+	-
	n-Butyl p-hydroxybenzoate	保 存 料	-	-	-	-	-
	BHT	酸 化 防 止 剤	-	+	-	?	-
	Acid red (No. 106)	着 色 料	+	-	+	-	-
	iso-Butyl p-hydroxybenzoate	保 存 料	-	-	-	-	?
1977	Potassium bromate	小麦粉改良剤	+	-	+	?	?
	Hydrogen peroxide	殺 菌 剤	-	+	+	+	?
	Acetaminophen	医 薬 品	-	+	+	?	?
	Thiram	農 薬	+	+	-	?	?
	DDVP	"	+	+	+	?	?
	Diphenyl	防 ば い 剤	-	-	-	?	?
	Sodium propionate	保 存 料	-	-	-	?	?
1978	Nitrofurantoin	医 薬 品	+	+	+	?	?
	Sodium hypochlorite	漂 白 剤	+	+	+	?	?
	Caramel	着 色 料	+	+	+	?	?
	Sulpyrin	医 薬 品	+	+	+	?	?
	Propyl gallate	酸 化 防 止 剤	-	+	+	?	?
	Sodium erythorbate	"	+	-	-	?	?
	BHA	"	-	+	-	?	?

*1 Ames テスト, *2 Rec assay, *3 染色体異常, *4 ハムスター S9 を使用, *5 実験中

であるが、発癌性がないということを実証するための実験はかなり慎重を要する。

変異原性の定量的評価

変異原性試験の開発により、われわれの生活環境中には意外に多くの変異原性物質が存在することがわかってきた。そのうちには天然あるいは人工産物を含め、われわれの日常生活にかなり密接な関連を持つ物質が含まれている。これらの事実から、変異原性、発癌性ともにその実験結果を定量的に整理し、各々の物質間での強さを比較する必要性が生じてきた。松島らは、

Ames テストの結果を図3の如く整理している⁵¹⁾。物質名の下段は人工化合物であり、上段は天然物に関連した化合物である。横軸に一定濃度当たりの復帰変異コロニー数を示し、物質の数を縦軸に取っている。これによると、Trp-P-2, aflatoxin B₁などは、AF-2あるいは強力な発癌性物質 MNNG よりもむしろ高い変異原性を示している。強いものと弱いものとの間には、10⁸ 倍の開きがあり、中間に属する物質の数が一番多いことになる。

Ames テスト及び培養細胞による染色体異常試験とともに陽性となったものについて、両者の強さを比較

表 9-1. 発癌性は知られているが微生物による突然変異性が認められなかったもの

わが国 (河内ら) ⁵³⁾	米 国 (McCann ら) ⁵⁴⁾
*Brilliant Blue FCF	<i>o</i> -Toluidine
*Ethionamide	Auramine
*Diethylstilbestrol	Carbon tetrachloride
D, L-Ethionine	2-Chlorobutadiene (chloroprene)
Ethynylestradiol	Dieldrin
*Fast Green FCF	Thiourea
β -Hexachlorocyclohexane (β -BHC)	*Ethyl carbamate (urethan)
* γ -Hexachlorocyclohexane (γ -BHC)	Thioacetamide
3-Hydroxyanthranilic acid	Acetamide
*Indigo carmine	Ethionine
*Maleic anhydride	Safrole
Polychlorinated biphenyls (KC 500)	Cycasin
Progesterone	*Phenobarbital, sodium
Succinic anhydride	4-Amino-2, 3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one (4-aminoantipyrine)
Testosterone propionate	3-Amino-1H-1, 2, 4-triazole (amitrole)
Thioacetamide	1, 2-Dimethylhydrazine
Thiourea	Natulan (procarbazine)
*Urethan	

* 印のものはチャイニーズ・ハムスター培養細胞に対して染色体異常を誘発することが知られている。

表 9-2. スクリーニングの結果 微生物による突然変異原性が認められたが発癌性がないもの

わが国 (河内ら) ⁵³⁾	米 国 (McCann ら) ⁵⁴⁾
4-Acetylaminofluorene	4-Acetylaminofluorene
<i>p</i> -Aminobenzoic acid ethyl ester	* α -Naphthylamine
*4-Aminoquinoline 1-oxide-HCl	2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropyl-amino]acridine·2HCl(ICR-191)
Anthracene	Folpet
*Allethrin	Benzo(e)pyrene
*Caramel	Dibenz(a, h)anthracene 5,6-oxide
*Dichlorvos	2, 3-Epoxy-1-propanol (glycidol)
Isoascorbic acid sodium salt	1, 2-Epoxybutane
*Malathion	5-Nitro-2-furamidoxime
1-Naphthylamine	1-(5-Nitrofurfurylidene)-amino-hydantoin
*Nitrofurantoin	5-Nitro-2-furoic acid
Phenanthrene	*Sodium azide
*Potassium bromate	*Sodium nitrite
Pyrene	N-Hydroxy-4-aminoazobenzene
*Sodium hypochlorite	
*Sodium nitrite	

* 印のものはチャイニーズ・ハムスター培養細胞に対して染色体異常を誘発することが知られている

すると図4の如くなる。この場合染色体異常の強さは細胞20%に何らかの異常を誘発する検体濃度 (D_{20} 値) で示してある。両者間にはほぼ直線的相関があることがわかる。最も弱い caramel と最も強い 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) との間には D_{20} 値で約 10^6 倍

の開きが認められる。

発癌性物質のほとんどすべてのものは、チャイニーズ・ハムスター培養細胞に対して、交換型の染色体異常(環状形成も含める)を誘発する傾向にある。したがってわれわれは、交換型異常を持つ細胞の出現率を

検体濃度 (mg/ml) で割った値 (TR 値) を指標として、その強さを定量的に比較している。表10は、発癌性が知られているものについての TR 値を大きい順に並べたものである。4-NQO の値は、医薬品 isoniazid の約 4300 倍に相当することがわかる。発癌性物質あるいはニトロソ化合物類では、TR 値は、前述した D_{20} 値とかなり良い相関を示す。発癌性は知られていないが、高濃度ではじめて染色体異常を誘発する物質、例えば、食塩、砂糖、尿素、propylene glycol など

は、主に切断型の異常を示すため TR 値は極めて低い。

食品及び食品添加物類について

食品の汚染に係る物質では、aflatoxin B₁ が最も強力な変異原として知られている⁵⁹⁾。また同時に強い発癌性物質でもある⁶⁰⁾。Sterigmatocystin もまた同様である⁶¹⁾。これらはいずれも S9 による代謝活性化を要する。特に aflatoxin B₁ は、微生物のみならずシロウジウバエの変異及び哺乳動物細胞に対して突然変異⁶²⁾、形質転換³⁸⁾あるいは染色体異常⁶²⁾などを誘発する。日本人の食するワラビは動物に膀胱癌を発生させるが、その成分である flavonoid (例えば kaempferol など) 類の変異原性が問題となっている⁶³⁾。このうち quercetin は最も強い変異原性を示すといわれ、われわれも染色体異常試験でそれを確認している。タマネギの抽出物には変異原性が認められるが、Herrmann によると外皮 kg 当たり 11~24g もの quercetin が含まれているという⁶⁴⁾。タバコやキノコに含まれる hydrazine には発癌性も知られている⁶⁵⁾。茶やコーヒーに含まれる caffeine は古くから染色体異常誘発性が知られており、最近米国では caffeine による催奇性も問題とされている⁶⁷⁾。天然色素クルクミン⁴¹⁾、あるいは、種々の調味料⁶⁸⁾にも変異原性のあるものが知られている。カラメル⁴¹⁾、あるいは、醤油などにも弱いながら変異原性が認められている。

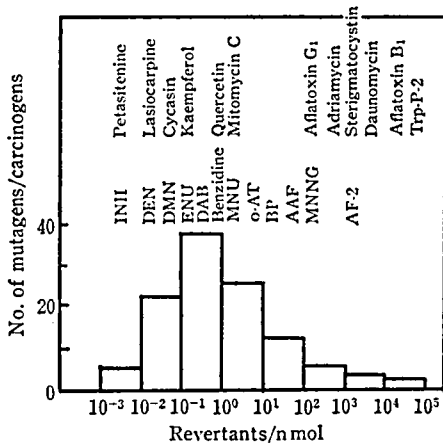


図 3. Ames テスト結果の定量的比較⁵¹⁾ (上段の化合物は天然物由来)

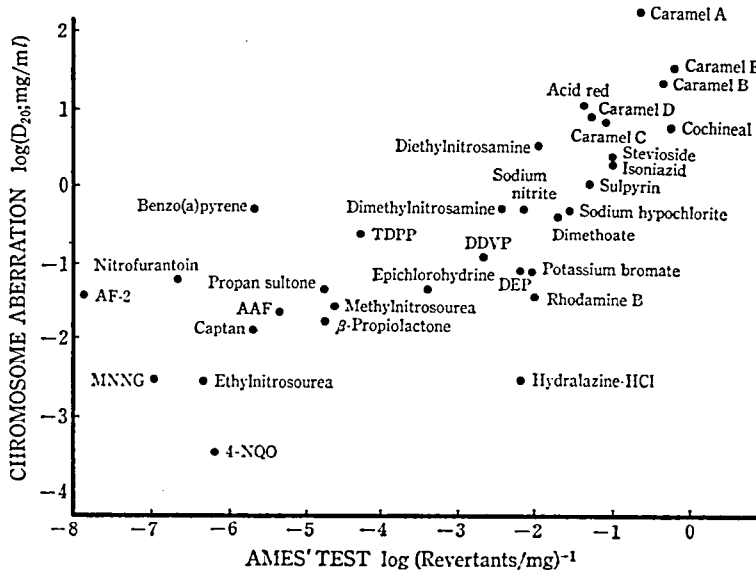


図 4. 微生物による突然変異誘発性(Ames テスト)と哺乳動物培養細胞による染色体異常誘発性との相関

表 10. 発癌性物質の TR 値の比較

化 合 物	TR 値*	Ames テスト
4-Nitroquinoline 1-oxide	30000	+
Trp-P-1 (a tryptophan pyrolysate)	12800	+
N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	9600	+
N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	6200	+
Trp-P-2 (a tryptophan pyrolysate)	4667	+
N-Methyl-N-nitrosourethane	3400	+
β -Propiolacton	2267	+
N-Butyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	1800	+
N-Propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	1733	+
Styrene oxide	1567	+
Butyl-(1-acetoxybutyl) nitrosamine	1317	+
N-Amyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	1167	+
N-Ethyl-N-nitrosourethane	1067	+
N-i-Butyl-N'-nitro-N-nitrosoguanildine	767	+
N-Butyl-N-nitrosourethane	750	+
Propan sultone	728	+
N-Methyl-N-nitrosoarea	580	+
N-i-Butyl-N-nitrosoarea	512	+
N-Propyl-N-nitrosourethane	467	+
Nitrosohydantoic acid	304	+
N-Propyl-N-nitrosoarea	200	+
Rhodamine B	183	+
N-Butyl-N-nitrosoarea	155	+
N-Methyl-N-acetylnitrosoarea	152	+
N-Amyl-N-nitrosoarea	104	+
Methylazoxymethanol acetate	80	+
2-Methyl-DAB	71	+
Dipropylnitrosamine	66	+
N-Ethyl-N-nitrosoarea	56	+
N, N'-Dibutyl-N-nitrosoarea	48	+
Maleic anhydride	40	-
Dibutylnitrosamine	33	+
Butylbutanolnitrosamine	21	+
Dimethylnitrosamine	16	+
Isoniazid	7	+

* TR 値 = $\frac{\text{交換型異常を持つ細胞の出現率}}{\text{検体濃度 (mg/ml)}}$

厚生省では昭和54年度から5箇年計画によって、現在使用している食品添加物の変異原性に関する総点検を開始した。先ず Ames テストを中心とし、更に *in vitro* での染色体試験のデータを参考として取扱うことになっている。今年度に取り扱った50種、及び、厚生省がん研究班で取扱った食品添加物のうち陽性となったものを表11に示す。また、染色体試験のみ行われたいくつもの天然添加物に関するデータを表12に示す。

Ames テスト陽性のものは、sodium nitrite(発色剤), potassium bromate (小麦粉改良剤), sodium erythorbate (酸化防止剤), acid red (赤色 106 号), Fast Green FCF (緑色 3 号) などの5種類であったが、His⁺/mg 値 (復帰突然変異コロニー数/mg) はあまり高くない。特に Fast Green FCF では不純物50%を含むものだけが陽性となった。その他のものは培養細胞に対して染色体異常のみ誘発した。しかしながら、前述した如く染色体異常のうち、発癌性物質に特有な交換型異常を誘発する強さ (TR 値) を比較すると、比較的弱いものが多い。食用色素の場合には、製品の種類、あるいはロット差によってデータがかなりばらつく。これは不純物の含有量の違いによるものと思われる。Saccharin sodium については、その変異原性、発癌性は不純物の影響であろうという説があるが⁶⁹⁾、今回のわれわれのデータでは、Ames テストは陰性であり、染色体異常は陽性であった。一方天然添加物では、甘味料の stevioside は90%以上の純度のもものではいずれも変異原性を示さないが、50%純度のものでは Ames テスト及び染色体異常で陽性の結果が得られている。また、黄色色素クルクミンがかなり高い TR 値を示した。当物質は Ames テストは陰性であるが Rec assay は陽性である。この場合も不純物の影響を加味する必要がある。

最近、魚のコゲに含まれる種々アミノ酸等の熱分解物の変異原性が問題とされている⁷⁰⁾。Tryptophan, glutamine, globulin などについて培養細胞による染色体試験を行った結果を表13に示す。Trp-P-1, Trp-P-2 とともに染色体異常を誘発するが、特に前者は、1.25 $\mu\text{g/ml}$ という低濃度で作用し、特に S9 による代謝活性化を要しない。後者の場合は、直接効果もあるが、S9 存在下で作用が増強する傾向を示した。一方、Glu-P-1 は Trp の場合より濃度は100倍程高いが、かなり強い染色体異常誘発性を示した。これに反し、Glu-P-2 は偽陽性に終わった。Glob-P-1 acetate, 及び Glob-P-2 acetate はともに構造的異常を誘発しなかったが、染色体数の倍加作用 (倍数体の形成) が有意に上昇した。染色体数の倍加作用は、食品添加物 thiabendazole や合成女性ホルモン剤 diethylstilbestrol (DES)⁷¹⁾にも見受けられたが、これらの作用が発癌性あるいは遺伝毒性にどのように関連するかについてはなお不明な点が多い。

医薬品類について

医薬品のうち、制癌剤には強い変異原性を示すものが多く、また、発癌性の知られたものが多い。アルキ

表 11. 食品添加物の変異原性

化 合 物	Ames テスト		染色体試験	
	判定 (株)	His ⁺ /mg	濃度 (mg/ml)	TR値*
Propyl gallate	—		0.04	275
Hydrogen peroxide	—		0.25	144
Potassium bromate	+ (TA 100)	6	0.25	116
Sodium nitrite	+ (TA 1535)	198	1.0	52
Sodium hypochlorite	+ (TA 100)	19	0.5	18
Riboflavine	—		0.3	13
Ethyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	—		0.25	12
Food Red No. 2 (Amaranth)	—		1.0	8
Food Red No. 3 (Erythrosine)	—		0.6	5
Food Green No. 3 (Fast Green FCF)	+ (TA 100)	41	2.0	5
Food Yellow No. 4 (Tartrazine)	—		2.5	5
Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF)	—		5.0	3
Sodium nitrate	—		6.0	2
Sodium dehydroacetate	—		3.0	1
Disodium glycyrrhizinate	—		4.0	1
Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF)	—		6.0	1
Trisodium glycyrrhizinate	—		4.0	0.8
Sodium <i>d</i> -tartrate	—		15.0	0.8
Sodium 5'-inosinate	—		20.0	0.8
Sodium benzoate	—		2.0	0.5
Acetone	—		40.0	0.4
Potassium sorbate	—		4.0	0.3
Saccharin sodium	—		8.0	0.3
Ethyl acetate	—		9.0	0.3
Food Red No. 106 (Acid Red)	—		13.1	0.2
Propylene glycol	—		32.0	0.2
Sodium 5'-cytidilate	—		30.0	0.1
Sodium 5'-uridilate	—		32.0	0.1
Food Red No. 102 (New coccine)	—		2.0	0

* 表10に同じ

ル化剤はもちろんのこと抗生物質も例外ではない⁷²⁾。代表的なものについてわれわれの実験室で行った染色体試験の結果を表14に示す。Saframycin A, actinomycin D, mitomycin C, bleomycins, その他ニトロソ尿素系化合物ではかなり低濃度で染色体異常誘発能を示し, TR 値は極めて高い。

その他の医薬品に関する Ames テスト及び染色体異常の結果を表15に示す。Aminacrine-HCl, triamteren, tolazolin, α -methyl-dopa, sodium azide, levodopa などは TR 値が高いが, 染色体異常を誘発しても Ames テストが陽性となるとは限らない。表中 +rec と示してあるものは Ames テストは陰性であるが Rec assay で陽性であったものである。

Phenacetin に発癌性が認められたことはすでに述べた。本物質は最初 Ames テストでサルモネラ菌 TA 100, TA 98 ともに陰性であった。しかしながら後に, ラットの代りにシリアンハムスターの肝から調製した S9 を用いると, TA 100 で陽性となった⁷³⁾。チャイニーズ・ハムスター培養細胞に対しては, 直接染色体異常を誘発するが, ラットの S9 でもかなりその効果は増強されている⁷⁴⁾。N-Hydroxyphenacetin については, ラットあるいはハムスターの S9 いずれの場合にも TA 100 に対して陽性であるという。解熱剤 acetaminophen は Ames テスト陰性であるが, 染色体異常は 0.023 mg/ml という低濃度で強陽性を示す。また, いくつかの医薬品では, 染色体数を倍化させる作

表 12. 天然添加物類の染色体異常誘発性 (直接法)

化 合 物	濃 度 (mg/ml)	倍数体 (%)	染 色 体 異 常		TR 値*2	判 定
			% (時間)	型*1		
クルクミン	0.03	4.0	45.0 (48h)	g. b. t. r.	400	+
カフェイン	1.0	1.0	84.0 (48h)	g. b. t. r.	35	+
ラッカイン酸	2.0	0.0	61.0 (48h)	g. b. t.	6	+
ステビオサイド	4.0	0.0	37.0 (48h)	g. b. t. r.	5	+
カカオ色素	1.0	2.0	16.0 (48h)	g. b. t. r.	3	+
コチニール色素	2.0	6.0	12.0 (24h)	g. b. t.	3	+
ラック色素液	2.0	0.0	30.0 (48h)	g. b. t.	2	+
カラメル	8.0	1.0	26.0 (24h)	g. b. t.	2	+
醬 油	11.7	6.0	54.0 (24h)	g. b. t. r.	2	+
塩	7.0	1.0	15.0 (24h)	g. b. t.	1	+
砂 糖	70.0	0.0	19.0 (24h)	g. b. t.	0	+
紅花黄色色素	2.0	3.0	2.0 (48h)	t. r.	—	—
パブリカ色素	4.0	1.0	2.0 (48h)	b. t.	—	—
紅こうじ色素	8.0	1.0	2.0 (48h)	g. b.	—	—
葉緑素製剤	8.0	1.0	2.0 (48h)	g. b.	—	—
アナトー色素	16.0	1.0	1.0 (24h)	g.	—	—

*1 g:ギャップ, b:切断, t:交換, r:環状

*2 表10に同じ

表 13. アミノ酸等の熱分解物の染色体異常誘発性 (直接法)

化 合 物	濃 度 (mg/ml)	倍数体 (48h)%	染 色 体 異 常		TR 値*2
			% (時間)	型*1	
Trp-P-1	0.00125	2.0	20.0 (24h)	g. b. t. r.	12800
Trp-P-2*3	0.0075	3.0	37.0 (48h)	g. b. t. r.	4667
Glu-P-1	0.5	8.0	54.0 (24h)	g. b. t.	52
Glu-P-2	0.25	7.0	6.0 (48h)	g. b.	0
Glob-P-1 acetate	0.125	71.0	3.0 (48h)	g. t.	—
Glob-P-2 acetate	0.063	70.0	2.0 (24h)	t. r.	—
Control	(saline)	1.0	1.3 (48h)	g. t. r.	—

*1 表12に同じ

*2 表10に同じ

*3 S-9 併用法により出現率の上昇が見られる

用を持ったものがある。Phenobarbital, ethenzamide, noscaphine-HCl, DES, colchicine, Colcemid, vincristine, vinblastine などがあげられる。医薬品の一部について染色体試験を行った結果は別に報告してある⁷⁵⁾。

農薬類について

現在使用されている農薬類及びそれらのいくつかのニトロソ体 (NO-) について検索した結果を表16及び表17に示す。Captafol, captan などには比較的高い変異原性が認められている。メチルチオトリアジン系農

薬では、(NO)₂-Simetryne のみが Ames テスト、染色体異常ともに陽性となつた。塩化トリアジン系農薬では、NO-simazine, NO-atrazine 及び Propazine が染色体異常を誘発したが、前二者の Ames テストは陰性に終った。また、カルバメイト系農薬では、NAC, MTMC, MPMC 及びそれらのニトロソ体いずれも染色体異常陽性であつたが、Ames テストではニトロソ体のみ陽性であつた。一般に、ニトロソ化合物は低濃度で高い変異原性を示すことがわかる。その他の農薬類、殺虫剤、除草剤、防かび剤などについては、既に多くのデータがあるがその詳細については別書に譲

表 14. 制癌剤による染色体異常誘発性 (直接法)

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g/ml}$)	倍 数 体 (%)	染 色 体 異 常			TR 値*2
			%	(時間)	型*1	
Actinomycin D	0.025	0.0	34.0	(48h)	g. b. t. r.	696000
Mitomycin C	0.2	0.0	97.0	(48h)	g. b. t. r. f.	470000
Saframycin A	0.1	0.0	25.0	(48h)	g. b. t. r.	190000
Bleomycins-HCl	1.0	11.0	74.0	(48h)	g. b. t. r.	51000
Thio-TEPA	3.75	1.0	100.0	(48h)	g. b. t. r. f.	23200
6-MP	1.0	3.0	17.0	(48h)	g. b. t.	11000
5-FU	6.25	2.0	86.0	(48h)	g. b. t. r. f.	9280
Nitromin	8.0	1.0	76.0	(24h)	g. b. t. r.	7625
EBNU	15	1.0	98.0	(48h)	g. b. t. r. f.	7000
BCNU	15	12.0	98.0	(48h)	g. b. t. r. f.	6200
Busulfan (100倍散)	8000	0.0	96.0	(48h)	g. b. t.	10
Cyclophosphamide	4000	5.0	37.0	(48h)	g. b. t.	4

*1 表12に同じ *2 表10に同じ

表 15. その他の医薬品類による変異原性

化 合 物	Ames テ ス ト		染 色 体 試 験	
	判 定 (株)	His+/mg	濃 度 (mg/ml)	TR 値*1
Aminacrine-HCl			0.001	42000
Triamterene	-		0.0075	9333
Tolazoline			0.0625	880
Acetaminophen	-		0.06	583
Hydralazine-HCl	+ (TA100)	151	0.0075	333
α -Methyl-dopa			0.05	260
Sodium azide			0.06	250
Levodopa	-		0.03	233
Sulpyrin	+ (TA100)	1,050	0.75	113
Papaverine-HCl	-		0.125	96
Methyclothiazide	-		0.25	24
Theophylline	-		1.0	23
Cocaine-HCl			1.0	21
Aspirin anhydride			0.5	16
LSD	\pm (TA100)		1.6*2	11
Phenylbutazone	-		1.0	9
Nitrofurantoin	+ (TA100)	228×10^3	0.06	8
Ethenzamide	-		0.5	8
Phenacetine	+ (TA100)	108	3.2*2	8
Trichlormethiazide	-		0.75	7
Isoniazid	-		4.0	7
Ethionamide	-		0.5	4
Aspirin	-		1.5	3
Chlorpropamide	-		2.0	3
Barbital	-		2.0	0.5
Xylitol	-		24.0	0.5

*1 表10に同じ *2 S 9 併用

表 16. 農薬類の変異原性

化 合 物	Ames テ ス ト		染 色 体 試 験	
	判 定 (株)	His ⁺ /mg	濃 度 (mg/ml)	TR 値*
Captafol	+	(T A 100) 1800 × 10 ³	0.008	2500
Captan	+	(T A 100) 461 × 10 ³	0.015	933
Carbaryl (NAC)	-		0.03	500
Maneb	-		0.03	200
Sumithion	+	(T A 100) 91	0.1	120
Malathion	+	(T A 100) 16 × 10 ³	0.08	112
DDVP	+	(T A 100) 252	0.125	80
DEP	+	(T A 100) 2	0.125	48
Dimethoate	+	(T A 100) 3	1.0	37
MTMC	-		0.125	16
Simazine (CAT)	-		0.045	0
MPMC	-		0.125	0
Simetryne	-		0.25	0
Ametryne	-		0.25	0
Atrazine	-		0.25	0
Prometryne	-		1.0	0
Propazine	-		3.0	0

* 表10に同じ

DDVP: 2, 2-Dichlorovinyl dimethyl phosphate

DEP: 2, 2, 2-Trichloro-1-hydroxyethyl dimethyl phosphonate

MTMC: 3-Methylphenyl-N-methyl-carbamate

MPMC: 3, 4-Dimethylphenyl-N-methyl-carbamate

表 17. 農薬類のニトロソ化体の変異原性

化 合 物	Ames テ ス ト		染 色 体 試 験	
	判 定 (株)	His ⁺ /mg	濃 度 (mg/ml)	TR 値*
NO-MTMC	+	(T A 100) 520 × 10 ³	0.0075	12267
NO-MPMC	+	(T A 100) 3700 × 10 ³	0.015	5067
NO-NAC	+	(T A 100) 680 × 10 ³	0.015	4933
NO-CAT	-		0.015	2066
(NO) ₂ -Simetryne	-		0.03	1500
NO-Atrazine	-		0.015	1000
NO-Prometryne	-		0.06	0
NO-Simetryne	-		0.125	0
NO-Ametryne	-		0.125	0

* 表10に同じ

りたい^{76,77)}。

その他の工業用化学物質について

家庭用品その他工業用化学物質38種類を検索したうちで、Ames テストあるいは染色体試験で強陽性を示したものを表18に示す。

染毛剤の材料として知られる *o*-phenylenediamine,

m-phenylenediamine, 2-nitro-*p*-phenylenediamine, 4-nitro-*o*-phenylenediamine などは両試験で高い変異原性を示し⁷⁸⁾、これらのうちには発癌性が認められているものもある。工業用に広く用いられている formalin にも変異原性が認められる。難燃加工剤として知られている TDBPP もまた発癌性が知られているが⁷⁹⁾、変異原性はそれほど高くはない。同じく TDCPP は

表 18. 工業用化学物質の変異原性

化 合 物	Ames テスト		染色体試験	
	判 定 (株)	His ⁺ /mg	濃度 (mg/ml)	TR 値*1
Ethylacrylate	—		0.015	3200
β -Propiolactone	+ (TA 100)	3300	0.03	2267
<i>o</i> -Phenylenediamine	+ (TA 98)	9541	0.002	2000
Styrene oxide	+ (TA 100)	1250	0.03	1567
<i>m</i> -Phenylenediamine	+ (TA 98)	2252	0.015	1267
2-Nitro- <i>p</i> -phenylenediamine	+ (TA 98)	55123	0.008	800
Formaline	+ (TA 100)	2000	0.015	733
Propan sultone	+ (TA 100)	4450	0.125	728
Acrylonitrile	± (TA 100)		0.015	600
Epichlorhydrin	+ (TA 100)	2477	0.125	576
Methylacrylate	—		0.015	533
Ethidium bromide			0.03	330
4-Nitro- <i>o</i> -phenylenediamine	+ (TA 98)	13860	0.06	267
4-AQO	+		0.4	205
THPC	—		0.03	200
TDCPP	+ (TA 100)	446	0.125*2	96
Quinoline	+ (TA 100)	253	0.3*2	47
TDBPP	+ (TA 100)	1110	0.125	0

*1 表10に同じ

*2 S 9 併用

THPC: Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium chloride

TDCPP: Tris-(2, 3-dichloropropyl)phosphate

TDBPP: Tris-(2, 3-dibromopropyl)phosphate

直接作用はほとんどないが、S9を加えることによって染色体異常は増加する。Ethyl acrylate及びacrylonitrileもまたAmesテストではほとんど陰性か、あるいは低い変異原性を示すが、染色体異常の出現率はかなり高い。Styrene monomerはS9の存在下で陽性となるが⁷⁴⁾、styrene oxideは直接的に強い効果を示す。4-AQOには発癌性が認められていないが、Amesテストは陽性、染色体異常も高率に誘発する。その他、可塑剤フタル酸エステル類についても同様な検索を行ったが、それらの結果については別に報告した⁸⁰⁾。

現在、われわれは triaminobenzene 類の変異原性と代謝過程について比較検討中である。これらの物質はPCBあるいはphenobarbitalで誘導されたS9では変異原性が認められず、3-methylcholanthreneで誘導されたS9ではじめて検出された⁸¹⁾。化学物質によるDNA傷害は、一般にX線型(切断型)とUV型(ダイマー型)に分けられるといわれる。前者には発癌性物質MNNGなどが含まれ、後者には4-NQOあるいはAF-2などが含まれる。われわれの検索によ

ると前述した農薬のニトロソ体NO-MTMC、及びNO-MPMCはX線型を示すが⁸²⁾、N-carboxymethyl-N-nitrosoureaでは、両者の型が混在する型の変異を起こす可能性がある⁸³⁾。

近年、環境汚染の問題がクローズアップされ水質あるいは大気に含まれる種々の化学物質の調査が進められている。重油中に含まれる含窒素多環化合物にはかなり強い変異原性が認められている⁸⁴⁾。また、トリハロメタンなどの低沸点有機塩素化合物⁸⁵⁾、あるいは、ethylene oxideなどのガス体の変異原性に関する試験法の開発も進められている。特にガス状物質の変異原性には、枯草菌の胞子を用いるDNA修復試験あるいは突然変異誘発試験が考案されている⁸⁶⁾。重金属類の変異原性については既に多くのデータがあるのでその詳細は別書に譲りたい⁸⁷⁾。

おわりに

現在、発癌性試験には約7200万円(300000ドル)の経費がかかるといわれる。しかもその結果を得るまで少なくとも2、3年はかかる。更に、動物種あるい

は系統によつて特異性が異なるため必ずしも十分な感受性が得られるとは限らない。一方、遺伝毒性については、発癌実験に相当する試験法はまだ充分開発されていないが、統計的な有意差を得るためには約 50000 匹の動物が必要であるといわれている。環境中に無数に存在するすべての化学物質について長期動物試験による安全性を確認していくことはもはや不可能に近いと思われる。微生物その他を用いる変異原性試験は、短期に多くの物質を検索し得る点で、まさに省エネ時代に即して発展してきた新しい毒性学の一分野ということができよう。

変異原性試験の技術は現在極めて多方面にわたって利用されている。前述した通りわが国においては、労安法による化学物質の規制に Ames テストを採用しているが、その他の食品、医薬品、農薬などの生活関連物質の新規登録に際しても毒性データの評価に変異原性試験結果が採用されている。工場廃水あるいは大気に含まれる汚染物質については、公害対策の立場から環境庁を中心とする計画が進められている。変異原性試験によつて混合物からある特定の有害物質を選別していくことは極めて重要な課題である。

近年、薬学分野でも変異原性試験を利用する傾向が増加している。植物成分その他の自然物質から有効な物質を選別したり、また、特定の物質の代謝産物を追求する上にも有効な手段となる。生体内における臓器には、その組織に特有な酵素が存在する。変異原性試験を適用することによつて、組織の特異性、あるいは、薬物に対する感受性の差を究明することができる。発癌性物質の標的臓器に対する解明にもつながる重要な問題である。

わが国においては、先に AF-2 の発癌性が社会問題となったが、最近第 2 の AF-2 ともいわれる過酸化水素の発癌性が問題となった。前者では高い変異原性が知られていたが、後者では、染色体異常試験のみが陽性となったものである。従来、米国のデラニー条項に準じ「発癌性を疑わしめる物質は食品添加物として使用しない」という立場を取ってきたが、今回の過酸化水素に対する行政的処置は例外であった。本物質の有用性と分解性を考慮した結果ではあるが、その最も大きな理由は、発癌性が比較的弱いという事実によるものと思われる。ここでわれわれは、発癌性の有無を定性的に把握してきた時代から、その強さを定量的に把握する新しい時代に入ったことになる。米国の EMIC の情報によると、現在までに報告された変異原性物質の数は約 3000 種に及んでいる。これらの中には、われわれの日常生活にとって切り離せない物質も含まれ

ている。今後われわれは、変異原性試験で得られたデータを基とし、物質相互の定量的比較を行っていく必要がある。もしも発癌性物質と同程度あるいはそれ以上の変異原性を示し、しかも *in vitro*, *in vivo* ともに陽性結果が出た場合には、もはや長期動物実験の結果を待つ必要がないかも知れない。しかしながら、生活関連物質の多くのものは、中程度の変異原性を示すものが多い。これらについては社会的重要性を加味した上で、更に動物実験によつて安全性を再確認する必要がある。

In vitro で得られた所見は、そのまま *in vivo* の現象を反映できない。したがって、変異原性試験をもつて長期の発癌実験あるいは子孫への遺伝毒性試験を代行しようと考えることは早計である。しかしながら、われわれは変異原性試験の限界をふまえた上で、できるだけ多くの物質について検索し、環境中からわれわれの健康を害すると思われる物質を早急に選別する必要がある。同時により安全性の高い物質を選別し、これらを有効に利用していくことこそ現代社会に生きるわれわれの知恵であろう。

稿を終るに当たり、変異原性試験の重要性を指摘し、終始理解と協力を惜しまれなかつた故小田嶋成和病理部長に厚く感謝し、御冥福をお祈り申し上げる。また、厚生省がん研究班班長として御指導下さった国立がんセンター副所長河内卓先生、並びに、当試験所で試料の提供に御協力下さった関係各部の先生方に深く感謝申し上げます。最後に本報告中の実験を分担された当部の林真、松岡厚子、沢田稔、畑中みどり、能美健彦、宮田ルミ子の諸氏に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Research News: *Science*, **199**, 162 (1978)
- 2) U.S.A., DHEW: National Toxicology Program (1980)
- 3) The Environmental Mutagen Society: *Science*, **187**, 503 (1975)
- 4) Environmental Mutagen Information Center: Chemical Mutagenesis, Oak Ridge National Laboratory (1979)
- 5) 石館 甚: 変異原と毒性, 第 5 集, 4 (1978)
- 6) International Programme for the Evaluation of Short-term tests for Carcinogenicity: *Mutation Res.*, **54**, 203 (1978)
- 7) B. N. Ames *et al.*: *Mutation, Res.*, **31**, 347 (1975)
- 8) 青木和夫: 変異原と毒性, 第 8 集, 25 (1979)
- 9) 石沢 実: 変異原と毒性, 第 8 集, 29 (1979)
- 10) 尾川博昭, 大西克成: 変異原と毒性, 第 8 集,

- 37 (1979)
- 11) E. H. Y. Chu, S. S. Powell: *Adv. Human Genet.*, 7, 189 (1976)
- 12) B. J. Kilbey et al.: *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Elsevier Scientific Pub. Co. Amsterdam (1977)
- 13) B. A. Kihlman: *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Ed. by B. J. Kilbey et al., Elsevier Scientific Pub. Co. Amsterdam, p. 389 (1977)
- 14) M. Ishidate, Jr., S. Odashima: *Mutation Res.*, 48, 337 (1977)
- 15) W. W. Nichols et al.: *EMS News letter*, 5, 20 (1971)
- 16) N. Inui et al.: *Mutation Res.*, 66, 149 (1979)
- 17) H. J. Evans, M. L. O'Riordan: *Mutation Res.*, 31, 135 (1975)
- 18) 西 義介, 乾 直道: 組織培養, 5, 148 (1979)
- 19) 石館 基: 組織培養, 5, 115 (1979)
- 20) 外村品編: 染色体異常, 朝倉書店 (1978)
- 21) W. W. Nichols et al.: *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Ed. by B. J. Kilbey et al.: Elsevier Scientific Pub. Co. Amsterdam, p. 225 (1977)
- 22) 菊地康基, 山本好一: 変異原と毒性, 第8集, 12 (1979)
- 23) A. J. Bateman: *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Ed. by B. J. Kilbey et al., Elsevier Scientific Pub. Co. Amsterdam, p. 325 (1977)
- 24) S. S. Epstein et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23, 288 (1972)
- 25) E. Vogel, F. H. Sovels: *Chemical Mutagens*, Ed. by A. Hollaender, 4, Plenum, New York, p. 93 (1976)
- 26) V. M. Maher et al.: 代謝的活性化と変異原性試験, 加藤隆一訳, 日本メデカルセンター, p. 311 (1978)
- 27) 賀田恒夫: 化学物質の突然変異性検出法, 田島弥太郎ほか編, 講談社サイエンティフィック, p. 31 (1973)
- 28) 平野光一: 変異原と毒性, 第2集, 54 (1978)
- 29) R. H. C. San, H. F. Stich: *Int. J. Cancer*, 16, 284 (1975)
- 30) P. Perry, S. Wolff: *Nature (London)*, 258, 121, (1975)
- 31) J. W. Allen, S. A. Latt: *Nature (London)*, 260, 449 (1976)
- 32) M. Hollstein, J. McCann: *Mutation Res.*, 65, 133 (1979)
- 33) 食品衛生調査会編: 薬局, 26, 115 (1975)
- 34) B. A. Bridges: *Mutation Res.*, 26, 335 (1974)
- 35) 沼野雄志: 安全工学, 17, 27 (1978)
- 36) EPA: *EPA Proposed Guidelines for Pesticide Registration; Hazard Evaluation; Humans and Domestic Animals*, 43 FR 37236, Aug. 22 (1978)
- 37) OECD: *Short Term and Long Term Toxicology Group, Principle for the Evaluation of the Mutagenic and Carcinogenic Potential of Chemicals*, Prepared for the Committee (1980)
- 38) Pienta et al.: *Int. J. Cancer*, 19, 642 (1977)
- 39) J. P. O'Neill et al.: *Mutation Res.*, 45, 103 (1977)
- 40) 厚生省がん研究班: 食品添加物等の安全性評価のための変異原性試験基準(案) (1980)
- 41) 厚生省がん研究班報告書 (1973~1979)
- 42) IARC/WHO: *Int. Agency Rec. Cancer Intern. Tech. Rep. No. 73/004* (1973)
- 43) J. M. Sontag et al.: *Natl. Cancer Inst. Carcinogenesis Tech. Rep. Ser.*, 1, 1 (1976)
- 44) 厚生省がん研究班編: 化学物質の癌原性検索法指針 (1976)
- 45) 竹中祐典: 変異原と毒性, 第9集, 91 (1980)
- 46) International Programme for the Evaluation of Short-Term tests for Carcinogenicity, *Mutation Res.*, 54, 203 (1978)
- 47) EPA: Evaluation of Current Status Bioassay in Genetic Toxicology (1979)
- 48) J. S. ワッサム (太田, 賀田 訳): 変異原と毒性, 第9集, 4 (1980)
- 49) The Foundation of the International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens, *Mutation Res.*, 46, 311 (1977)
- 50) M. Nagao, T. Sugimura: *Ann. Rev. Genet.*, 12, 117 (1978)
- 51) T. Kawachi et al.: *Naturally Occuring Carcinogens-Mutagens and Modulation of Carcinogenesis*, Ed. by E. C. Miller et al., Japan Sci. Soc.-Press, Tokyo/Univ. Park Press, Baltimore, p. 337 (1979)
- 52) A. Tonomura, M. S. Sasaki: *Jpn. J. Genet.*, 48, 291 (1973)
- 53) Y. Ikeda et al.: *Food Sanitation Study Council, Ministry of Health and Welfare, Japan* (1974)
- 54) F. J. de Serres: A Report at the U.S.-Japan Panel on Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, July (1976)
- 55) 河内 卓ら: 厚生省がん研究班, 班会議報告資料 (1979)
- 56) K. Kakunaga: *Origins of Human Cancer*, ed. H. H. Hiatt et al., p. 1537, Cold Spring Harbor, New York (1977)
- 57) B. N. Ames: Progress Report for IARC/WHO Meeting, Oct. (1977)
- 58) J. Ashby, J. A. Styles: *Nature*, 271, 452 (1978)
- 59) J. McCann et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 5135 (1975)
- 60) G. N. Wogan et al.: *Cancer Res.*, 31, 31 (1971)
- 61) M. Manabe, L. Tsuruta: *Trans. Mycol. Soc. Jpn.*, 16, 399 (1975)
- 62) M. Umeda et al.: *Gann*, 68, 619 (1972)
- 63) T. Sugimura et al.: *Proc. Jpn. Acad.*, 53B, 194 (1977)
- 64) K. Herrmann: *J. Food Technol.*, 11, 433 (1976)
- 65) IARC: *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man*, 4, 127 (1974)

- 66) B. A. Kihlman: *Caffeine and Chromosomes*, Elsevier Sci. Pub. Co. Amsterdam (1977)
- 67) FDA: *TALK PAPAER*, Feb. 27 (1980)
- ✓ 68) Y. Seino *et al.*: *Mutation Res.*, **58**, 225 (1978)
- ✓ 69) D. R. Stoltz *et al.*: *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **1**, 139 (1977)
- ✓ 70) M. Nagao *et al.*: *Cancer Lett.*, **2**, 221 (1977)
- ✓ 71) M. Sawada, M. Ishidate, Jr.: *Mutation Res.*, **57**, 175 (1978)
- ✓ 72) Y. Seino *et al.*: *Cancer Res.*, **38**, 2148 (1978)
- 73) M. Sawamura *et al.*: *Proc. Jpn. Cancer Assoc.*, 37th Annu. Meet., p. 43 (1978)
- ◁ 74) A. Matsuoka, M. Ishidate, Jr.: *Mutation Res.*, **66**, 277 (1979)
- 75) 石館 基ほか：衛生試験所報告, **96**, 55(1978)
- ✓ 76) T. Kada *et al.*: *Mutation Res.*, **26**, 243 (1974)
- 77) Y. Shirasu *et al.*: *Mutation Res.*, **40**, 19 (1976)
- 78) 吉川邦衛ほか：衛生試験所報告, **94**, 28(1976)
- 79) A. Blum, B. N. Ames: *Science*, **195**, 17 (1977)
- 80) 大場琢磨ほか：衛生試験所報告, **93**, 1 (1975)
- ✓ 81) K. Yoshikawa *et al.*: *J. Toxic. Sci.*, **4**, 317 (1979)
- ✓ 82) K. Yoshikawa *et al.*: *Mutation Res.*, **54**, 283 (1978)
- 83) K. Yoshikawa *et al.*: *Gann*, **72**, 705 (1979)
- 84) 松岡厚子ほか：日本環境変異原学会, 第8回研究会 (1979)
- 85) 佐谷戸安好ほか：変異原と毒性, 第7集, 65 (1979)
- 86) 田ノ岡宏：変異原と毒性, 第8集, 20 (1979)
- 87) 賀田恒夫：重金属に関する文献集, 変異原と毒性, 第1, 2, 5集 (1977~1979)

医療用具の放射線滅菌に関する研究 (第6報)
 γ 線照射による人工腎臓用ダイアライザーの化学的影響
 と血液透析能並びに滅菌効果について

辻 楠雄・新谷英晴・菊池 寛・水町彰吾・
 柳町きみゑ・栗栖弘光・倉田 浩・大場琢磨

Radiosterilization of Medical Products VI

Studies on Changes of Chemical Properties and Dialysance of Hemodialyzers
 Irradiated by the Gamma Ray of ^{60}Co , and on the Sterilization Effects.

KUSUO TSUJI, HIDEHARU SHINTANI, HIROSHI KIKUCHI, SHOGO MIZUMACHI,
 KIMIE YANAGIMACHI, HIROMITSU KURISU, HIROSHI KURATA and TAKUMA OBA.

Coil type and hollow fiber type dialyzers were irradiated at a dose of 1.0, 2.5 and 5.0 M rad, respectively. Urea, creatinine, uric acid, B.S.P. (bromosulfophthalein) and V.B₁₂ were used for the dialysance test. As the chemical tests, pH, UV-absorbance and consumption of potassium permanganate solution were measured for the saline solution packed in the hollow fiber dialyzer and for the water extracts from the cupurofan films in the coil type dialyzer and from the hollow fibers in the hollow fiber type dialyzer.

As the results, little changes of the dialysance were observed when the hemodialyzers were irradiated even at as strong as 5.0 M rad. On the other hand, pH of the saline solution and the water extracts decreased, but their UV absorbances increased after the irradiation. Furthermore, the irradiation also made the consumption of potassium permanganate solution increase in the case of the saline solution and the water extracts from the hollow fibers. In order to know the sterilization effect by the gamma ray irradiation, the dialyzer, in which *Bacillus pumilus* E 601 ($2 \times 10^8/\text{ml}$) was floated, was irradiated at the range of 1.0 to 5.0 M rad, and survivals of bacteria were determined. From the above experiments, it was found that *Bacillus pumilus* E 601 was perfectly sterilized by the irradiation at more than 2.0 M rad.

(Received May 31, 1980)

目 的

人工腎臓用ダイアライザー (透析器) は、腎不全患者に用いられ、腎臓の血液透析能を補うための人工腎臓の透析装置の中で、最も重要な機能を有するものである。

透析器は、血液をフィルムあるいは中空繊維 (ホローファイバー) の中通しながら、そこを介して透析液中に、老廃物質を排出する作用をもっている。ホローファイバー型にその例をとってみると、ポリカーボネートのケーシングの中に内径 100 μm の中空繊維が 8000~12000 本も収容されている。

透析器は、プラスチックで作られているため、高圧蒸気滅菌が難しく、その大部分は、エチレンオキサイド (EO) により滅菌されているが、形状などから考えて EO が残留しやすいといわれている。

しかし EO は生体に対する毒性などから 1978 年、FDA により、その許容濃度案が提示され、規制の方向に向っている。

このようなことから、透析器の滅菌には放射線滅菌の効果が最適と考えられる¹⁾。そこで照射による透析器を構成している材質の化学的变化や、血液透析能の低下並びに滅菌に対する効果について検討し、照射の最適線量を求めた。

実 験 方 法

1. 実験試料

実験に用いた透析器は市販品で、カプロファン膜を用いたコイル型とあらかじめ生理食塩液が充填されているホローファイバー型の 2 種類で、それぞれ 3 個を用いて行った。

2. 実験装置並びに試薬

分光光度計：島津 UV-210

高速液体クロマトグラフ：島津 LC-3A

分析条件

カラム：SS-10-ODS (A) 4 mm i.d. × 25cm

溶出液：アセトニトリル：水：0.1 M 過塩素酸
ナトリウム=20：70：10

流速：1 ml/min

pH メーター：電気化学計器 HG-3

過マンガン酸カリウム，チオ硫酸ナトリウム：試薬
特級

3. 照射線量

透析器をポリエステルフィルムの滅菌袋に1個づつ入れ、ダンボール箱に収容してコバルト60によるγ線照射を行った後、未照射品と比較検討した。照射線量は1, 2.5 及び 5 Mrad である。

4. 実験方法及びその結果

照射後の透析器の溶出物試験は、滅菌後、1箇月、6箇月及び12箇月後に行い、透析能については1箇月後に行った。

(1) 溶出物試験

照射後、滅菌袋を開封した後、コイル型は直ちにケーシングの一端を静かに切断し、内部のカプロファン膜を取り出し、1 cm² に細断し、その約 10 g を正確にとり、100 ml の水中で 100°、30分間ジモートをを用いて加温し、冷後 100 ml としこれを試験液とした。なおカプロファン膜の総重量は 30.5 g であった。

ホローファイバー型は、充填されている生理食塩液を回収した後、ケーシングの一端を切断し、内部のホローファイバーを取り出し、50° の温風で乾燥する。その約 10 g を正確にとり、水 100 ml 中で 100° 30分間

同様に加温抽出し、冷後 100 ml とし、これを試験液とした。また回収した充填生理食塩液は、そのままの溶液を試験液とした。なおホローファイバーの総重量は約 35 g、生理食塩液の総量は約 100 ml であった。

i) pH の差

各試験液約 20 ml をとり、0.1% 塩化カリウム液 1 ml を加え、日局に従い、pH を測定し、別に水約 20 ml をとり、同様の方法で pH を測定し両者の pH の差を求めた。その結果を Fig.1 に図示したが、カプロファン膜及びホローファイバーの各試験液並びに充填液である生理食塩液の pH は、照射線量の増加に伴い低下し、2.5 Mrad の照射で pH は約 1, 5 Mrad で

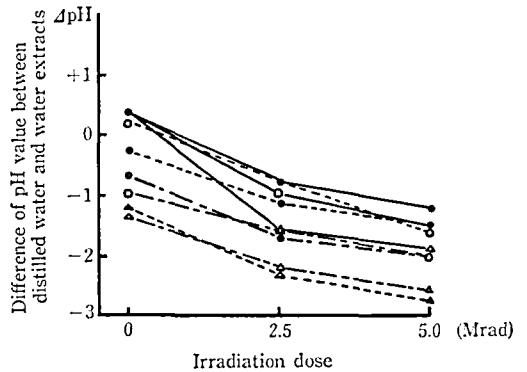


Fig. 1. Relation between irradiation dose and ΔpH of water extracts from cupurofan films and hollow fibers, and the saline solution in hemodialyzers
 — after 1 month ○ cupurofan film
 - - - after 6 months ● hollow fiber
 - - - after 12 months △ saline solution

Table 1. The changes of consumption volume of 0.01 N potassium permanganate solution for the water extracts from cupurofan films and hollow fibers, and for the saline solution by gamma ray irradiation

Solution	Consumption volume of 0.01 N KMnO ₄ for 10 ml of the solution (ml)								
	non irradiated			2.5 M rad.			5.0 M rad.		
	after 1 month	after 6 months	after 12 months	after 1 month	after 6 months	after 12 months	after 1 month	after 6 months	after 12 months
water extract from cupurofan films	194.0	190.5	105.5	200.9	200.2	103.9	200.9	191.5	99.0
water extract from hollow fibers	0.1	1.6	4.5	1.1	2.8	8.6	2.4	3.8	7.3
saline solution	1.8	3.0	8.3	7.6	8.0	10.9	10.8	11.6	16.3

は更に約 0.5 低下する傾向がみられた。また照射経過日数の多いほど pH は低い値を示した。

ii) 過マンガン酸カリウム還元性物質

カプロファン膜の試験液 2 ml をとり、水を加え 10 ml とする。これに 0.01N 過マンガン酸カリウム液 20 ml 及び希硫酸 1 ml を加え、3 分間煮沸し、冷後これにヨウ化ナトリウム 0.1 g 及びデンプン試液 5 滴を加え、0.01N チオ硫酸ナトリウム液で滴定した。別に試験液の代わりに水 10 ml を用い、同様に操作し 0.01N チオ硫酸ナトリウムの差を求めた。

ホローファイバーの場合は、試験液 10 ml をとり、10%硝酸銀 2 ml を加え、1 夜放置後、静かにろ別する。沈殿物は水で 4 回洗浄し、その洗液をろ液に加える。また充填生理食塩水の試験では、その液 10 ml をとり、10%硝酸銀 5 ml を加え以下同様の操作を行う。その各々の液に 0.01N 過マンガン酸カリウム液 20 ml 及び希硫酸 1 ml を加え、3 分間煮沸させ、直ちに 0.01N 蔞酸ナトリウム液 20 ml を加えたのち、過剰のシュウ酸ナトリウム液を 0.01N 過マンガン酸カリウム液で滴定した。これらの結果を Table 1 に示した。カプロファン膜の照射線量による影響は、ほとんど認められなかったが、ホローファイバー及び充填液は、照射線量に比例して、やや過マンガン酸カリウム還元性物質は増加の傾向にあった。このことは経過日数についても同様であった。

iii) 紫外吸収スペクトル

それぞれの試験液約 2 ml をとり、波長 220 nm で紫外吸収を測定し、水の空試験液との吸光度の差を Fig. 2 に示した。

いずれの試験液も、照射線量の増加に伴い、ほぼ直線的に吸光度が増加していくことがわかった。しかし経過日数にはほとんど関係がなかった。

(2) 透析能試験

実際の臨床に用いられているコイル型透析器（カプロファン膜使用）とホローファイバー型透析器に γ 線を照射し、その場合の照射線量と透析能の関係について検討を行った。

i) 透析物質並びに試験液の調製

γ 線照射による透析器の血液透析能の変化を測定するため透析物質を含んだ試験液を、次のように調製した。実験に用いた透析物質は、尿素など 5 種類で、それらの溶解度の関係から、試験液を A, B の 2 つに分けた。試験液 A は逆滲透水 20 l に尿素 20 g, ビタミン B₁₂ 400 mg を加えたもので、試験液 B は市販透析液 570 ml に逆滲透水を加えて 20 l とし、それに尿酸 200 mg, クレアチニン 2 g 及びスルフォプロモフ

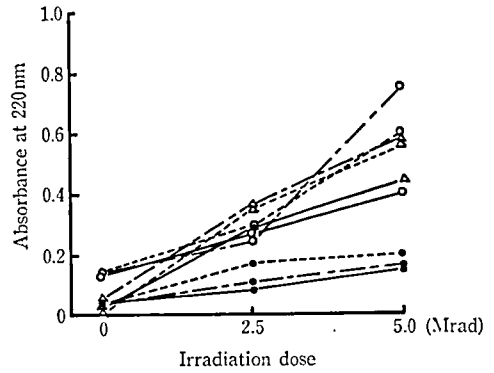


Fig. 2. Relation between irradiation dose and absorbance at 220 nm of water extracts from cupurofan films and hollow fibers, and the saline solution in hemodialyzers
— after 1 month ○ cupurofan film
- - - after 6 months ● hollow fiber
- · - after 12 months △ saline solution

タレイン (BSP) 1.5 g を加えたものである。

ii) 透析能の測定

照射 1 箇月後の透析器を 15 分間水洗したのち、設定された透析回路装置を用い、市販の透析液を 37° 流量 500 ml/min で透析液回路に流す。一方、試験液 A 及び B を、それぞれ別々に 50, 100, 150, 200, 250, 300 ml/min の流速で血液回路側に還流させ、規定時間ごとに 10 ml づつ採取し、その 100 μ l を高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入して尿素及びビタミン B₁₂ を 210 nm で、尿酸、クレアチニン及び BSP を 260 nm における紫外吸収で、それぞれ定量した。その結果を Fig. 3, 4 に示した。

コイル型、ホローファイバー型いずれの透析器とも、 γ 線の照射による透析能の低下はみられず、尿素、クレアチニン、尿酸については、末照射に比べて、やや高い透析能を示した。

(3) ホローファイバー型透析器の放射線滅菌効果の測定及び無菌試験

i) 指標菌株及び培地

放射線滅菌の指標菌²²⁻²⁵⁾には、*Bacillus pumilus* E601 株の芽胞を用いた。菌数の測定は Trypticase soy agar 培地を用い、照射後の無菌試験は、Trypticase soy broth を使用した。透析器の無菌試験に用いた洗浄液は、1000 ml の三角フラスコに 0.1% Tween 80 加生理食塩液²⁶⁾を約 500 ml ずつ分注し、高圧蒸気滅菌した。

ii) 試験方法

照射に供した試料は、透析器の血液回路側に、指標

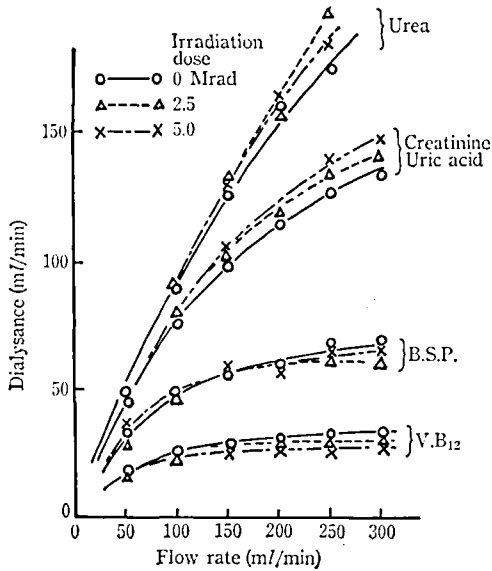


Fig. 3. Dialysance of coil type dialyzers irradiated by gamma ray of ⁶⁰Co

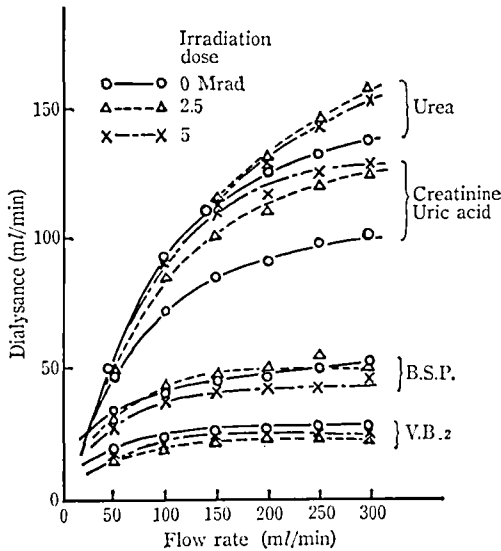


Fig. 4. Dialysance of hollowfiber type dialyzers irradiated by gamma ray of ⁶⁰Co

菌芽胞 2×10^8 /ml を浮遊させた生理食塩液 100 ml を、透析液回路側には滅菌生理食塩液をそれぞれ充填し、1, 1.5, 2, 2.5, 5 Mrad の γ 線照射を行った。試料は、照射中を除き $4 \sim 5^\circ$ に冷却保存した。

殺菌効果の測定は、照射後の各試料から血液回路側の指標菌加生理食塩液を無菌的に採取し、その 1 ml 及び 10 倍段階希釈液各 1 ml ずつを Trypticase soy

Table 2. Sterilization of the indicator floated in hollow fiber type dialyzer by ⁶⁰Co irradiation

Irradiation dose (Mrad)	Initial spore number (1 ml)	Survival number (1 ml)
1	2×10^4	4×10^3
1.5	2×10^8	2×10
2	2×10^8	0*
2.5	2×10^8	0*
5	2×10^8	0*

Biological indicator: *Bacillus pumilus* E 601

Medium: Trypticase Soy Agar

* : Count of 30 ml by Membran filter method

Table 3. Sterilization of the indicator floated in hollow fiber type dialyzer by ⁶⁰Co irradiation

Irradiation dose (Mrad)	Sample solution			
	Filled solution JP (5 ml)	USP (30 ml)	Washing solution JP (5 ml)	USP (200 ml)
1	+	+	+	+
1.5	+	+	+	+
2	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-
5	-	-	-	-

USP: USP membrane filtration method

(+): Sterility tests Positive

(-): Sterility tests Negative

Medium: Trypticase Soy Broth

agar で混釈し、 37° 、48~72時間培養後、平板上に発育した菌集落から生残菌数を求めた。また同一試料から採取した指標菌加生理食塩液 30 ml を孔径 $0.45 \mu\text{m}$ 、直径 47 mm のメンブランフィルターでろ過したのち、Trypticase soy agar 平板上におせ、ペトリ皿を密封し 37° 、48~72時間培養後、メンブランフィルター上に発育した菌集落をメチレンブルー染色法により測定し、生残菌数を求めた。

無菌試験は、日局の直接培養法と、米局のメンブランフィルター法⁸⁾に準じて行った。試験は、照射した透析器の血液回路側に充填した指標菌加生理食塩液及び無菌試験用洗浄液について行った。洗浄液は、500 ml を血液ポンプにより透析器の血液回路側を無菌的に毎分 430 ml の流速で10分間循環させた液を用いて試験した。日局法では、これら試験液の各 5 ml を、Trypticase soy broth 40 ml に加えた。またメンブラ

ンフィルター法では、無菌的に指標菌加生理食塩液を約 30 ml、洗浄液は約 200 ml を無菌的にろ過したのち、メンブランフィルターを Trypticase soy broth 40 ml を入れた試験管に加え培地中に浸したのち、35 $^{\circ}$ 、7日間培養し、菌の発育増殖による培地の混濁の有無から無菌試験の陽性又は陰性の判定を行った。

これらの実験結果から、滅菌効果については、1 Mrad の照射では 4×10^3 /ml の生残菌が認められ、1.5 Mrad では 20/ml の生残菌が認められたが、2 Mrad 以上の実験群はすべて滅菌された。(Table 2)

無菌試験法の検討を滅菌効果と同様な試料を用い、日局の直接培養法と米局のメンブランフィルター法に準じて試験した結果、両試験方法とも同じ結果が得られ相違は認められなかった。(Table 3)

考 察

透析器に γ 線を照射した場合のカプロファン膜及びホローファイバー並びにその充填液の化学的な影響は、一般的な傾向としては、照射線量の増加に伴って、溶出液の pH の低下、あるいは紫外吸収の増加という結果がえられたが、過マンガン酸カリウム還元物質は、その傾向が少く、特にカプロファンの場合、ほとんど影響されていなかった。これは、カプロファン膜の乾燥を防止するために、グリセリンなどが添加されているため、それが還元性物質として作用し、Table 1 から明らかのように還元性物質の総量としてはホローファイバーに比べて約20倍も多かった。この傾向については、前報¹⁰⁾の γ 線照射による医療用不織布とは異なっていた。

透析能と 5 Mrad までの照射線量との間には、直接関係はみられず、照射線量の多い程、尿素、クレアチニン、尿酸については高い透析能を示し、この結果は前の3つの実験結果とは異なる傾向であった。

放射線滅菌の効果に関しては、滅菌に影響をあたえる環境因子⁹⁾として、酸素分圧、水分含量、温度、pH などがあるが、本試験のように生理食塩液中に浮遊させた指標菌の場合は、酸素分圧、水分含量とも滅菌効果を高める方向に作用することが考えられる。したがって、本試験でも 10^8 /ml の指標菌液を用いたが、2 Mrad 以上の照射で滅菌されたものと思われる。この結果、実験に使用した指標菌芽胞の decimal reduction dose (D値) は 0.25 であるが最初の平均汚染菌数が 10^2 個以下ならば、2.5 Mrad 以上の照射線量により、6D の安全度で滅菌が行われるものと考えられる。

水溶液を充填してあるホローファイバー型透析器の

無菌試験法として、従来の日局による直接培養法と、メンブランフィルターを用い多量の検水をろ過し、含まれる微量の微生物をフィルター上に集菌し、このフィルターを培養する方法で検出率を高めた米局のメンブランフィルター法を用い、滅菌後の微量の生残菌の検出について検討したが、生残菌数が多数であるか、又は完全に滅菌されたかのいずれかであったため、両試験法の結果は同一となり、差異は認められなかった。

結 論

人工腎臓透析器のコイル型及びホローファイバー型に、 γ 線を 2.5, 5 Mrad 照射した場合の膜材の化学的特性と透析能の変化並びに、1~5 Mrad 照射による透析器の殺菌効果と、無菌試験について実験を行い次のような結論をえた。

1) γ 線照射後、膜材を取り出し、その溶出液について pH 並びに紫外吸収 (220 nm) を測定した結果、いづれにもその影響が認められ、線量の増加に伴い、pH は低下し、吸光度は増加の傾向にあった。しかし過マンガン酸カリウム還元性物質は、その傾向は少なかった。照射後の経過日数から検討してみると、pH と過マンガン酸カリウム還元性物質は、6箇月、12箇月と時間が経過するほど、pH の低下、還元性物質の増加がみられたが、紫外吸収では、ほとんどその関係は認められなかった。

2) コイル型及びホローファイバー型透析器に γ 線を照射し、透析物質として尿素、クレアチニン、尿酸、BSP 及び VB₁₂を用いて、透析能に及ぼす影響を調べたところ、その影響の少ないことが判明した。

3) 滅菌効果については、透析器の血液回路側に指標菌芽胞を含む生理食塩液を充填し、1~5 Mrad の照射滅菌をしたところ、2 Mrad 以上で十分な滅菌効果が認められた。

無菌試験法は、生理食塩液を充填したホローファイバー型を用い、日局及び米局メンブランフィルター法について行ったが、本実験では同一の結果がえられ両者の差は認められなかった。

本研究は、昭和53年度科学技術庁、国立研究機関原子力試験研究費によった。おわりに、本研究にあたり、ご協力を頂いたニプロ医工(株)筋内正孝、中村裕阿氏に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 療品研究会編：医療用機器基準解説，p. 557 (1976) 薬業時報社
- 2) USP, XIX, p. 711

- | | |
|--|--|
| 3) NF, XIV , p. 1058 | 170 (1975) 光文堂 |
| 4) IAEA: <i>Code of Practice for Radiosterilization of Medical Products</i> , (1969) | 7) FP, IX , II-212-6 |
| 5) 日本公定書協会編: 第9改正日本薬局方解説書, P. B-523 (1976) 広川書店 | 8) USP, XIX , P. 594 |
| 6) 綿貫 喆ら編: 滅菌法・消毒法, 第4集, P. | 9) 綿貫 喆ら編: 滅菌法・消毒法, 第4集, P.31 (1975) 光文堂 |
| | 10) 辻 楠雄ら: 衛生試験報, 96, 35 (1978) |

室内空気汚染に関する研究 (第1報)
大規模建築物内における窒素酸化物濃度について

松村年郎・樋口英二*1・村松 学*2・谷村顕雄
亀谷勝昭・河上一美

Studies on Indoor Air Pollution I

The Concentration of Nitrogen Oxides in Air in Large Buildings

Toshiro MATSUMURA, Eiji HIGUCHI, Satori MURAMATSU, Akio TANIMURA
Katsuaki KAMETANI and Hitomi KAWAKAMI

To obtain the basic data necessary in establishing the standard of air quality of the "law concerning in the conservation of sanitary environment in buildings," the concentration of NO_x in air was measured in large buildings in Tokyo, in a period from February to December, 1978.

1) Maxima of one-hour average values of NO₂ and NO were 0.083 and 0.302 ppm in an office, 0.050 and 0.165 ppm in a dining hall of a department store, 0.108 and 0.145 ppm in a cookery and 0.173 and 0.50 ppm in a shop of underground.

2) The ratios of NO₂ concentration in indoor air to that of outdoor air, obtained from the eight hour or ten hour average values, were 0.6-0.8 in an office, 0.6 in a dining hall of a department store, 4.5 in a cookery and 1.2 in a shop of underground.

3) The ratios of NO concentration in indoor air to that of outdoor air, obtained from the eight hour or ten hour average values, were 1.1-1.7 in an office, 1.7 in a dining hall of a department store, 3.0 in a cookery and 1.3 in a shop of underground.

From the above mentioned results, it was considered that NO₂ in air is adsorbed to the wall of room or furniture but NO is not, because the concentration of NO in indoor air was higher than that of NO₂.

(Received May 31, 1980)

近年、経済の高度成長、都市圏への人口集中、土地の有効利用、建築技術の進歩等により建築物の高層化、大型化が進められている。これら大型建築物は、室内空気質を一定に保つために空気調和設備を設けて集中管理を行っている。したがって、これら建築物はおのづから密閉構造をとり建築物内の人々は自らの意志により室内空気環境を変えられない。このように管理系統が一元化された大型建築物においては空気質の維持管理が適切でない場合、人の健康への影響はより直接的である。このような弊害を規制するために、昭和45年4月に建築物における衛生的環境の確保に關

する法律（通称、ビル管理法）が制定された。しかしながら、現在ビル管理法における空気質の衛生管理基準は、一酸化炭素、二酸化炭素、浮遊粒子状物質について規制されているのみで、二酸化窒素、二酸化硫黄等に関しては規制されていない。特に、窒素酸化物(NO_x)に関しては室内発生源（喫煙、燃焼器具）の影響を受けやすく、更に外気からの影響を考えれば、室内 NO_x の人への影響は大気汚染以上に重要視しなければならないであろう。近年、国内的にも、国際的にも NO_x による室内空気汚染に関心が高まってきており、これらに関する報告¹⁻⁴⁾も見受けられる。また、EPA⁵⁾においても室内空気環境基準の設定準備にとりかかっている。

*1 電気化学計器株式会社

*2 東京都衛生局

本研究は、上述のような観点に立ってビル管理法の対象となる大規模建築物内の NO_x 汚染の実態を大気汚染状況、室内発生源及び空調設備との関連において究明し、ビル管理法における NO_x の衛生管理基準設定の基礎資料を得るために行った。

調査方法

1. 調査対象建築物の概要

調査はビル管理法の対象（床面積 3000 m^2 以上）となる特定建築物 4 箇所について昭和 53 年 2 月から 12 月にかけて実施した。調査を行った建築物の所在地、建築構造、空気の浄化方法、空調時間、調査室内の広さ、その在室人員及び測定期間等については Table 1 に一括して示した。

2. サンプルング位置

大規模建築物における空気環境の調整は一般的には外気をフィルターで浄化したのち、温度、湿度等を調整し、ダクトを用いて各階に送風する中央管理システムをとっている。したがって、本調査においてはサンプルング場所は外気の取入口（ビルディング No. 1, 2, 3 及びデパートはそれぞれ 50, 50, 40 及び 12 m である。なお、オフィス No. 3 と地下街は同一建築物内にあり、しかも空気浄化系統も同じであることからサンプルング場所は同じ）と室内（室内はいつでも室の中央、床上 1.5 m、ただし、ビル地下街のサンプルング場所は店頭との境界、路上 1.5 m）の 2 箇所を選定し、室内外の濃度を同時に測定した。

3. 自動計測器

本調査に使用した自動計測器は、環境基準の標準測定法に定められたザルツマン試薬を用いる吸光度法の NO_x 自動計測器（ザルツマン係数 0.84、一酸化窒素の酸化率 70%）である。

4. 測定値の集計

現在、わが国で広く使用されている自動計測器によって得られる測定値は、1 時間の平均値を基本としている。本報においては、1 時間値を基に下記のように測定値の集計を行い解析に供した。なお、日別 8 時間平均値、日別 10 時間平均値、全 8 時間平均値及び全 10 時間平均値の算出にあたっては、ビル管理法における衛生管理基準が建築物の使用時間中の平均値で設定されているので、これを参考に集計を行った。また、1 日の総有効測定時間は大気汚染防止法施行規則第 6 条に基づいて 20 時間以上とした。なお、日別 8 時間平均値及び日別 10 時間平均値の算出にあたっては、1 時間でも欠測がある場合には評価の対象から除外した。

日平均値：1 日の総有効測定時間の測定値の算術平

均値

時刻別平均値：0～24 時における毎時刻（例えば、0～1 時）の測定値の測定期間中の算術平均値

全平均値：測定期間中に得られた全測定値の算術平均値

日別使用 8 時間及び 10 時間平均値：オフィス、デパート（食堂）及び地下街の使用時間中に得られた測定値の測定日ごとの算術平均値

オフィス：9～17 時

デパート：10～18 時

地下街：11～21 時

全使用 8 時間及び 10 時間平均値：オフィス、デパート（食堂）及び地下街の使用時間中に得られた全測定値の算術平均値

結果及び考察

1. 二酸化窒素 (NO_2) 濃度

Table 2 に示したようにオフィス及びデパート（食堂）における NO_2 濃度は外気に比べていずれも低くなっている。このことは室内発生源が少なかったこと、換気が比較的ゆきとどいていたこと、更には NO_2 が吸着性のあるガスであるためダストフィルター、送気ダクト等に吸着され減少したためと考えられる。また、室内外の濃度比について、全平均値と全使用 8 時間及び 10 時間平均値（全使用時間平均値）を用いて比較した場合、オフィス及びデパート（食堂）とも全使用時間平均値の方が高く、喫煙等の室内発生源の影響が認められた。次に、各建築物における NO_2 濃度の日変化について述べる。

Fig. 1 は各建築物内及びその周辺の外気の NO_2 濃度の日変化を示したもので、オフィス、デパート（食堂）、厨房及び地下街における室内外の日変化パターンは極めて類似している。また、各建築物における日別 8 時間及び 10 時間平均値（日別使用時間平均値）を用いてそれぞれ室内外の相関を検討した。その結果、各建築物においては、高い相関（オフィス No. 3 r : 0.93、地下街 r : 0.99、食堂 r : 0.90、なお、厨房は測定期間が少くないので省略した）が認められた。

特に地下街の相関が高いのは、オフィスに比較し地下街は密閉性に乏しく外気の流通がよかつたためと考えられる。

これらのことから室内 NO_2 濃度は外気濃度に影響されており、外気を不織布等のフィルターで浄化しただけでは NO_2 などのガス状汚染物質の除去は一部可能ではあるが、より新鮮な浄化空気を得ようとするな

Table 1. Characteristics of buildings in which nitrogen oxides were measured

		Building No.1		Building No.2		Building No.3		Department store	
		Office		Office		Office		Dining hall	
		Chiyoda-ku, Tokyo		Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo		Yurakuchō, Chiyoda-ku, Tokyo		Yurakuchō, Chiyoda-ku, Tokyo	
Location		Kudan, Chiyoda-ku, Tokyo		Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo		Yurakuchō, Chiyoda-ku, Tokyo		Yurakuchō, Chiyoda-ku, Tokyo	
Size, m ²		11299		27505		6447		31639	
Kind of filter		Coarse filter		Coarse filter		Coarse filter		Coarse filter	
Air conditioning periods		Mon.~Fri.	8 : 0 a.m.~5 : 30 p.m.	8 : 30 a.m.~6 : 0 p.m.	8 : 30 a.m.~5 : 30 p.m.	8 : 30 a.m.~11 : 0 p.m.	8 : 30 a.m.~5 : 30 p.m.	9 : 30 a.m.~6 : 10 p.m. ^{a)}	
		Sat.	8 : 0 a.m.~1 : 30 p.m.	8 : 30 a.m.~0 : 0 p.m.	8 : 30 a.m.~1 : 30 p.m.	8 : 30 a.m.~11 : 0 p.m.	8 : 30 a.m.~11 : 0 p.m.	9 : 30 a.m.~6 : 40 p.m.	
		Sun. and public holiday	Stop	Stop	Stop	8 : 30 a.m.~11 : 0 p.m.	8 : 30 a.m.~11 : 0 p.m.	9 : 30 a.m.~6 : 10 p.m.	
Space of floor, m ²			214	60	420			280	195
The number of person in a room			35 (smoker, 15)	14 (smoker, 8)	125 (smoker, 65)	8400 ^{b)}	12000 ^{c)}	1400 ^{d)}	25
Sampling periods		Feb. 26~Mar. 25, 1978	Apr. 6~Apr. 26, 1978	Apr. 6~Apr. 26, 1978	Oct. 20~Nov. 16, 1978	Nov. 19~Dec. 16, 1978	Nov. 16, 1978	May. 27~Jun. 15, 1978	Jun. 17~Jun. 21, 1978

a) Thursday is a shop holiday

b) Number of passer on a weekday

c) Number of passer on sunday or public holiday

d) Number of person who used dining hall in a weekday

e) Number of person who used dining hall in sunday or public holiday

Table 2. Measurement results of NO₂ and NO in various buildings

Building	Measurement periods	Pollutants	Indoor or outdoor	Number of hours	Number of days	Hourly value		Daily average		8 hour average (9 a.m.~5 p.m.) for 1 day		Average 8 hour average value for value (~5 p.m.) for measurement periods		Indoor Outdoor ratio	unit: ppm
						min.	max.	min.	max.	min.	max.	[1]	[2]		
Building No.1	Feb. 26 } Mar. 25, 1978	NO ₂	In.	671	28	0.005 >	0.033	0.005	0.014	0.005	0.026	0.010	0.016	0.45	0.70
			Out.	666	28	0.005	0.062	0.014	0.034	0.012	0.044	0.022	0.023		
	NO	In.	668	28	0.005	0.201	0.015	0.092	0.009	0.091	0.044	0.033	1.21	1.27	
		Out.	668	28	0.005 >	0.289	0.007	0.093	0.008	0.081	0.033	0.026			
Building No.2	Apr. 6 } Apr. 26, 1978	NO ₂	In.	499	21	0.008	0.082	0.010	0.032	0.012	0.054	0.022	0.033	0.65	0.80
			Out.	498	21	0.005 >	0.092	0.014	0.046	0.014	0.065	0.034	0.041		
	NO	In.	497	21	0.005 >	0.173	0.009	0.094	0.008	0.100	0.041	0.050	1.05	1.11	
		Out.	496	21	0.005 >	0.267	0.006	0.083	0.007	0.105	0.039	0.045			
Building No.3	Oct. 20 } Nov. 16, 1978	NO ₂	In.	670	28	0.005	0.083	0.008	0.036	0.007	0.038	0.020	0.032	0.47	0.57
			Out.	671	28	0.013	0.165	0.023	0.060	0.025	0.080	0.043	0.056		
	NO	In.	670	28	0.016	0.302	0.048	0.122	0.038	0.171	0.090	0.069	1.53	1.68	
		Out.	671	28	0.005 >	>0.50	0.029	0.100	0.016	0.126	0.059	0.041			
Building No.3	Nov. 19 } Dec. 16, 1978	NO ₂	In.	668	28	0.016	0.173	0.038	0.090	0.040	0.127	0.055	0.071 ²⁾	1.31	1.15
			Out.	671	28	0.025	0.182	0.026	0.075	0.032	0.124	0.042	0.062 ²⁾		
	NO	In.	668	28	0.010	>0.50	0.045	0.258	0.046	0.268	0.117	0.106 ²⁾	1.04	1.28	
		Out.	671	28	0.012	>0.50	0.044	0.261	0.026	0.248	0.113	0.083 ²⁾			
Department store	May. 27 } Jun. 15, 1978	NO ₂	In.	444	19	0.005 >	0.050	0.007	0.024	0.011	0.044	0.014	0.022	0.42	0.58
			Out.	431	19	0.010	0.078	0.021	0.052	0.015	0.061	0.033	0.038		
	NO	In.	446	19	0.006	0.165	0.026	0.087	0.011	0.077	0.055	0.040	1.96	1.67	
		Out.	440	19	0.005	0.181	0.009	0.061	0.005	0.062	0.028	0.024			
Department store	Jun. 17 } Jun. 21, 1978	NO ₂	In.	118	5	0.005 >	0.108	0.023	0.032	0.051	0.074	0.028	0.063	2.80	4.50
			Out.	119	5	0.005 >	0.022	0.009	0.012	0.012	0.016	0.010	0.014		
	NO	In.	120	5	0.033	0.145	0.060	0.084	0.070	0.113	0.073	0.086	2.81	2.97	
		Out.	119	5	0.005	0.061	0.017	0.035	0.018	0.055	0.026	0.029			

1) Business hours

2) 10 hour average value (11 a.m.~9 p.m.)

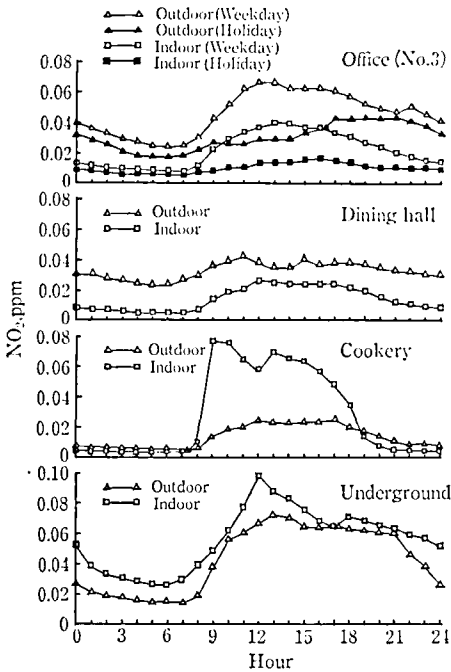


Fig. 1. Hourly variation of nitrogen dioxide concentration in indoor and outdoor air

らば、粒子状及びガス状汚染物質の双方の除去能力を備えたフィルターあるいはよりベターな浄化システムの選定が必要となるであろう。また、Fig. 1の中で、休日におけるオフィスは換気系統は停止しており室内外はシャ断された状態で、いわばこのオフィスにおけるバックグラウンドとみなされる。それにもかかわらずFig. 1に示すように、 NO_2 濃度はわずかではあるが日変化を示している。(他のオフィスは日変化は示さなかった。)このことは、このオフィスが地下街(飲食店等の室内発生源を有す)を有し、休日においても営業を行っており、これらより発生する NO_x が階段を通じて拡散し、それが自然換気形で若干オフィスに侵入してきたためと考えられる。

次に、各建築物において得られた日別使用時間平均値を用いて濃度出現頻度分布を検討した。ビル管理法における空気質の衛生管理基準は、建築物の使用時間中に得られた測定値の算術平均値で設定されている。したがって、ここではオフィス、デパート(食堂)及び地下街において得られた日別使用時間平均値を基に累積相対度数分布を作成し、これを対数正規確率紙にプロットし、Fig. 2に示すような各建築物における日別使用時間平均値の濃度出現頻度分布を作成した。その結果をちなみに NO_2 の一般大気環境基準(日平均値が0.04 ppmから0.06 ppmまでのゾーン内又はそ

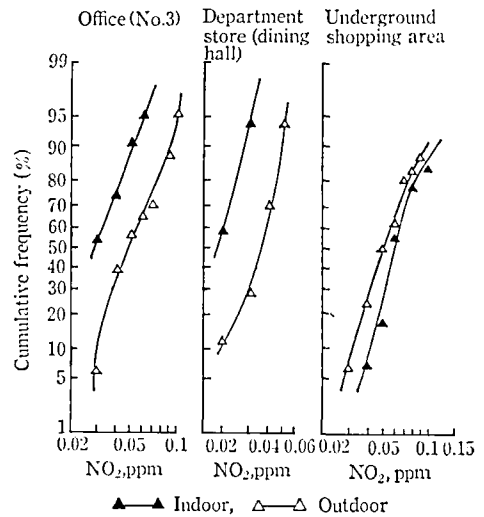


Fig. 2. Logarithmic frequency distribution of nitrogen dioxide concentration in indoor and outdoor air

れ以下)と対比した。その結果、日別使用時間平均値が0.06 ppmを越える割合はオフィス約5%、デパート0%、地下街約40%であった。次に、これらの結果について若干検討を行った。Table 1にも示したようにオフィス(No. 3)においては常時在室者が106人いるが、このうち65人(61%)が喫煙者であるため、このオフィスにおいては喫煙の影響を受けたためと考えられる。また、デパートの食堂においては不特定多数の人々が毎日利用しているにもかかわらず、0.06 ppmを越える日は1日もなかった。このことは食堂に併設されて厨房があり、この厨房には非常に大きな排気量($230 \text{ m}^3 \cdot \text{h}/\text{m}^2$)をもつフードがあること、そして食堂には還気シャフトも働いており、更に新鮮空気の供給($13 \text{ m}^3 \cdot \text{h}/\text{m}^2$)も常時行われていることなどから、食堂内の NO_2 濃度は予想外に低かったものと考えられる。また、地下街においては、営業店舗が68あるが、そのうち34店舗が飲食店、4店舗が喫茶店である。これら店舗においては当然燃焼器具を使用していること。また、この地下街を利用する人々は平日で8400人、休日で12000人にも達しており、当然この中には喫煙する人もあろうし、これらの原因が相重なりあって全測定日数のうち40%が0.06 ppmを越えたものと考えられる。

2. 一酸化窒素 (NO)

Table 2に示したように調査を行ったどの建築物においても室内 NO 濃度は外気に比べて比較的高かった。このことは室内での NO の発生源が存在(喫煙、燃焼器具)すること、 NO が NO_2 と異なって空気浄

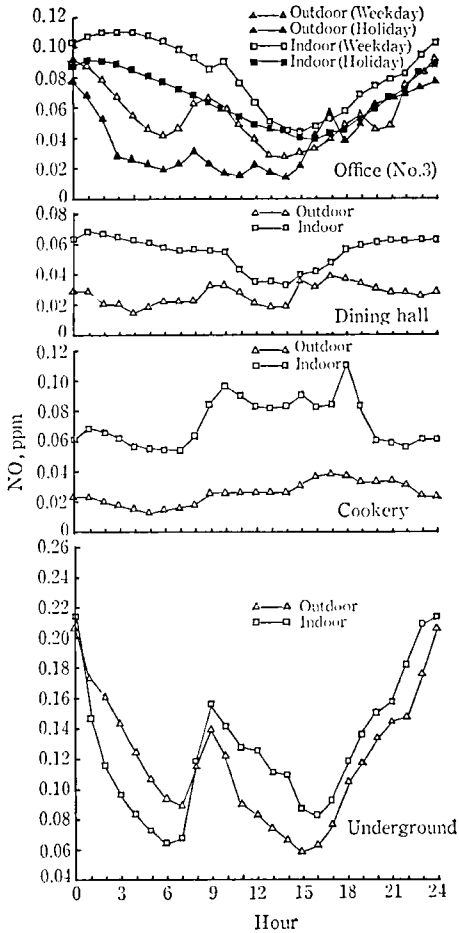


Fig. 3. Hourly variation of nitrogen monoxide concentration in indoor and outdoor air

化フィルター、壁などに吸着されないためにおこったものと考えられる。また、室内外の濃度比について、全平均値及び全使用時間平均値を用いて比較した場合、各建築物（デパートを除く）は当然のことながら使用時間平均値の方が高かった。次に各建築物におけるNOの日変化をFig. 3に示したが、厨房を除いた。建築物の日変化パターンは夜に濃度が高く、昼に低くなる典型的なすりばち型のパターンを示し、室内外とも類似した変動を示していた。次に、NO₂同様、各建築物における日別使用時間平均値及びこれに対応する外気の平均値を用いる室内外のNO濃度の相関を検討した。その結果、いずれの建築物においても室内外のNO濃度には相関（オフィスNo. 3 r : 0.82, デパートの食堂 r : 0.93, 地下街 r : 0.98, なお、厨房は測定期間が少くないので省略した。）が認められた。このことは、建築物の使用時は空調設備が働いており、

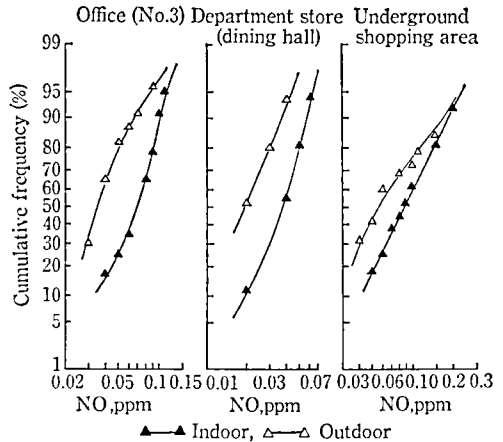


Fig. 4. Logarithmic frequency distribution of nitrogen monoxide concentration in indoor and outdoor air

当然新鮮空気を補給する上からも外気を取り入れており、そのため外気中のNOが室内に取りこまれ、相関が生じたものと考えられる。特に、地下街の相関が高いのはオフィスと異なって地下街は密閉性に乏しく外気の流通が比較的良好なことも一因として考えられる。Fig. 4は各建築物において得られた日別使用時間平均値を基に累積相対度数分布を作成し、これを対数正規確率紙上にプロットし、使用時間平均値の濃度出現頻度分布を示したものである。その結果、使用時間平均値が0.1 ppmを超える割合はオフィスNo. 3 10%、デパートの食堂0%、地下街40%であった。

ま と め

大規模建築物内におけるNO_x汚染の実態を明らかにするため、東京都内のビル管理法の対象となる特定建築物4箇所を選定し、1978年2月から12月にかけて調査を実施した。その結果、次のような点が明らかとなった。

NO₂ 濃度

(1) 1時間値の最高はオフィス0.083 ppm, デパート0.050 ppm, 厨房0.108 ppm, 地下街0.173 ppmであった。

(2) ビル管理法の衛生管理基準に基づいて、各建築物における使用時間中の平均値を算出した結果、各建築物の使用時間中の平均値の最高はオフィス0.054 ppm, デパート0.044 ppm, 厨房0.074 ppm, 地下街0.127 ppmであった。

(3) 室内外の濃度比（各建築物の全使用時間平均値を用いて算出）についてみると、オフィス0.6~0.8,

デパート 0.6, 厨房 4.5, 地下街 1.2 で、室内に大きな発生源を有する厨房及び不特定多数の人々が毎日利用し、かつ小規模な室内発生源が多数存在する地下街において室内濃度が高かった。

(4) 大規模建築物は一般に新鮮空気として外気を不織布等を用いて浄化し、これを新鮮空気として用いているが、このフィルターによるガス状汚染物質の除去は比較的難しく、気象条件などにより外気濃度が高くなった時には、室内濃度も同様に高くなる。したがって、外気の影響をより少なくするためには使用するフィルターの選定などをより考慮する必要がある。

NO 濃度

(1) 1時間値の最高はオフィス 0.302 ppm, デパート 0.165 ppm, 厨房 0.145 ppm, 地下街 0.50 ppm 以上であった。

(2) 使用時間平均値の最高はオフィス 0.171 ppm, デパート 0.077 ppm, 厨房 0.113 ppm, 地下街 0.268 ppm であった。

(3) 室内外の濃度比についてみるとオフィス 1.1~1.7, デパート 1.7, 厨房 3.0, 地下街 1.3 で、いずれの建築物においても室内濃度が高かった。このことは NO が NO₂ と異なって空気浄化系統及び室内の壁、器物などによつて吸着せず室内に滞留したこと、更に喫煙によつて発生する NO_x の大部分は NO であることなど種々の影響を受けたためと考えられる。

以上、今回はビル管理法における空気質の衛生管理基準の未設定である NO_x について、大規模建築物内の NO_x 汚染を中心に報告したわけであるが、近代設

備のととのった大規模建築物内の空気質は一見清浄に見えるが、室内発生源あるいは大気汚染の室内侵入等により室内は予想以上に汚染されていた。特に、NO₂ に関してはオフィスはそれほど問題となる濃度ではなかったが、種々雑多な用途に利用されている地下街においては汚染はかなり進行していた。一方、NO に関しては今回調査を行ったすべての建築物において室内 NO 濃度が外気に比べて高かった。現在、NO の人に対する影響は NO₂ ほど解明されていないが、変異原性が認められたという報告⁶⁾もあり、NO についても十分注目していかねばならない問題であろう。

今後、引続いて室内 NO_x 汚染(特に、季節変動をふまえた)に関する基礎的なデータの積み重ねと評価を行い、得られたデータを基にビル管理法における NO_x の衛生管理基準設定の基礎資料としたい。

文 献

- 1) R. L. Derham, G. Peterson, R. H. Sabersky, F. H. Shair: J. Air Pollution Control Assoc., 24, 158 (1974)
- 2) W. A. Wade, W. A. Cote, J. E. Yocom: *ibid.*, 25, 933 (1975)
- 3) 長谷川利雄, 城戸勝義, 小猿和男: 公害と対策, 12, 82 (1976)
- 4) 佐鷗幸男, 星川欣考: 産業公害, 12, 37 (1976)
- 5) GEOMET Report Number EF-547, October 8 (1976)
- 6) 磯村公郎, 深瀬 治, 渡辺 弘: 大気汚染研究, 11, 59 (1976)

蜂蜜中の中毒原因物質の検索

斎藤行生・光楽昭雄・佐々木久美子・佐竹元吉・内山 充

Detection of the Poisonous Substances in the Honey which Caused the Intoxication

Yukio SAITO, Akio MITSURA, Kumiko SASAKI, Motoyoshi SATAKE and Mitsuru UCHIYAMA

Many aconitum pollen grains were found in the honey products obtained as the poisonous material which caused the intoxication in Akita and Fukushima Prefectures in August, 1979. One of the alkaloids in the honey sample of Fukushima Prefecture was identified as aconitine by thin-layer chromatography and gas chromatography, and other poisonous substance to *Oryzias latipes* (Himedaka) was also detected in the both honey samples.

(Received May 31, 1980)

昭和54年8月，秋田県及び福島県で蜂蜜による中毒が発生した。8月以降の蜂蜜は，しばしば植物由来の有毒成分を含有する危険性があり，両県では摂食を避ける習慣があるという。しかし蜂蜜による中毒事故は依然として発生しており，今後も起こり得る問題なので，今回は蜂蜜中のトリカブトの花粉の鏡検，アコニチンの定性試験以外に，ヒメダカによる毒性試験の検討，並びに窒素・リン-水素炎イオン化検出器(NP-FID)を用いたガスクロマトグラフィーを行い，二，三の知見を得たので報告する。

実験方法及び結果

1. 花粉の捕集 (秋田産蜂蜜)

検体 (蜂蜜) をよくかき混ぜた後，その 100 g (約 80 ml) をとり，水 200 ml を加えてよく混合し，約 50° に加温してろ紙 (東洋濾紙 No. 2) を用いて吸引ろ

過した。ろ紙を約 450 ml の希エタノール溶液 (エタノール 50+水 400) 中で振り動かし，ろ紙上の残留物を十分に洗い落とした。この洗液に 1 ml のポリソルベート 80 (Tween 80) を加えてよくかき混ぜ，3000 rpm 10分間遠心分離した後，傾斜して上澄液を除き，約 80 ml を残し，これにエタノール 120 ml を加え，再度同様に遠心分離した。大部分の上澄液を除き，残留物を小試験管に移し，これにエタノールとグリセリンを同量ずつ加え，全量を 10 ml とした。

2. 花粉の計数

前述のグリセリン・エタノール液にヒカゲノカズラ (*Lycopodium*) の胞子を一定量加え，相対希釈法により検体中の花粉数を算出した。その結果，総花粉数は蜂蜜 1 g 中 452 個であった。

3. 花粉の分類

秋田県産蜂蜜及び福島県産蜂蜜中の花粉にゲンチア

Table 1. Identification and calculation of the pollens found in the poisonous honey made in Akita Prefecture

Type	Size (μ)	Species	Number	% to total
I	a	<i>Taraxacum</i> sp, <i>Althaea rosea</i> CAU.	2	0.8
	b	*	12	4.8
	c	<i>Geranium thunbergii</i> STEB. et ZUCC.	13	5.2
	c'	<i>Platycodon</i> sp	9	3.6
	d	<i>Adenophora</i> sp	2	0.8
	d'	*	10	4.0
	e	} <i>Lespedia</i> sp, <i>Vicia</i> sp	115	46.0
	e'		11	4.4
	e''		1	0.4
	f	*	2	0.8
g	*	0	0	
II	22.5-25.0×25.0	<i>Aconitum</i> sp	54	21.6
III	31.5-32.5×55.0-65.0	<i>Commelia communis</i> L.	18	7.2
IV	22.5×25.0	<i>Picris hieracioides</i> L.	1	0.4
Total			250	100

*: Unidentified

Table 2. Identification and calculation of the pollens found in the poisonous honey made in Fukushima Prefecture

Type	Size (μ)	Species	Number	% to total
I	22.5-25×27.5	<i>Aconitum</i> sp	127	86
II	15.0 ×22.5	*	5	3
III	12.5 ×12.5	*	7	5
IV	31.5 ×31.5	*	8	6
Total			148	100

*: Unidentified

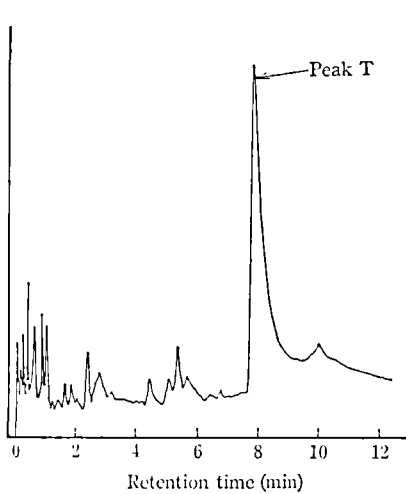


Fig. 1. NP-FID-Gas chromatogram of the extract from the poisonous honey made in Akita Prefecture (Condition a)

ナバイオレット染色¹⁾を施し、鏡検をを行った結果を Table 1 及び Table 2 に示した。

なお、ホツツジ (*Tripeta leiapaniculata* STEB. et ZUCC. var. *latiflora* MAXIM) の花粉は検出しなかった。

4. 有毒成分の抽出

前項 1 のろ液を酢酸エチル 100 ml で 3 回抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、水浴上 (40°) で減圧下 6 ml に濃縮した。

5. ガスクロマトグラフィー (NP-FID-GC)

5-1. 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ: Hewlett-Packard 社製 Model 5840A NP-FID 付き

キャリアガス: 高純度窒素

カラム: 2% OV-17/Chromosorb W (100-120 メッシュ), 1.2 m

カラム温度: a) 150°-250° (昇温速度 10°/min)

b) 300°

検出器及び注入口温度: 250°

5-2. 有毒成分のガスクロマトグラム

前項 4 の抽出液 1 μ l を前項の測定条件 (a) でガスクロマトグラフに注入し、Fig. 1 に示すガスクロマトグラムを得た。

福島県産の蜂蜜も同様の処理をし、Fig. 2 に示すガスクロマトグラムを得た。

図中の Peak T は、非常に不安定な物質で、アンモニア水 (pH 9.0) あるいは 5% 塩酸で分解し、ヒメダカに対する毒性も消失した。

6. ヒメダカによる毒性試験

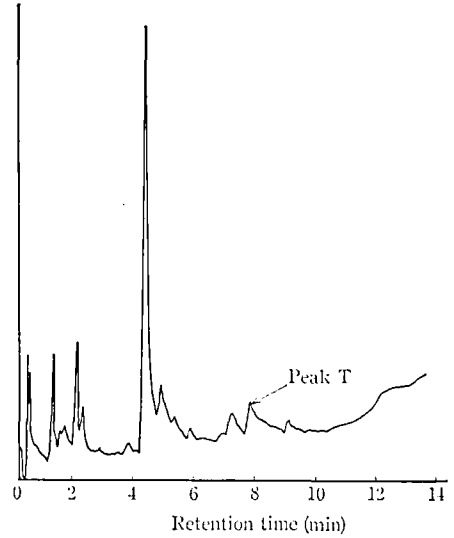


Fig. 2. NP-FID-Gas chromatogram of the extract from the poisonous honey made in Fukushima Prefecture (Condition a)

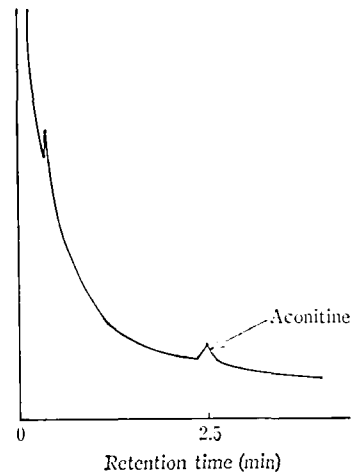


Fig. 3. NP-FID-Gas chromatogram of the extract from the poisonous honey made in Fukushima Prefecture (Condition b)

秋田県産及び福島県産の蜂蜜の 0.5% 水溶液 100 ml に 5 匹のヒメダカを入れて観察したところ、秋田県産蜂蜜水溶液中のヒメダカは数時間後に全数死亡したが、福島県産の蜂蜜水溶液中のヒメダカは数時間後も生存在していた。その後、濃度を 3% にしたが、ヒメダカは 24 時間後も生存していた。

7. アコニチンの検索

シリカゲルプレート (メルク社製) を用い、アンモニア水 (28%) 飽和のエーテルを展開溶媒として、秋

田県産及び福島県産の蜂蜜の酢酸エチル抽出溶液について薄層クロマトグラフィーを行った。発色にはドラージェンドルフ試薬を用いた。その結果、福島県産の蜂蜜中にアコニチンが存在することが明らかになった。

福島県産の蜂蜜中アコニチンを NP-FID-GC (測定条件 b) で定量したところ 10 ppb 以下であった (Fig. 3)。しかし秋田県産の蜂蜜からはアコニチンを検出することはできなかった。

考 察

従来、蜂蜜による中毒が発生すると、蜂蜜中のトリカブトの花粉、あるいはホツツジの花粉などの鏡検が行われ、トリカブトの花粉が発見されれば、トリカブトアルカロイド、特にアコニチンが中毒の原因であろうと考えられ、ホツツジの花粉が存在すればグラヤノトキシン類が中毒原因物質であろうと推論される傾向があった。本試験の結果福島県産の蜂蜜からアコニチンの存在が化学的に確認されたが、これは著者らの知る限り中毒原因蜂蜜からアコニチンが証明された最初の例ではないかと思われる。

しかし、ホツツジの花粉が存在しないこと、トリカブトの花粉は存在しても、アコニチン含量は 10 ppb 以下であったこと、ヒメダカに対するアコニチンの毒性は水中濃度で 1 ppm 以上でないと現われないこと、アコニチンが分解しない pH (アンモニア処理; pH 9.0 あるいは 5%塩酸処理) で蜂蜜を処理すると、ヒメダカに対する毒性が消失することなどを総合的に考えると、中毒の原因物質としてアコニチン以外の未知物質も同時に存在するものと思われる。ヒメダカに対する毒性物質としてピーク T (Fig. 1, 2) があげられるが、単離して毒性を調べるに至っていないので連断はできない。

また GC によるアコニチンの定量分析には、未だ解決しなければならない種々の問題があるが、今回は上述の条件で測定し、およその量を算定した。なお、アコニチンの検出限界はほぼ 0.1 ng であった。

トリカブトの花粉の存在率は福島県産の蜂蜜が 86%、秋田県産の蜂蜜が 22% であった。

したがって、このデータから福島県産の蜂蜜の中にアコニチンが検出され、秋田県産の蜂蜜中にはアコニチンが検出されなかったことが理解できる。

また、ヒメダカに対する毒性の違いは、ピーク T の含量の違いによると考えれば納得できる。トリカブトの花粉は福島県産の蜂蜜のほうが秋田県産の蜂蜜よりも多量に存在するにもかかわらず、ピーク T に相当する物質は秋田県産の蜂蜜に、より多量に存在していた。このことは、トリカブトの種類に基づくのか、あるいは他の原因によるのかは今後の問題であろう。

福島県産の蜂蜜はヒトに対してはかなり強い毒性を示すにもかかわらず、ヒメダカに対する毒性は小さかった。したがって今後、有毒蜂蜜に対して感度の高い実験動物 (例えばマウス) による検定法の確立、トリカブトの花粉中の毒成分、及び蜂蜜中の有毒成分を同定することが必要となろう。通常、蜂蜜より花粉を捕集するには、蜂蜜を水で希釈し、遠沈を行うだけでよいが、今回は蜂蜜中の毒成分の検索も行うので、原蜂蜜を 3 倍希釈後ろ過を行った。また、遠沈の際には花粉が沈降しやすいように、エタノール及び少量の界面活性剤を加えるなどの工夫をした。

ま と め

- 1) 蜂蜜による中毒の原因物質としてアコニチン及びそれ以外の不安定な含窒素化合物の存在を推論した。
- 2) 有毒蜂蜜中からアコニチンを初めて同定した。
- 3) ヒメダカを用いる生物検定法はピーク T に相当する物質が比較的多量に存在する場合には有効であることを示した。

文 献

- 1) 佐竹元吉：衛生試報，87，81 (1969)

輸入牛肉エキスの微生物叢について

小沼博隆・高山澄江・河西 勉・鈴木 昭

Microbialflora of Beef Extract Imported from Australia, Uruguay, Italy and Brazil

Hirotaka KONUMA, Sumie TAKAYAMA, Tsutomu KAWANISHI and Akira SUZUKI

The bacteriological examination of beef extract being used for material of soup was carried out to determine their microbialflora and to evaluate for their quality of food hygiene levels.

Sixty-eight samples of the beef extract imported from Australia, Uruguay, Italy and Brazil were conducted mainly by means of our routine procedure with identification and enumeration of anaerobic bacteria in detail. A total count of bacteria showed ranging from $\leq 10^2$ to $10^4/g$. *Bacillus cereus*, *B. brevis*, *B. richeniformis*, *Bacillus* spp., *Clostridium perfringens* and *Clostridium* spp. were frequently isolated from most of the samples tested. The common species of bacteria isolated were: *Bacillus subtilis*, *B. macroides*, *B. spiaricus*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *Clostridium bifermentans*, *C. novyi* and *C. acetobutylicum*. It is noteworthy that *B. cereus* and *C. perfringens* were found to be predominantly occurring in 89.7% (61/68) and 58.8% (40/68) of the total sample examined, respectively.

(Received May 31, 1980)

まえがき

肉エキスは、食事の洋風化、即席化に伴い、スープのベースとして用いられるほか、調理食品等に幅広く用いられている。特に、わが国において不足がちな牛肉エキスは、輸入品にたより、年々増加の傾向にある。

牛肉エキスによる食中毒は、肉エキスが、調理食品のベースとして添加されているために、原因食品として挙げられたことは先ず無い。しかし当室に輸入時の検査のために検体として送付されたものには、*Clostridium perfringens* 及び *Bocillus cereus* が高頻度に検出されたため、要注意の判定がくだされ、加熱加工食品の原料として使用する場合の取扱いについて、特に衛生的な取扱いをする旨の条件が付されて輸入が許可された例を経験した。その後、同様のものが輸入される形勢にあったので、かねてよりこれらの肉エキス類の輸入に注目していた。そこで昭和51年以降、当室に送付された68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。

試料及び実験方法

試料：牛肉エキスは、オーストラリア産12、ウルグアイ産26、イタリア産23及びブラジル産7の合計68検体である。

生菌数及び大腸菌群検査法：生菌数及び大腸菌群検査は、公定法¹⁾に従った。

C. perfringens の検査法：肉エキスからの *C. perfringens* 検出法は、公定法で調整した試料液 (10倍乳剤) 10 ml, 1 ml, 0.1 ml を使用直前20分間煮沸後、急冷した各5本づつのチオグリコロート培地 (10 ml) に接種し、24~48時間培養後、その1エーゼを卵黄加CW 寒天 (抗生物質添加及び無添加両方使用) に接種し、以下の検索は、善養寺ら⁷⁾の方法に準拠した。なお試料液 10 ml を接種したチオグリコロート培地のみは、2倍濃度に調整したものを用いた。

微生物叢の検索法：微生物叢の検索は、前報²⁾の方法に準拠した。

分離菌の同定：分離菌の同定は、Cowan & Steel³⁾の第一次鑑別表にしたがって分けた後、*Bacillus* 属は、Bergey's Manual⁴⁾及び東^{5,6)}の方法に準拠、*Clostridium* 属は、Bergey's Manual に準拠し、菌株によつては、善養寺ら⁷⁾の腸管系病原菌の検査法に従った。

結果及び考察

一般検査の結果：今回、オーストラリア、ウルグアイ、イタリア及びブラジル産牛肉エキス68検体について生菌数、大腸菌群及び *C. perfringens* を検査した結果、Table 1 に示したごとく、生菌数では、オーストラリア、ウルグアイ、イタリア産が $10^2 \sim 10^4$ 、ブラジル産が 10^2 レベルの範囲にあり、 10^3 を示す検体が 68 検体中41検体と多く認められた。

C. perfringens の陽性率は、イタリア産 18/23 (78.3

%) で最も高く、次いでウルグアイ産 16/26 (61.5%)、オーストリア産 5/12 (41.7%)、ブラジル産 1/7 (14.3%) の順であった。

大腸菌及び大腸菌群は、全く検出されなかった。

微生物叢：前述のような一般細菌汚染状態を示す牛肉エキスの微生物叢について、その菌数及び検出頻度について検討した結果を Table 2~6 に示した。Table 2 に示すごとく *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. brevis*, *B. macroides*, *B. circulans*, *Bacillus* spp., *C. perfringens*, *C. bifermentans* 及び *Clostridium* spp. が高頻度に検出され、*Bacillus* 及び *Clostridium* 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 3~6 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、*B. cereus* 及び *C. perfringens* で、いずれも最優勢菌種であった。

国別による微生物叢の違いは、ブラジル産肉エキスを除いては大差が認められなかった。すなわち、菌数が最も低かったブラジル産肉エキスは、*Bacillus*, *Clostridium* を含めて 4 species 検出されたのに対し、菌数が最も多く認められたイタリア産は、*Bacillus* spp., *Clostridium* spp. を含めると 11 species 以上認められた。

グラム陰性菌及びグラム陽性球菌は、全く検出されなかった。また、この中で特に注目されたのは、食中毒起因菌となりうる *B. cereus* 及び *C. perfringens* が高率に検出されたことである。

***Bacillus cereus*：**牛肉エキス中からの本菌の検出率は、61/68 (89.7%) に認められ、しかも検体の半数以上に $10^3 \sim 10^4$ の菌数が認められた。この結果は、寺山ら^{8,9)} 楠ら¹⁰⁾ が先に報告した市販豆腐の 66.1%、56% に比べても、また著者ら²⁾ の輸入脱脂粉乳中の 78.7% よりも検出率は高く、Gilbert ら¹³⁾ の生米から 91% に検出されたという報告に匹敵した。また、寺山ら^{8,9)} が報告した豆腐は、 $10^2 \sim 10^3$ の菌数を示す検体が大半を占めていたのに対し、今回の牛肉エキスは、豆腐より 1 オーダー高い菌数を示す検体が大部分を占めていた。

今回検査した輸入牛肉エキスは、国別、工場別、ハッチ別、及びロット別の仕分け検査を行ったが、いずれの系からも高頻度に検出されたことから、*B. cereus* は、牛肉エキスの微生物叢の主要構成菌種であることが推察された。

B. cereus は、主と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いる。したがって本菌で汚染されている肉エキスを使用して製造された、スープ類や調理加工食品などでは製造工程中における加熱の程度、その後の取扱いの良否によって、その食

Table 1. Incidence of viable cell counts and *C. perfringens* in 68 samples of beef extract imported from Australia, Uruguay, Italy and Brazil

Country	No. of samples	Viable cell count/g <i>C. perfringens</i>				No. of samples (%)
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5	
Australia	12	1	5	6	5/12 (41.7)	
Uruguay	26	6	18	2	16/26 (61.5)	
Italy	23		18	5	18/23 (78.3)	
Brazil	7	7			1/7 (14.3)	
Total	68	14	41	13	0	40/68 (58.8)

Table 2. Microbial flora of 68 samples of beef extract imported from Australia, Uruguay, Italy and Brazil

Species	No. of positive samples (%)	Viable cell count/g			
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5
<i>Bacillus subtilis</i>	4 (5.9)	4			
<i>Bacillus licheniformis</i>	19 (27.9)	2	6	11	
<i>Bacillus cereus</i>	61 (89.7)	11	28	22	
<i>Bacillus brevis</i>	39 (57.4)	10	27	2	
<i>Bacillus macroides</i>	9 (13.2)	1	8		
<i>Bacillus sphaericus</i>	4 (5.9)	4			
<i>Bacillus megaterium</i>	4 (5.9)	2	2		
<i>Bacillus pumilus</i>	2 (2.9)	2			
<i>Bacillus circulans</i>	10 (14.7)	10			
<i>Bacillus coagulans</i>	6 (8.8)	6			
<i>Bacillus</i> spp.	45 (66.2)	21	24		
<i>Clostridium perfringens</i>	40 (58.8)	39	1		
<i>Clostridium bifermentans</i>	10 (14.7)	10			
<i>Clostridium novyi</i>	3 (4.4)	3			
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	4 (5.9)	4			
<i>Clostridium</i> spp.	31 (45.6)	31			

品の腐敗、変敗に影響を与えることが十分考えられる。

また、*B. 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、Hauge¹¹⁾により初めて報告され、1970年代になって西欧諸国¹²⁻¹⁵⁾、特にイギリス¹²⁻¹⁴⁾において数多く報告されている。

わが国では、1961年、鈴木ら^{16,17)}の報告を最初として、いくつかの報告¹⁸⁻²⁰⁾がある。1975年以降、品川ら²¹⁻²³⁾、坂口ら²⁴⁾、坂井ら²⁵⁾によって報告されており、年々増加の傾向がうかがわれる。

Table 3. Microbialflora of 12 samples of beef extract imported from Australia

Species	No. of positive samples (%)	Viable cell count/g			
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5
<i>Bacillus subtilis</i>					
<i>Bacillus licheniformis</i>					
<i>Bacillus cereus</i>	12(100)	2	4	6	
<i>Bacillus brevis</i>	7(58.3)	2	3	2	
<i>Bacillus macroides</i>	3(25.0)	1	2		
<i>Bacillus sphaericus</i>	4(33.3)	4			
<i>Bacillus megaterium</i>	1(8.3)	1			
<i>Bacillus pumilus</i>					
<i>Bacillus circulans</i>					
<i>Bacillus coagulans</i>					
<i>Bacillus</i> spp.	7(58.3)	5	2		
<i>Clostridium perfringens</i>	5(41.7)	5			
<i>Clostridium bifermentans</i>					
<i>Clostridium novyi</i>					
<i>Clostridium acetobutylicum</i>					
<i>Clostridium</i> spp.	3(25.0)	3			

Table 5. Microbialflora of 23 samples of beef extract imported from Italy

Species	No. of positive samples (%)	Viable cell count/g			
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5
<i>Bacillus subtilis</i>	3(13.0)	3			
<i>Bacillus licheniformis</i>	17(73.9)		6	11	
<i>Bacillus cereus</i>	22(95.7)		8	14	
<i>Bacillus brevis</i>	10(43.5)		10		
<i>Bacillus macroides</i>					
<i>Bacillus sphaericus</i>					
<i>Bacillus megaterium</i>	3(13.0)	1	2		
<i>Bacillus pumilus</i>					
<i>Bacillus circulans</i>	8(34.8)	8			
<i>Bacillus coagulans</i>	4(17.4)	4			
<i>Bacillus</i> spp.	13(56.5)	9	4		
<i>Clostridium perfringens</i>	18(78.3)	17	1		
<i>Clostridium bifermentans</i>	8(34.8)	8			
<i>Clostridium novyi</i>					
<i>Clostridium acetobutylicum</i>					
<i>Clostridium</i> spp.	15(65.2)	15			

Table 4. Microbialflora of 26 samples of beef extract imported from Uruguay

Species	No. of positive samples (%)	Viable cell count/g			
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5
<i>Bacillus subtilis</i>					
<i>Bacillus licheniformis</i>					
<i>Bacillus cereus</i>	24(92.3)	6	16	2	
<i>Bacillus brevis</i>	22(84.6)	8	14		
<i>Bacillus macroides</i>	6(23.1)	6			
<i>Bacillus sphaericus</i>					
<i>Bacillus megaterium</i>					
<i>Bacillus pumilus</i>	2(7.7)	2			
<i>Bacillus circulans</i>	2(7.7)	2			
<i>Bacillus coagulans</i>	2(7.7)	2			
<i>Bacillus</i> spp.	25(96.2)	7	18		
<i>Clostridium perfringens</i>	16(61.5)	16			
<i>Clostridium bifermentans</i>	2(7.7)	2			
<i>Clostridium novyi</i>	3(11.5)	3			
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	4(15.4)	4			
<i>Clostridium</i> spp.	13(50.0)	13			

Table 6. Microbialflora of 7 samples of beef extract imported from Brazil

Species	No. of positive samples (%)	Viable cell count/g			
		$\leq 10^2$	10^3	10^4	10^5
<i>Bacillus subtilis</i>	1(14.3)	1			
<i>Bacillus licheniformis</i>	2(28.6)	2			
<i>Bacillus cereus</i>	3(42.9)	3			
<i>Bacillus brevis</i>					
<i>Bacillus macroides</i>					
<i>Bacillus sphaericus</i>					
<i>Bacillus megaterium</i>					
<i>Bacillus pumilus</i>					
<i>Bacillus circulans</i>					
<i>Bacillus coagulans</i>					
<i>Bacillus</i> spp.					
<i>Clostridium perfringens</i>	1(14.3)	1			
<i>Clostridium bifermentans</i>					
<i>Clostridium novyi</i>					
<i>Clostridium acetobutylicum</i>					
<i>Clostridium</i> spp.					

Clostridium perfringens：牛肉エキス中からの本菌の検出率は、40/68(58.8%)に認められ、嫌気性菌の中では、最も高率に認められ、*B. cereus* 同様、牛肉エキスの主要な微生物叢構成菌種であることが推察された。

C. perfringens は、ヒトや動物の腸管に常在しているが、その病態、起病要因に不明な点が多いため、長い間、食中毒菌としての地位は確立されているとはいえなかった。しかし Hobbs ら²⁶⁾により細菌学、及び疫学、両面が確立され、Dische ら²⁷⁾により病因が確認されて以来、世界的に *C. perfringens* 食中毒の発生が報告されるようになり、特に欧米では、サルモネラ、ブドウ球菌と並んで重要な位置を占めるにいたった。わが国においては、山県ら²⁸⁾の報告を始めとした多くの研究者の報告²⁹⁻³³⁾があり、伊藤ら³³⁾は、都内で発生した *C. perfringens* による食中毒発生状況並びに概要を1963~1978年までの16年間にわたって報告している。

Matches ら³⁴⁾、Bryan ら³⁵⁾、Hall ら³⁶⁾そして Strong ら³⁷⁾は、*C. perfringens* 汚染と最も関係が深いのは、生牛肉であるとのべ、Hall ら³⁶⁾は、生牛肉中に本菌が最も高率に検出されることを証明している。また、米国 C. D. C. ^{38,39)} では、ローストビーフによる数多くの *C. perfringens* 食中毒事例を報告している。このような報告例から牛肉のクズ肉や煮汁を原料として製造された牛肉エキスの本菌濃厚汚染は、容易に想像されるところである。

その他の菌種：前述の2菌種以外では、一般の食品から分離される菌としてはまれである、*C. bifermentans*、*C. novyi*、*C. acetobutylicum* 及び *Clostridium* spp. が検出されたが、今回の検索には、小林ら⁴⁰⁾が報告した増菌培養を行っていないため、*C. botulinum* が存在したか否かについては不明である。しかしながら、*Clostridium* 属が高率に検出されたことは、細菌性食中毒の中で最も重篤な症状を示し、かつ乳幼児ボツリヌス症⁴¹⁾の原因菌としても最近にわかに脚光を浴びてきた *C. botulinum* の存在を否定することはできない。したがって、肉エキスについては増菌培養法を導入し、*C. botulinum* 存在の有無を確認しておく必要があると考えられる。

肉エキスは、調理加工食品原料の一部として、幅広く用いられているが、ヒトがそのままを摂食しないため、食中毒事件の主役として問題視されたことは無い。しかし乾燥、凍結、加熱に対して極めて強い芽胞をもち、しかも食中毒起因菌となりうる *B. cereus* 及び *C. perfringens* が高率に検出されたことは、原料の一部として肉エキスがいろいろな食品に使用されるにあたって、それらの食品の形態、水分活性、及び保存条件な

どによっては、これらの菌種の存在は、食品の安全性、保存性、劣化等に重大な影響を及ぼすことは十分想像できるところである。加えて、肉エキスを使用している食品はたとえ調理前の形態が固型、顆粒、粉末状であっても流動・半流動食品として利用されることが多く、病人、老人、乳幼児の食品として利用される機会が多い。このようなことから、製品については勿論、原料の肉エキスについても、起病性の疑いのある菌種については、将来、この種の食品の細菌学的規格を設定するに当たっては、十分考慮する必要があると考える。

今後、肉エキスをベースとして製造された食品についての本菌群の実態調査並びに前報²⁾で報告した輸入脱脂粉乳から分離した菌株をも含めて、*B. cereus*、*C. perfringens* の生物学的性状等と起病性との関連性について検討する所存である。

要 約

輸入牛肉エキス（オーストラリア、ウルグアイ、イタリア、ブラジル産）68検体の微生物叢を検討した結果、菌数は、 $\leq 10^2 \sim 10^4$ の範囲にあり、その主要菌叢は、*B. cereus*、*B. brevis*、*B. richeniformis*、*Bacillus* spp.、*C. perfringens* 及び *Clostridium* spp. であった。その他の菌叢としては、*B. subtilis*、*B. macroides*、*B. spiaricus*、*B. megaterium*、*B. pumilus*、*B. circulans*、*B. coagulans*、*C. bifermentans*、*C. novyi* そして *C. acetobutylicum* などであった。特に注目されたことは、食中毒起因菌となりうる *B. cereus* 及び *C. perfringens* が前者は、61/68(89.7%)、後者は、40/68(58.8%)に検出されたことである。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局編：食品衛生検査指針 I, p. 103 (1973) 日本食品衛生協会
- 2) 小沼博隆, Ninbodee Tanyalak, 高山澄江, 羽柴真澄, 河西 勉, 鈴木 昭：衛生試報, **97**, 44 (1979)
- 3) S. T. Cowan, K. J. Steel: 医学細菌同定の手びき, 第2版 (1974) 近代出版
- 4) R. E. Buchanan, N. E. Gibbons: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th Ed. (1974) The Williams & Wilkins Company
- 5) 東 量三：ニューフッドインダストリー, **4**(9), 67 (1962)
- 6) 東 量三：ニューフッドインダストリー, **4**(10), 61 (1962)
- 7) 善養寺浩, 坂井千三：腸管系病原菌の検査法, p. 220 (1974) 医学書院
- 8) 寺山 武, 新垣正夫, 山田澄夫, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 坂井千三, 善養寺浩：食衛誌, **19**, 98 (1978)

- 9) 寺山 武, 五十嵐英夫, 潮田 弘, 山田澄夫, 新垣正夫, 坂井千三, 池島伸至, 楠 淳, 新井輝義, 神真知子, 入倉善久, 友成正臣, 佐野隆, 山田武勝, 安部勇三, 鈴木迪夫, 齊藤 修, 能登屋耕二: 東京都衛研年報, 29, 143 (1978)
- 10) 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)
- ✓ 11) S. Haug: *Nord. Hyg. Tidskr.*, 31, 189 (1950)
- ✓ 12) P. R. Mortimer, G. McCann: *Lancet*, 1, 1043 (1974)
- ✓ 13) R. J. Gilbert, M. F. Stringer, T. C. Peace: *J. Hyg. Camb.*, 73, 433 (1974)
- ✓ 14) R. J. Gilbert, J. M. Parry: *J. Hyg. Camb.*, 78, 69 (1977)
- ✓ 15) M. Raevuori, T. Kiutamo, A. Niskanen, K. Salminen: *J. Hyg. Camb.*, 76, 319 (1976)
- 16) 鈴木 昭: 乳技協資料, 399, 59 (1961)
- 17) 鈴木 昭, 河西 勉: 衛生試報, 79, 195 (1961)
- 18) 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)
- 19) 田村利勝: メディアサークル, 11, 115 (1966)
- 20) 下内啓万, 貴田正義, 西尾隆晶, 井上 豊: 兵庫県衛生研究所研究報告, 6, 1 (1971)
- 21) 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)
- 22) 品川邦汎, 新原富夫, 国田信治, 小林 貞: 大阪府公衛研所報, 食品衛生編, 9, 125 (1978)
- 23) 品川邦汎, 国田信治, 小崎俊司, 坂口玄二: 大阪府公衛研所報, 食品衛生編, 9, 131 (1978)
- 24) 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)
- 25) 坂井千三, 伊藤 武, 齊藤香彦, 丸山 務, 柳川義勢, 新垣正夫, 寺山 武: 感染症誌, 52, 39 (1978)
- ✓ 26) B. C. Hobbs, M. E. Smith, C. L. Oakley, G. H. Warrack, J. C. Cruickshank: *J. Hyg.*, 51, 75 (1953)
- ✓ 27) F. E. Dische, S. D. Elek: *Lancet*, 13, 71 (1957)
- 28) H. Yamagata, Y. Iwafune, Y. Shimamura: *Jap. J. Microbiol.*, 3, 365 (1959)
- 29) 飯田広夫ら: 北海道衛研所報, 12, 1 (1961)
- 30) 長崎 護, 善養寺浩, 坂井千三: 公衆衛生, 28, 40 (1964)
- 31) 浅川 豊, 中津川修二, 宮松総介: 日公衛誌, 13, 498 (1966)
- 32) 善養寺浩, 坂井千三, 伊藤 武, 丸山 務, 工藤泰雄: 食衛誌, 11, 282 (1970)
- 33) 伊藤 武, 坂井千三: メディアサークル, 24, 288 (1979)
- ✓ 34) J. R. Matches, J. Liston, D. Curran: *Appl. Microbiol.*, 28, 655 (1974)
- ✓ 35) F. L. Bryan, E. G. Kilpatrick: *Am. J. Pub. Health*, 61, 1869 (1971)
- ✓ 36) H. E. Hall, R. Angelotti: *Appl. Microbiol.*, 13, 352 (1965)
- ✓ 37) D. H. Strong, J. C. Canada, B. B. Griffiths: *Appl. Microbiol.*, 11, 42 (1963)
- 38) C. D. C.: *Foodborne and Water Borne Disease Outbreaks, Annual Summary 1974* (1976)
- 39) C. D. C.: *Foodborne and Water Borne Disease Outbreaks, Annual Summary 1975* (1976)
- 40) 小林とよ子, 上野一恵, 鈴木祥一郎: 日公衛誌特別附録, 25, 368 (1978)
- 41) 坂口玄二: モダンメディア, 26, 254 (1980)

クロレラ錠による光過敏性皮膚障害に関する実験的研究

岡田清司・降矢 強・川崎 靖・松本清司・萩埜恵子
 落合敏秋・天野立爾*1・池 慶子*2・内山 充・戸部満寿夫

Experimental Study on Photosensitized Skin Lesions to Ingestion of Chlorella Tablet

Kiyoshi SEKITA, Tsuyoshi FURUYA, Yasushi KAWASAKI, Kiyoshi MATSUMOTO, Keiko HAGINO,
 Toshiaki OCHIAI, Ryuji AMANO, Keiko IKE, Mitsuru UCHIYAMA and Masuo TOBE

In 1977, photosensitized skin lesions were observed in some people of Tokyo and its neighborhood who had been ingesting certain brand of chlorella tablet.

Photosensitized skin lesions were examined in mice fed methanol extract, its residues, and pheophorbide and pheophytin fractions of the methanol extract obtained from the same lot of chlorella tablet which might have caused photosensitized skin lesions in human. At the same time, effects of the four fractions obtained from unprocessed chlorella powder (with water addition) and two fractions of methanol extract and its residues obtained from unprocessed chlorella powder (without water addition) were also examined in a similar way.

The methanol extract and pheophorbide fractions extracted from chlorella tablets were found to induce photosensitized skin lesions in mice. These two fractions contained a substantial pheophorbide derived from chlorophyll. Other fractions of chlorella tablet and both unprocessed chlorella powder (with and without water addition) could not induce photosensitized skin lesions in mice. But, the methanol extract and pheophorbide fraction extracted from unprocessed chlorella powder (with water addition) were also found to contain high concentration of pheophorbide.

These results suggest that photosensitized skin lesions might have been caused by chlorella tablet containing certain type of pheophorbide, while activity of pheophorbide of unprocessed chlorella powder (with water addition) was, supposedly, different due to unknown reasons.

(Received May 31, 1980)

昭和52年春、N社製のクロレラ錠の使用が原因と考えられる皮膚炎が発生した。この皮膚炎の発生概要については駒井ら¹⁾の報告がある。田村ら²⁾は、この皮膚炎はN社製クロレラ錠に多量に含まれた chlorophyll の分解産物である pheophorbide a などに起因する光過敏性皮膚炎と判定し、この分解産物はN社がクロレラ錠の製造過程中に用いた含水エタノールによりクロレラ原末中に存在した chlorophyllase が chlorophyll の分解を促進したためとされている。chlorophyll の分解産物による光過敏症については他にも報告をみる³⁻⁷⁾。

天野ら⁸⁾、田村ら⁹⁾の報告によれば乾燥クロレラ原末に水を加えると chlorophyll の分解産物が増加するとされている。また田村ら⁹⁾はこの水を加えた原末で光過敏性皮膚炎を認めるとあるが、我々もクロレラ錠と光過敏性皮膚障害の関連を検索するに当たり、乾燥クロレラ原末、乾燥クロレラ原末に水を加えた水分添

加クロレラ原末及びN社自身が回収した回収クロレラ錠を用いてマウスによる一連の実験を行った。

実験方法

1. 検体及び飼料の調製

検体としては、皮膚炎患者が服用していたのと同じロット番号及びそれに近いロット番号のクロレラ錠の混合物でN社自身が回収し保存していたクロレラ錠(回収品, chlorella tablet)、回収品の原料である乾燥クロレラ原末(乾燥原末, unprocessed chlorella without water addition)及び乾燥原末に20%の割合で水を加え3日間25~30°に放置した水分添加原末(unprocessed chlorella with water addition)の3種を用いた。

上記の3種の検体をFig.1に示す手順に従い、メタノール抽出区分と同残渣、更にメタノール抽出区分をpheophorbide区分及びpheophytin区分に分画し各々について実験した。なお、乾燥原末についてはメタノール抽出区分と同残渣の実験で、pheophorbide含

*1 国民生活センター *2 埼玉県庁

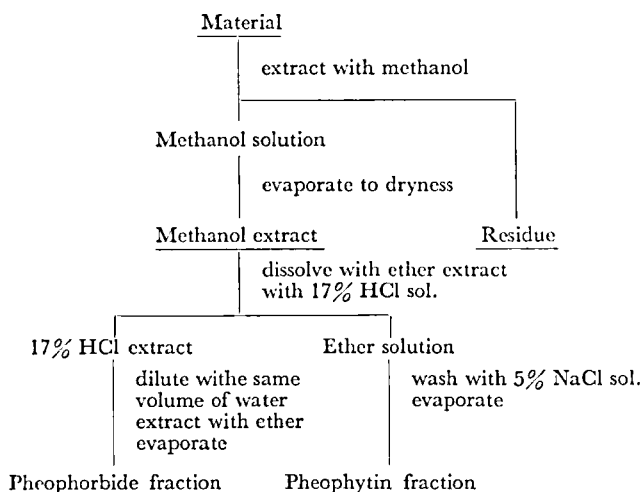


Fig. 1. Fractionation procedure for chlorella

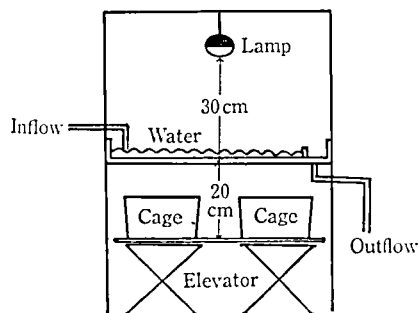


Fig. 2. Apparatus for the test of photo-sensitized skin lesions

量が低く、光過敏性皮膚障害が認められないので、この2つの分画について実験を行った段階で終了した。

各々の分画は回収品あるいは乾燥原木の状態に換算して、50w/w % の割合で飼料中に添加した場合に相当する濃度になるように粉末飼料（船橋農場，ラット・マウス飼育用）に添加し検体飼料とした。

2. 光照射装置及び条件

光照射装置として橋本⁴⁾の方法に準じ、Fig. 2に示すような流水の深さが変えられる仕切り板を備えた、縦 50 cm、横 60 cm、深さ 5 cm の透明樹脂製の水槽と、これを支持するアングルを作製し使用した。

今回の実験では、上記の装置を2台並列に配し、光源としてフォトリフレクタランプ（500 W、東芝電気 K. K.）を使用し、ケージ底面と光源の距離を 50 cm、水深 1.8 cm で照射を行った。この時のケージ内温度は $26 \pm 1^\circ$ 、照度は 30000 lux（TOPCON SP-I-71 にて測定）であった。

3. 動物及び群構成

静岡県実験動物農業協同組合産 ddY 系（SPF）、雄マウス（32～33日令）を用い、1群5匹よりなる14群を用意し、Table 1に示すように群分けし、各々の検体について実験を行った。

検体飼料は群分け後絶食12時間日より実験終了日まで自由に摂取させた。照射は検体飼料摂取開始翌日より

Table 1. Composition of groups in each experiments

Material	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Experiment 4
	A: Control	A: Control	A: Control	A: Control
Unprocessed chlorella without water addition	B: Methanol-extract of the material	B: Methanol-extract residue of the material		
Unprocessed chlorella with water addition	C: //	C: //	C: Pheophorbide fraction of the methanol extract	C: Pheophytin fraction of the methanol extract
Chlorella tablet	D: //	D: //	D: //	D: //

A groups were fed with commercial diet
5 mice/each group

り一定時刻に1日2時間、3日間照射し、その後4日間経過を観察して7日目に生存動物を剖検した。

4. 観察項目

1) 体重及び摂餌量

体重及び摂餌量は体重の増減を明らかにすることと、摂餌量(検体摂取量)を増加させるために、群分け後12時間の絶食を行い、1度体重の減少を起させた後に検体飼料の投与を開始した。なお、体重測定は群分け後毎日、摂餌量は検体飼料摂取開始後、毎日照射直前にあたるような時刻に測定した。

2) 症状

今回の実験に先立って行った、人で皮膚炎の発生が認められた製品のロット番号に近いクロレラ錠あるいは回収品を50w/w%の割合で添加した飼料を、マウスに摂取させた光過敏性皮膚障害実験で、耳殻の血管拡張、耳殻のチアノーゼ、耳殻辺縁の壊死・脱落、狂奔状態及び死亡等が認められたので、これらの症状を中心に、照射日には照射中は連続的に、照射終了後は1, 2, 3, 4, 5, 6及び22時間後(翌日の照射直前)に、照射日以外は1日1回体重測定時に観察した。

3) 剖検所見及び臓器重量

死亡動物は剖検所見を、生存動物は実験最終日にエーテル麻酔下で致死せしめ解剖し、肉眼的所見を記録後、脳、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、精巣及び副腎について重量測定を行った。

4) 光過敏性皮膚障害判定基準

次の3段階に分けて判定した。

陰性：異常を認めないもの、あるいは一過性に耳殻の血管拡張を認めるが照射終了後22時間以内に消失するもの。

疑陽性：照射開始後いずれかの時期に耳殻の血管拡張が認められ、翌日(照射終了後22時間目)の体重が減少するもの。

陽性：照射開始後に耳殻のチアノーゼ、耳殻辺縁の壊死・脱落、狂奔状態あるいは死亡のいずれかを示し、

更に照射翌日の体重の激減を認めるもの。

5) 各分画中の pheophorbide の確認及び定量

各分画の一定量を取り、エーテル溶液とした後、天野ら⁹⁾の方法によりアピセルプレートを用いる薄層クロマトグラフィーによって pheophorbide の確認を行った。また定量法も天野ら⁹⁾の報告の方法を用いて、分光光度計で行った。なお、残渣についてはメタノールで抽出後、定性、定量した。

実験結果

1. 実験1(メタノール抽出区分)

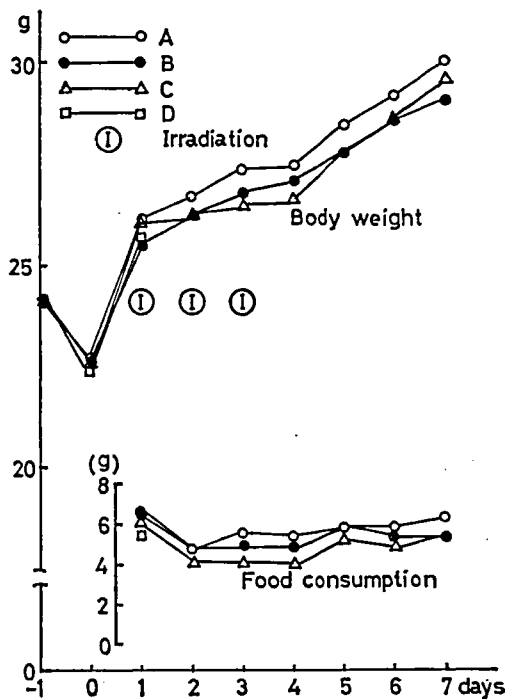


Fig. 3. Body weight and food consumption curves of male mice fed chlorella (methanol-extract).

Table 2. Phototoxic reaction in male mice fed chlorella (methanol-extract)

Experiment 1

Group	No. of animals with conchae lesions			No. of animals running madly	No. of dead animals
	*Venous dilatations	Cyanosis	Necrosis		
A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
B	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
C	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
D	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5

* Venous dilatations were checked at 22 hours after irradiation.

Table 3. Organ weights of male mice fed chlorella (methanol-extract)

Experiment 1		A	B	C	D
Group	No. of animals	5	5	5	0
Body weight (g)		30.0±1.5	29.0±1.3	29.7±2.1	—
Brain	Absolute (g)	0.46±0.01	0.46±0.02	0.47±0.01	—
	Relative	1.54±0.10	1.59±0.06	1.58±0.11	—
Heart	Absolute (g)	0.13±0.01	0.15±0.02	0.13±0.02	—
	Relative	0.43±0.03	0.52±0.07	0.45±0.05	—
Lung	Absolute (g)	0.17±0.02	0.18±0.02	0.18±0.01	—
	Relative	0.57±0.06	0.61±0.04	0.60±0.02	—
Liver	Absolute (g)	1.76±0.13	1.81±0.11	1.96±0.16	—
	Relative	5.85±0.18	6.24±0.35	6.61±0.20	—
Kidney	Absolute (g)	0.46±0.04	0.46±0.05	0.49±0.05	—
	Relative	1.53±0.11	1.57±0.11	1.66±0.18	—
Spleen	Absolute (g)	0.11±0.03	0.12±0.01	0.12±0.02	—
	Relative	0.37±0.09	0.40±0.02	0.41±0.07	—
Testis	Absolute (g)	0.13±0.03	0.15±0.03	0.17±0.03	—
	Relative	0.44±0.10	0.52±0.09	0.57±0.14	—
Adrenal	Absolute (mg)	3.0±0.9	3.2±0.4	3.2±0.3	—
	Relative	10.1±3.2	10.9±1.8	11.0±1.4	—

1) 体重及び摂餌量 (Fig. 3)

A群に比べB群及びC群では体重及び摂餌量ともにわずかに低い値を示す。しかし、明らかな差は認められない。また照射後の体重減少も見られない。D群では全例が照射1日目に死亡したため測定は不能であった。

2) 症状 (Table 2)

A群及びB群では特異な症状の発現は認めない。C群では照射中2例に軽度の耳殻の血管拡張が認められる。しかし、翌日にはその症状は消失する。D群では照射開始後間もなく耳殻の血管拡張が見られ、1日目の照射終了後4時間以内に耳殻のチアノーゼをとまって全例が死亡する。

3) 剖検所見及び臓器重量

観察した主要臓器に肉眼的変化はD群の死亡動物を含めて全例で認められない。臓器重量はA群に比べB群及びC群とも明らかな差は認めない。

4) 光過敏性皮膚障害判定結果

B群では照射による特異な症状の発現は認められず陰性と判定した。C群においては照射1日目に軽度一過性の耳殻の血管拡張を2例に認めるが、照射終了後6時間日には消失していること及び体重の減少が認められないので、B群と同様に陰性と判定した。D群では全例が死亡し陽性と判定された。

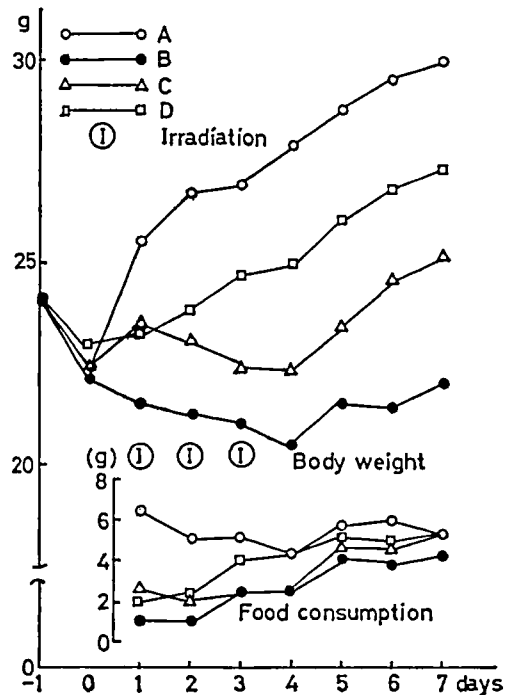


Fig. 4. Body weight and food consumption curves of male mice fed chlorella (methanol-extract residue)

Table 4. Phototoxic reaction in male mice fed chlorella (methanol-extract residue)

Experiment 2

Group	No. of animals with conchae lesions			No. of animals running madly	No. of dead animals
	*Venous dilatations	Cyanosis	Necrosis		
A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
B	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
C	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
D	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

* Venous dilatations were checked at 22 hours after irradiation.

Table 5. Organ weights of male mice fed chlorella (methanol-extract residue)

Experiment 2

Group	A	B	C	D
No. of animals	5	5	5	5
Body weight (g)	30.0±1.2	22.0±3.9**	25.2±0.8**	27.3±1.1**
Brain Absolute (g)	0.46±0.03	0.44±0.02	0.44±0.04	0.45±0.03
Brain Relative	1.54±0.15	2.04±0.35*	1.74±0.17	1.64±0.08
Heart Absolute (g)	0.14±0.02	0.10±0.01**	0.11±0.02*	0.12±0.01
Heart Relative	0.45±0.08	0.44±0.05	0.43±0.05	0.45±0.03
Lung Absolute (g)	0.17±0.01	0.16±0.03	0.19±0.02	0.17±0.01
Lung Relative	0.57±0.04	0.71±0.07**	0.73±0.08	0.64±0.04*
Liver Absolute (g)	1.69±0.09	1.40±0.43	1.73±0.10	1.84±0.08*
Liver Relative	5.63±0.12	6.26±0.94	6.85±0.43**	6.75±0.12**
Kidney Absolute (g)	0.48±0.05	0.31±0.07**	0.43±0.03	0.42±0.06
Kidney Relative	1.60±0.15	1.43±0.21	1.69±0.10	1.54±0.20
Spleen Absolute (g)	0.11±0.01	0.07±0.03*	0.11±0.01	0.11±0.01
Spleen Relative	0.38±0.05	0.29±0.07*	0.43±0.03	0.41±0.02
Testis Absolute (g)	0.17±0.02	0.15±0.01	0.19±0.02	0.18±0.02
Testis Relative	0.58±0.08	0.72±0.14	0.77±0.07**	0.65±0.07
Adrenal Absolute (mg)	3.4±0.5	3.9±1.4	3.8±0.7	3.6±0.7
Adrenal Relative	11.5±2.1	17.9±5.0*	15.1±3.0	13.2±2.7

* P<0.05 when compared to A

** P<0.01 when compared to A

Table 6. Phototoxic reaction in male mice fed chlorella (pheophorbide fraction)

Experiment 3

Group	No. of animals with conchae lesions			No. of animals running madly	No. of dead animals
	*Venous dilatations	Cyanosis	Necrosis		
A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
C	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
D	0/5	5/5	0/5	0/5	1/5

* Venous dilatations were checked at 22 hours after irradiation.

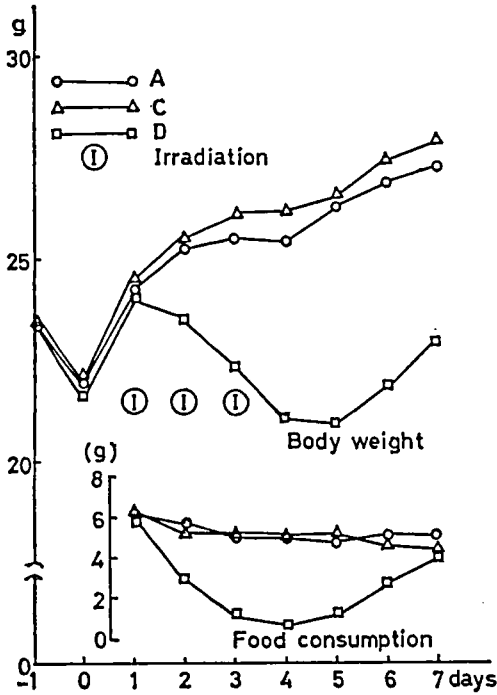


Fig. 5. Body weight and food consumption curves of male mice fed chlorella (pheophorbide fraction)

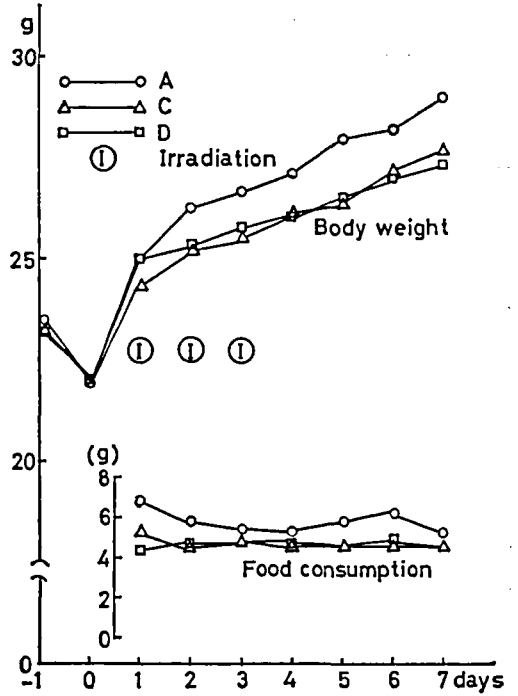


Fig. 6. Body weight and food consumption curves of male mice fed chlorella (pheophytin fraction)

Table 7. Organ weights of male mice fed chlorella (pheophorbide fraction)

Experiment 3

Group	A	C	D
No. of animals	5	5	4
Body weight (g)	27.3 ± 1.6	27.9 ± 1.4	23.0 ± 1.2**
Brain Absolute (g)	0.45 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.43 ± 0.02
Relative	1.65 ± 0.06	1.64 ± 0.13	1.87 ± 0.02**
Heart Absolute (g)	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.01**
Relative	0.49 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.47 ± 0.05
Lung Absolute (g)	0.19 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.16 ± 0.01*
Relative	0.69 ± 0.08	0.67 ± 0.07	0.70 ± 0.06
Liver Absolute (g)	1.68 ± 0.22	1.66 ± 0.16	1.55 ± 0.21
Relative	6.15 ± 0.46	5.94 ± 0.29	6.73 ± 0.65
Kidney Absolute (g)	0.47 ± 0.06	0.45 ± 0.03	0.43 ± 0.02
Relative	1.70 ± 0.13	1.61 ± 0.04	1.87 ± 0.16
Spleen Absolute (g)	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.08 ± 0.02**
Relative	0.45 ± 0.05	0.38 ± 0.05	0.36 ± 0.06*
Testis Absolute (g)	0.18 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.01
Relative	0.66 ± 0.08	0.57 ± 0.09	0.69 ± 0.03
Adrenal Absolute (mg)	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.3	3.7 ± 0.8
Relative	12.7 ± 1.0	13.0 ± 0.7	16.2 ± 3.1*

* P < 0.05 when compared to A

** P < 0.01 when compared to A

Table 8. Phototoxic reaction in male mice fed chlorella (pheophytin fraction)

Experiment 4

Group	No. of animals with conchae lesions			No. of animals running madly	No. of dead animals
	*Venous dilatations	Cyanosis	Necrosis		
A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
C	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
D	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*Venous dilatations were checked at 22 hours after irradiation.

Table 9. Organ weights of male mice fed chlorella (pheophytin fraction)

Experiment 4

Group	A	C	D
No. of animals	5	5	5
Body weight (g)	29.1±0.8	27.7±1.1	27.4±1.8
Brain	Absolute (g)	0.44±0.02	0.44±0.01
	Relative	1.53±0.07	1.57±0.07
Heart	Absolute (g)	0.14±0.01	0.14±0.01
	Relative	0.47±0.03	0.49±0.03
Lung	Absolute (g)	0.17±0.01	0.17±0.01
	Relative	0.58±0.02	0.62±0.07
Liver	Absolute (g)	1.77±0.06	1.78±0.14
	Relative	6.08±0.19	6.42±0.31
Kidney	absolute (g)	0.41±0.04	0.42±0.02
	Relative	1.43±0.16	1.53±0.05
Spleen	Absolute (g)	0.11±0.02	0.12±0.02
	Relative	0.39±0.06	0.42±0.07
Testis	Absolute (g)	0.16±0.02	0.18±0.03
	Relative	0.56±0.05	0.63±0.09
Adrenal	Absolute (mg)	4.7±0.3	4.2±0.6
	Relative	16.0±1.4	15.2±1.8

* P<0.05 when compared to A

** P<0.01 when compared to A

Table 10. Pheophorbide contents in each fraction

Material	Fraction	Pheophorbide (mg/g chlo.)
Unprocessed chlorella without water addition	Methanol-extract	0.020
	Residue	0.067
Unprocessed chlorella with water addition	Methanol-extract	3.448
	Residue	1.085
	Pheophorbide	2.543
	Pheophytin	0.110
Chlorella tablet	Methanol-extract	2.850
	Residue	0.542
	Pheophorbide	2.511
	Pheophytin	0.523

2. 実験 2 (メタノール抽出残渣)

1) 体重及び摂餌量 (Fig. 4)

体重は A 群に比べ各検体摂取群とも照射の影響を受けてない 1 日目より明らかに低い値を示す。また B 群及び C 群ではその後も漸次減少し、5 日目以降に回復を示す。摂餌量は A 群に比べ B 群及び C 群では 4 日目まで、D 群では 2 日目まで明らかに低値を示す。

2) 症状 (Table 4)

いずれの群でも照射による特異な症状の発現は認めない。しかし、実験後半では B 群及び C 群、特に B 群では消瘦が顕著に認められる。

3) 剖検所見及び臓器重量 (Table 5)

すべての動物で肉眼的変化は認めない。臓器重量は、A 群に比べ各群とも実重量あるいは体重比でかなり離れた値を示すが、実重量及び体重比とも明らかな差を示す臓器とその変化は、B 群の脾臓の減少と D 群の肝臓の増加である。

4) 光過敏性皮膚障害判定結果

B 群及び C 群では照射翌日の体重減少を認めるが、他の特異な症状の発現は認められず陰性と判定した。D 群では体重の減少、特異な症状の発現も認められず陰性と判定された。

3. 実験 3 (Pheophorbide 区分)

Pheophorbide 含量が高い水分添加原末及び回収品について実験を行った。両者の pheophorbide 含量は Table 10 示している。

1) 体重及び摂餌量 (Fig. 5)

C 群は A 群と同様の体重の推移を示し、しかも A 群に比べ終始やや高い値を示す。また摂餌量については明らかな差は認められない。D 群では照射の開始とともに体重が著しく減少し、A 群に比べ明らかな低値を示す。摂餌量も同様の傾向を示す。

2) 症状 (Table 6)

A 群及び C 群では全期間を通し特異な症状の発現を認めない。D 群では照射により全例にチアノーゼの発現が認められ、1 例が 2 日目の照射終了後 22 時間目に死亡した。

3) 剖検所見及び臓器重量 (Table 7)

肉眼的変化は死亡動物を含むすべての動物で認められない。臓器重量は A 群と C 群の間に明らかな差は認めない。D 群では脾臓が実重量及び比重とも A 群に比べ低値を示す。他の臓器では実重量及び体重比の両者ともに A 群に比べ明らかな差を示す臓器は認めない。

4) 光過敏性皮膚障害判定結果

C 群では照射による特異な症状の発現は認められず陰性と判定した。D 群では照射により著しい体重の減

少、耳殻のチアノーゼ及び死亡が認められ陽性と判定した。

4. 実験 4 (Pheophytin 区分)

Pheophorbide 区分を分画した残りの pheophytin 区分については、pheophorbide 区分について実験した水分添加原末及び回収品についてのみ実験を行った。

1) 体重及び摂餌量 (Fig. 6)

体重及び摂餌量とも A 群に比べ C 群及び D 群ではやや低い値を示す。しかし、照射翌日の体重減少あるいは摂餌量の変化を認めない。

2) 症状 (Table 8)

いずれの群でも、照射による特異な症状の発現は認めない。

3) 剖検所見及び臓器重量 (Table 9)

すべての群で肉眼的変化は認められない。臓器重量でも A 群に比べ実重量及び体重比の両者ともに明らかな差を示す臓器は C 群及び D 群とも認めない。

4) 光過敏性皮膚障害判定結果

いずれの群でも照射によると考えられる特異な症状の発現は認められず陰性と判定した。

5. 各分画中の pheophorbide 量 (Table 10)

乾燥原末、水分添加原末及び回収品の各分画中の pheophorbide 含量は Table 10 に示すとおりである。水分添加原末と回収品のメタノール抽出区分及び pheophorbide 区分では高い値を示す。

考察及び結語

乾燥原末及び水分添加原末では光過敏性皮膚障害は生じなかったが、それらのメタノール抽出区分残渣で体重の減少が認められた。この変化は乾燥原末では照射を開始する時点で既に生じていたこと、また pheophorbide の含量とは関連が認められないことから、光過敏性皮膚障害と直接的な関係のある反応とは考えられない。その原因として飼料中に占める残渣の割合が約 40% に達していることから、動物の嗜好に起因する摂餌量の低下が考えられる。しかし、更に回収品の残渣では体重増加の抑制がそれほど強く認められないことから、単に嗜好による飼料摂取量の減少だけに起因するとも断言できない。原末ではクロレラ細胞壁の破壊が生じてないために消化管からの吸収が悪いとされている¹⁰⁾。したがって摂餌量の減少に加えてこのような要因がその体重変化に影響していると考えられる。

水分添加原末のメタノール抽出区分及び pheophorbide 区分では体重減少も光過敏性皮膚障害も認めないが、pheophorbide 含量が高い値を示す。田村ら⁹⁾は乾燥原末に水を加え 80° で乾燥した原末をマウスに摂

取させた実験で、光過敏性皮膚障害を認めたと報告している。Tapper ら⁶⁾ はむらさきつゆ草の葉を 70°, 55 分で凝縮した蛋白は光過敏症を示し、90°, 2 分で凝縮した蛋白では陰性であったと報告し、温度と時間が pheophorbide の生成に大きな要因となっていると指摘している。また、著者らが今回の実験の前に行った乾燥原末と粉末飼料を 1:1 の割合で混合した後、固型飼料にするために水を 33% 加え、ペースト状にし、これを円筒管で成型し、約 60° で 20 時間乾燥した飼料をマウスに摂取させ、今回と同じ条件で照射した実験では光過敏性皮膚障害を認めた¹¹⁾。以上の事を考え合わせると、乾燥原末より光過敏性皮膚障害の原因物質が生成されるのには、水分だけでなく温度が大きな要因となることが示唆される。また、両分画で検出された pheophorbide は吸光度等が非常に類似するが、光過敏性皮膚障害を起こさない物質の可能性を否定しえない。なお、この点については温度条件も含めて条件を変えて検討中である。

回収品について行った 4 つの実験では、メタノール抽出区分及び pheophorbide 区分で体重の激減、皮膚障害及び死亡が認められ、光過敏性皮膚障害陽性を認めた。これらの反応は pheophorbide 含量と一致し、回収品中に存在した pheophorbide が原因物質である

ことが強く示唆され、田村ら²⁾ の結果と一致した。

しかし、水分添加原末について、pheophorbide 含量が高いにもかかわらず、動物試験で光過敏性皮膚障害が認められなかった点は、pheophorbide として検出される物質に、光過敏性皮膚障害との関係で更に解明されなければならない微妙な差の存在を示唆していると考えられる。

(本実験は厚生省環境衛生局の委託研究として実施したものである。)

文 献

- 1) 駒井嘉明ら：食品衛生研究, 28, 747 (1978)
- 2) 田村行弘ら：食衛誌, 20, 173 (1979)
- ✓ 3) N. T. Clare: *Advance in Vet. Sci.*, 2, 182 (1955)
- 4) 橋本芳郎ら：食衛誌, 4, 185 (1963)
- 5) 山田幸二ら：栄養と食糧, 25, 466 (1972)
- ✓ 6) B. A. Tapper *et al.*: *J. Sci. Fd. Agric.*, 26, 277 (1975)
- 7) 磯部明彦ら：栄養と食糧, 29, 221 (1976)
- 8) 天野立爾ら：食品衛生研究, 28, 739 (1978)
- 9) 田村行弘ら：食品衛生研究, 28, 753 (1978)
- 10) 満田久輝ら：栄養と食糧, 30, 93 (1977)
- 11) 国立衛生試験所, 毒生部：医薬品類似食品 (クロレラ) に関する研究, 厚生省環境衛生局報告, 未発表 (1977)

Tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate 妊娠期投与のラット胎仔及び
出産仔に及ぼす影響

川島邦夫・田中 悟・中浦楨介・長尾重之
小野田欽一・粕谷 豊・大森義仁

Effects of Tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate on the Prenatal and Postnatal
Developments of the Rats

Kunio KAWASHIMA, Satoru TANAKA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO
Kin-ichi ONODA, Yutaka KASUYA and Yoshihito OMORI

Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate (TDBPP) suspended in olive oil was administered orally to pregnant Wistar rats by gavage at the daily dosage levels of 25, 50, 100 and 200 mg/kg for 9 days from the 7th to the 15th day of gestation, and effects of TDBPP on the prenatal and postnatal developments were examined. Control rats were treated with olive oil alone.

No changes in maternal body weight gain, food consumption and general symptoms were found in the groups of 100 mg/kg of TDBPP and below. In the group of 200 mg/kg, maternal body weight gain and food consumption were suppressed markedly with the toxic symptoms such as salivation, hematuria and piloerection, and 7 out of 19 pregnant rats died.

On the 20th day of gestation, a significant increase in the maternal kidney weight and a slight retardation of fetal developments were observed in the 200 mg/kg group compared with the controls. However, no evidences of increase in fetal death as well as malformation to be attributable to the treatment of TDBPP were obtained.

In the postnatal examination performed on the groups of 25, 50 and 100 mg/kg of TDBPP, the viability index was significantly lower in both groups of 50 and 100 mg/kg than that in the control group. However, the lactation index and survival index on the 10th week after birth in both of the treated groups were demonstrated to be comparable to those of the control. The development of the offspring in all groups examined were well maintained without any disorders in morphological examination and some functional tests such as open field, rota rod, water maze, motor-coordination, preyer's reflex and pain reflex examination.

(Received May 31, 1980)

緒 言

家庭用品に使用されている化学物質のうち ethylene-thiourea, tris(1-aziridinyl)phosphine oxide, dieldrinなどは催奇形性¹⁻⁴⁾、催腫瘍性^{5,6)}及び変異原性⁷⁻¹¹⁾を有することが報告されている。

消炎剤として繊維製品などに使用されていた Tris (2,3-dibromopropyl)phosphate (TDBPP) は、ラットあるいはマウスの腎臓に腫瘍を形成すること、精子形成能に影響を及ぼすこと、及び細胞内の DNA の合成あるいは修復能を阻害することなどが報告されている¹²⁻¹⁷⁾。しかし催奇形性についての報告は少ない¹⁸⁾。

そこで我々は TDBPP を妊娠ラットに投与し母体、胎仔及び出産仔に及ぼす影響を催奇形性を中心に検索したので報告する。

実験材料及び方法

用いた動物は11~12週令のウイスター系ラット（日本ラットK.K.）で、妊娠ラットを得るために未経産雌を同系の雄と一夜同居させ、翌朝膀胱中に精子が認められたラットを実験に供し、この日を妊娠0日として起算した。

TDBPP（和光純薬K.K.製）は、使用時超音波破砕器（360 W, 5分）を用いて4%オリーブ油懸濁液を調製し、0, 25, 50, 100及び200mg/kg用量を各群19~30匹のラットに器官形成期を含む妊娠7日目から15日目までの9日間、1日1回胃ゾンデを用いて強制経口投与した。各妊娠ラットとも全妊娠期間をとおして一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。

これら妊娠ラットのうち各群12~16匹は胎仔実験に

用い、妊娠20日にエーテル麻酔下で開腹して子宮を摘出し、黄体数、着床数及び胎仔死亡の有無などを調べた。生存胎仔については肉眼触手による外形異常の検査を行った後、体重を測定した。母体ごとに生存胎仔数の約1/3を任意に抽出してブアン固定液で約2週間固定した後、ウィルソンの方法¹⁹⁾にしたがって臓器形態検査を行った。残り約2/3の胎仔は80%エタノール液で固定後、アリザリン赤染色骨格標本を作製して骨格系異常を拡大鏡下で調べた。

妊娠中に解剖しなかった各群8～14匹の妊娠ラットについては、自然分娩させ育成実験を行った。出産仔の数、外形異常の有無及び発育状態などを観察するとともに毎週1回体重を測定した。4日令時に10匹以上の出産仔を哺育している母体については出産仔を10匹に制限して哺育させ、4週令時に離乳して雌雄を分離飼育した。6週令時に母体当たり雌雄それぞれ2匹の出産仔を任意に抽出して、自発行動（オープン・フィールド装置²⁰⁾、学習能力（2単位T字形水槽迷路²¹⁾、協調運動（ロータ・ロッド²²⁾、傾斜板法²³⁾、痛覚（Randall-Selitto 式圧刺激式鎮痛効果測定装置²⁴⁾、Ugo-Vasil 社製）及び聴覚（ガルトンホイッスル²⁵⁾）などの機能を検査した。10週令時に出産仔全例をと殺して臓器の異常を観察した後、重量を測定した。

実験成績

1. 妊娠母体に及ぼす影響

妊娠期間中における各群の平均体重及び摂餌量の推移を Fig. 1 に示した。TDBPP 100 mg/kg 以下の群は対照群と同様な体重増加を示し、一般状態にも特に変化は認められなかった。200 mg/kg 群では投与開始2日目（妊娠8日目）から著明な体重減少が認められ3日目（妊娠9日目）頃から立毛、流涎及び血尿が観察された。その後体重は漸増したが、対照群に比較して顕著な増加抑制が認められ、19匹中7匹が妊娠11日目から19日目の間に死亡した。

摂餌量について25及び50 mg/kg 群は対照群と特に大きな差を示さなかった。100及び200 mg/kg 群では全投与期間をとおして摂餌量の低下がみられ、特に200 mg/kg 群において顕著であった。しかし投与終了後は両群とも漸増し、妊娠19日目には対照群とほぼ同じ値となった。

妊娠20日目に妊娠ラットをと殺して得られた成績を Table 1 に示した。黄体数及び着床数は各投与群とも対照群と比較して有意差を示さなかった。胎仔を含む総子宮重量では200 mg/kg 群が対照群より有意に低い値を示した。主要臓器の肉眼観察では全群とも特に

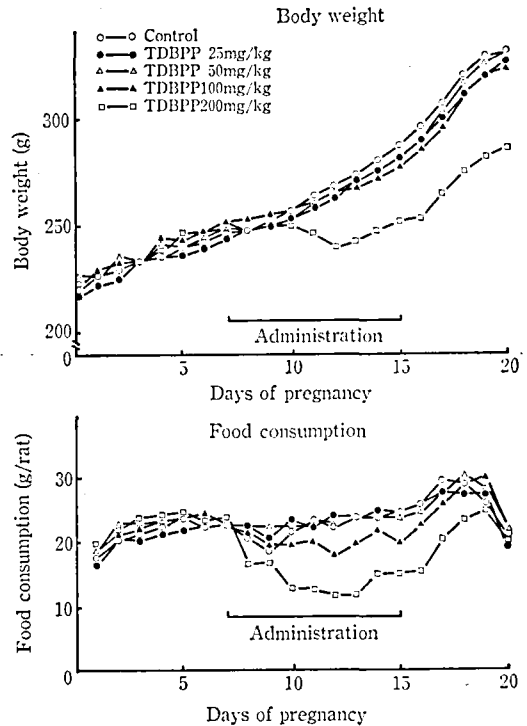


Fig. 1. Effect of oral administration of TDBPP on body weight change and food consumption of pregnant rats

異常は認められなかった。

TDBPP を雌ラットに投与した場合、腎重量が減少することが報告されている²⁶⁾。そこで妊娠ラットの腎重量を測定比較した。対照に比べて、100 mg/kg 以下の投与群では有意な変化は認められなかったが、200 mg/kg 投与群では有意な重量増加が認められた。

2. 胎仔に及ぼす影響

Table 1 に示すとおり、平均生存胎仔の数及び体重は有意な変化ではなかったが、200 mg/kg 群でも対照群より若干低い値を示した。胎仔死亡率は25及び100 mg/kg 群がやや高い値を示した。しかし対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の外形検査では100 mg/kg 群において腎部が小さく曲尾を有した胎仔が1例観察されたのみであった。また臓器の形態異常は1例も観察されなかった。

胎仔の骨格検査成績は Table 2 にまとめて示した。全身の骨格の染色性が極めて低い胎仔が200 mg/kg 群に10例観察された。しかしこれらは同一母体から得られたもので、母ラットの体重増加は著しく低く、体重も0.9～1.5 g と小さかった。痕跡状の頸肋が200 mg/kg 群に1例観察された。一部の胸椎椎体が欠損、

Table 1. Effect of oral administration of TDBPP on pregnant rats and fetal developments

Dose (mg/kg)	0	25	50	100	200
No. of dams	15	15	16	16	12
No. of corpora lutea (mean \pm S. E.)	207 (13.8 \pm 0.6)	209 (13.9 \pm 0.7)	241 (15.2 \pm 0.6)	247 (15.4 \pm 0.9)	164 (13.7 \pm 0.8)
No. of implants (mean \pm S. E.)	186 (12.4 \pm 0.8)	169 (11.3 \pm 1.2)	205 (12.8 \pm 0.7)	186 (11.6 \pm 1.0)	124 (10.3 \pm 1.3)
Uterine weight with fetuses (mean \pm S. E.) (g)	66.0 \pm 4.0	55.8 \pm 5.6	66.7 \pm 3.9	55.7 \pm 5.3	49.4 \pm 6.3*
Kidney weight (mean \pm S. E.) (g) (g/100g B. Wet.)	1.83 \pm 0.06 0.61 \pm 0.03	2.03 \pm 0.09 0.65 \pm 0.04	1.80 \pm 0.05 0.59 \pm 0.02	1.97 \pm 0.09 0.65 \pm 0.03	2.91 \pm 0.17* 1.08 \pm 0.09*
No. of live fetuses (mean \pm S. E.)	178 11.9 \pm 0.8	157 10.5 \pm 1.11	197 12.3 \pm 0.8	165 10.3 \pm 1.01	121 9.3 \pm 1.4
Sex ratio (male/female)	82/96	92/65	100/97	83/82	56/65
Body weight (mean \pm S. E.) (g)	3.91 \pm 0.09	3.77 \pm 0.08	3.86 \pm 0.09	3.84 \pm 0.10	3.48 \pm 0.26
No. of fetuses with anomaly	0	0	0	1(0.5%)§	0
No. of dead implants	8(4.3%)	12(7.1%)	8(3.9%)	21(11.3%)	3(2.4%)
early death	7(3.8%)	12(7.1%)	8(3.9%)	20(10.8%)	1(0.8%)
late death	1(0.5%)	0	0	1(0.5%)	2(1.6%)

*: $p < 0.05$. §: Flexure of the tail.

Table 2. Effect of oral administration of TDBPP to pregnant rats on skeletal development of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	25	50	100	200
No. of dams	15	15	16	16	12
No. of fetuses examined	130	116	145	120	88
No. of fetuses with retarded ossification of whole skeletal system	0	0	0	0	10(11.4%)
No. of fetuses with cervical rib	0	0	0	0	1(1.1%)
No. of fetuses with absent thoracic centrum	0	0	1(0.7%)	0	0
No. of fetuses with bipartite thoracic centrum	3(2.3%)	1(0.9%)	3(2.1%)	2(1.7%)	0
No. of fetuses with varied thoracic centrum	3(2.3%)	4(3.5%)	6(4.1%)	3(2.5%)	1(1.1%)
No. of fetuses with shortened 13th rib	1(0.8%)	0	2(1.4%)	0	0
No. of fetuses with varied lumbar vertebrae	0	0	0	0	1(1.1%)
No. of fetuses with varied caudal vertebrae	0	0	0	1(0.8%)	0
No. of fetuses with lumbar rib	7(5.4%)	1(0.9%)	2(1.4%)	4(3.3%)	3(3.4%)
No. of fetuses with varied sternbrae	45(34.6%)	58(50.0%)	48(35.1%)	50(41.7%)	64(72.7%)*
Average number of metacarpus	7.9	7.9	7.9	7.9	7.2
Average number of metatarsus	8.0	8.0	8.0	8.0	7.6
Average number of caudal vertebrae	4.4	4.2	4.4	4.3	4.2

*: $p < 0.01$.

分離あるいは二連球状に変形した胎仔が対照群を含め各群に数例認められた。第13肋骨の短小が対照群に1例、50 mg/kg 群に2例それぞれ観察され、50 mg/kg 群の1例は第13胸椎椎体の分離を伴ったものであった。第3腰椎から第5腰椎にかけて右側椎弓が短小、あるいはその一部が分離した胎仔が200 mg/kg 群に1例観察された。なお、本例は外形的に異常は認められな

かった。尾椎が屈曲した胎仔が100 mg/kg 群に1例認められたが、本例は外形検査において曲尾と判定されたものであった。しかし、これら異常の発生率はいずれも対照群との間に有意な差を示さなかった。

腰肋は対照群を含む各群に1～5%前後観察され、群間に有意差は認められなかった。

化骨状態については胸骨核の形状並びに中手骨、中

Table 3. Effect of oral administration of TDBPP to pregnant rats on postnatal development of the offspring

Dose (mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams	8	8	8	14
No. of implantation site (mean \pm S. E.)	99 (12.4 \pm 0.5)	102 (12.8 \pm 1.3)	116 (14.5 \pm 0.7)	175 (12.5 \pm 0.7)
No. of newborn at birth (mean \pm S. E.)	94 (11.8 \pm 0.5)	97 (12.1 \pm 1.3)	92 (11.5 \pm 1.0)	156 (11.1 \pm 0.6)
Delivery index	95%	95%	79.3%	89.1%
No. of offspring at 4 days (mean \pm S. E.)	75 (9.4 \pm 1.3)	79 (0.9 \pm 1.9)	32 (4.0 \pm 2.1)	56 (4.0 \pm 1.5)
Viability index	79.8%	81.4%	34.9%*	35.9%*
No. of offspring after selection at 4 days (mean \pm S. E.)	66 (8.3 \pm 0.7)	64 (8.0 \pm 1.4)	32 (4.0 \pm 2.1)	50 (3.6 \pm 1.3)
No. of offspring at 4 weeks (mean \pm S. E.)	64 (8.0 \pm 0.7)	63 (7.9 \pm 1.3)	31 (3.9 \pm 2.0)	50 (3.6 \pm 1.3)
Lactation index	97%	98.4%	96.9%	100%
No. of offspring at 10 weeks (mean \pm S. E.)	60 (7.5 \pm 1.0)	63 (7.9 \pm 1.3)	31 (3.9 \pm 2.0)	50 (3.6 \pm 1.3)
Survival index	90.9%	98.4%	96.9%	100%

$$\text{Delivery index} = \frac{\text{No. of newborns at birth}}{\text{No. of implantation sites}} \times 100$$

$$\text{Lactation index} = \frac{\text{No. of offspring at 4 weeks}}{\text{No. of offspring after selection at 4 days}} \times 100$$

$$\text{Viability index} = \frac{\text{No. of offspring at 4 days}}{\text{No. of newborns at birth}} \times 100$$

$$\text{Survival index} = \frac{\text{No. of offspring at 10 weeks}}{\text{No. of offspring at 4 weeks}} \times 100$$

*: $p < 0.05$.

足骨及び尾椎骨の化骨数を調べて判定した。100 mg/kg 以下の群ではいずれのパラメーターも大差なかった。200 mg/kg 群では胸骨核の変形(痕跡状, 分離等)あるいは一部欠損した胎仔の出現頻度が有意に高い値を示し, 化骨遅延を示唆する成績が得られた。しかし中手骨, 中足骨及び尾椎骨の数は対照群と特に大きな差を示さなかった。

3. 出産仔に及ぼす影響

各群 8~14匹の妊娠ラットを自然分娩させ, 出産仔の生後発育に及ぼす TDBPP の影響を調べた。200 mg/kg 群では投与期間中に妊娠ラットの死亡が認められたので, 育成実験は 100 mg/kg 以下の用量について行った。

Table 3 に示すとおり, 着床数, 分娩数及び分娩率 (Delivery index) はいずれの投与群も対照群との間に有意な差を示さなかった。50 及び 100 mg/kg 群では分娩後 1~3 日以内に母ラットによる喰殺例が認められ, 4 日令時生存率 (Viability index) が対照群に比較して有意に低い値を示した。しかし, 哺育率 (Lactation index) 及び実験終了時生存率 (Survival index) では 50 及び 100 mg/kg 群を含め群間に有意な変化は認められなかった。

出産仔の体重の推移は 4 日令時死亡率の高かった 50

及び 100 mg/kg 群を含め, 各投与群の雌雄ともいずれの測定時においても対照群との間に有意な差は認められなかった。

6 週令時に自発行動, 学習能力, 協調運動, 痛覚及び聴覚を検査したが, 特に TDBPP 投与との関連性を示唆する成績は得られなかった。

10 週令時にと殺した出産仔の主要臓器の実重量は Table 4 に示すとおり, 若干のパラッキが散見されたが用量関係は明らかでなく, 有意な変化は認められなかった。また, 体重に対する相対値についての検索でも有意な変化は認められなかった。TDBPP 200 mg/kg 群の妊娠ラットにおいて腎重量の有意な増加が観察されたが, 出産仔の腎重量に変化は認められなかった。

考 察

妊娠ラットに TDBPP を投与した場合, 最高用量である 200 mg/kg 群で立毛, 流涎, 血尿, 摂餌量の減少及び体重増加の抑制が認められ, 19 例中 7 例が死亡した。これらの成績から 200 mg/kg 量は妊娠ラットに対して中毒症状を示して死亡させる量であることが明らかにされた。その影響が本投与群において観察された胎仔を含む子宮総重量の低下, 胎仔体重の軽度な低下, 胸骨核異常胎仔の有意に高い発生率, 及び全身

Table 4. Effect of oral administration of TDBPP to pregnant rats on absolute organ weight of the offspring

Dose (mg/kg)	0		25		50		100	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
No. of offspring examined	25	35	25	38	19	12	26	24
Body weight (g)	290.7 ±12.3	216.8 ±9.6	301.2 ±18.1	207.2 ±8.7	281.6 ±20.0	203.6 ±12.5	282.9 ±13.8	201.0 ±10.7
Brain (g)	1.89 ±0.04	1.76 ±0.04	1.87 ±0.04	1.76 ±0.05	1.83 ±0.03	1.66 ±0.07	1.84 ±0.05	1.71 ±0.05
Pituitary (mg)	9.20 ±1.09	11.14 ±0.66	11.56 ±1.01	12.58 ±2.06	9.97 ±1.20	9.21 ±1.27	10.30 0.88	9.83 ±1.30
Thyroid (mg)	26.09 ±1.74	20.19 ±2.27	23.78 ±2.08	23.45 ±1.86	23.45 ±3.60	22.49 ±2.39	25.92 ±2.25	22.00 ±2.11
Thymus (g)	0.62 ±0.04	0.53 ±0.04	0.64 ±0.04	0.51 ±0.05	0.70 ±0.06	0.55 ±0.07	0.65 ±0.50	0.55 ±0.05
Heart (g)	1.17 ±0.06	0.94 ±0.04	1.24 ±0.07	0.90 ±0.05	1.18 ±0.12	0.92 ±0.07	1.16 ±0.08	0.86 ±0.07
Lung (g)	1.80 ±0.15	1.61 ±0.13	2.04 ±0.20	1.88 ±0.22	1.89 ±0.21	1.53 ±0.19	1.84 ±0.18	1.53 ±0.24
Liver (g)	15.54 ±0.91	13.70 ±0.71	17.39 ±1.45	13.19 ±0.72	15.61 ±2.07	12.41 ±1.13	15.10 ±0.89	11.69 ±1.01
Spleen (g)	0.68 ±0.04	0.56 ±0.02	0.71 ±0.04	0.58 ±0.02	0.70 ±0.06	0.61 ±0.07	0.70 ±0.08	0.56 ±0.05
Kidney (g)	2.71 ±0.17	2.06 ±0.11	2.93 ±0.20	1.90 ±0.10	2.54 ±0.21	2.10 ±0.21	2.63 ±0.18	1.84 ±0.12
Adrenal (mg)	49.70 ±2.59	69.35 ±4.69	53.19 ±4.01	65.41 ±4.32	48.17 ±5.76	62.03 ±4.76	46.57 ±2.80	60.43 ±6.00
Uterus (g)		0.46 ±0.04		0.42 ±0.05		0.52 ±0.12		0.35 ±0.05
Ovary (mg)		123.57 ±7.55		126.50 ±8.73		107.67 ±9.82		122.46 ±14.37
Testis (g)	2.45 ±0.09		2.52 ±0.11		2.36 ±0.15		2.38 ±0.13	

Data are mean ± S. E.

の骨格系の染色性が極めて不良な低体重胎仔の発生に反映されたものと考えられる。しかしながら、胎仔死亡率では 200 mg/kg を含め TDBPP 投与群と対照群との間に有意な差は認められず、また各群の死亡率とも我々の研究室におけるバックグラウンドデータの範囲内であったことから、TDBPP がラット胎仔に対して特に致死作用を示したとは考え難い。

TDBPP 200 mg/kg 群の妊娠ラットの腎重量が有意に高い値を示し、TDBPP の短期間投与は妊娠ラットの腎重量を増加させることが明らかにされた。TDBPP は腎臓に腫瘍を形成すること^{12,17)}、及び慢性間質性腎炎を惹起することが¹⁸⁾報告されており、本実験で観察された腎重量の増加は TDBPP の腎臓に対する障害作用に起因したのと考えられる。Osterberg ら²⁶⁾は TDBPP を雄及び非妊娠の雌ラットに90日間経口投与した場合、雌雄ラットともに腎重量が低下したと報告

している。Osterberg ら²⁶⁾の成績と妊娠ラットを用いた本実験の成績は相反する結果であったが、この差異は妊娠あるいは投与日数の相異によるものではないかと考えられる。

胎仔の外表及び骨格異常として、100 mg/kg 群に曲尾1例、対照群に第13肋骨の短小1例、50 mg/kg 群に第13肋骨の短小2例、200 mg/kg 群に腰・仙椎の異常1例がそれぞれ認められた。しかしながら、本実験の対照群、我々の研究室のバックグラウンドデータ並びに自然発生奇形に関する報告^{27,28)}との比較において、これら異常の発生頻度及び形状ともに TDBPP との関連を示唆する所見は認められなかった。Seabaugh ら¹⁸⁾は TDBPP 125 mg/kg を妊娠後期ラットに経口投与した場合、胎仔の外表奇形は認められなかったが、胎仔の腎臓に異常が認められたと報告している。我々の実験では臓器の形態異常を有する胎仔は1例も観察さ

れず、TDBPP がラットに対して特に催奇形的であったとは考え難い。

また骨格変異として腰肋が各群に若干例観察された。サリチル酸等の催奇形因子を妊娠ラットに適用した場合、腰肋の発生頻度が増加することが報告されている²⁹⁻³¹⁾。本実験ではその発生頻度が TDBPP 群において特に高くなるという成績は得られず、各投与群の発生率は我々の研究室におけるバックグラウンドデータの範囲内であった。

出産仔の生後発育の観察において、50 及び 100 mg/kg 群では母ラットの喰殺により 4 日令時生存率が有意に低い値を示し TDBPP の影響が示唆された。

しかし、両投与群を含めその後の出産仔の発育に著変は認められず、また機能検査においても異常例は観察されなかったことから、妊娠期に投与した TDBPP が出産仔の生後発育に特に悪影響を及ぼしていたとは結論し難い。

ま と め

Tris (2, 3-dibromopropyl)phosphate (TDBPP) の 25, 50, 100 及び 200 mg/kg を、妊娠ラットに器官形成期を含む妊娠 7 日から 15 日までの 9 日間毎日 1 回強制経口投与し、妊娠母体、妊娠末期胎仔及び出産仔の発育に及ぼす影響を催奇形性を中心に対照群と比較検討した。

1. 妊娠ラットについて、TDBPP 100 mg/kg 以下の群は妊娠期間をとおして対照群と同様な体重増加を示し、一般状態は良好で、黄体数、着床数、総子宮重量にも変化は認められなかった。200 mg/kg 群では立毛、流産、血尿及び体重増加の抑制が認められ、19 匹中 7 匹が死亡し、有意な総子宮重量の減少と腎重量の増加が認められた。

2. 妊娠 20 日目の胎仔について、100 mg/kg 以下の群では平均生存胎仔の数及び体重、胎仔死亡率に有意な変化は認められず、外形、臓器、骨格の諸検査でも特に TDBPP によると考えられる異常は観察されなかった。200 mg/kg 群では平均生存胎仔の数及び体重がやや低い値を示し、全身の化骨状態が著しく遅延した低体重胎仔が同一母体から 10 匹得られた。また胸骨核の変形した胎仔の発生率が有意に高かった。

3. 育成実験において、TDBPP 25 mg/kg 群では特に変化は認められなかった。50 及び 100 mg/kg 群では母ラットの喰殺により 4 日令時出産仔の生存率が有意に低い値であったが、哺育率及び実験終了時生存率では対照群との間に有意な差は認められなかった。機能検査においても特に異常例は観察されなかった。

文 献

- ✓ 1) Ruddick, J.A. and K.S. Khera: *Teratology*, **12**, 277 (1975)
- 2) Teramoto, S. et al.: *Cong. Anom.*, **18**, 11 (1978)
- ✓ 3) Thiersch, J.B.: *Pros. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**, 36 (1957)
- 4) *US Department of Health, Education, and Welfare* (1969) Report, Washington, D.C., US Government Printing Office.
- ✓ 5) Graham, S. L. and W. H. Hansen: *Bull. Env. Cont. Toxic.*, **7**, 19 (1972)
- ✓ 6) Tomatis, L. et al.: *Cancer Research*, **38**, 877, (1978)
- ✓ 7) Seiler, J.P.: *Mutation Res.*, **26**, 189 (1974)
- ✓ 8) Teramoto, S. et al.: *Mutation Res.*, **56**, 121 (1977)
- ✓ 9) Epstein, S.S. and H. Shafner: *Nature* (London), **219**, 385 (1968)
- ✓ 10) Epstein, S. S. et al.: *Tox. Appl. Pharmacol.*, **17**, 23 (1970)
- 11) Epstein, S.S. and L.S. Marrin: *The Mutagenicity of Pesticides* p. 55 (1971)
- ✓ 12) Duuren, B. V. D. et al.: *Cancer Research*, **38**, 3236 (1978)
- ✓ 13) Prival, M. H. et al.: *Science*, **195**, 76 (1977)
- ✓ 14) Blum, A. and B.N. Ames: *Science*, **195**, 17 (1979)
- ✓ 15) Gutter, B. and H. S. Rosenkranz: *Mutat. Res.*, **56**, 89 (1977)
- ✓ 16) Sjöderlund, E. J. and E. Dybig: *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **44**, 284 (1979)
- 17) *NCI Carcinogenesis Technical Report Series No. 76* (1978)
- 18) Seabaugh, V.M. et al.: *Abstracts of Papers, Society of Toxicology 17th Annual Meeting*, P. 286 (1978)
- 19) Wilson, J. G.: *Teratology-Principles and Techniques*, Wilson, J. G. and J. Warkany, eds., p. 262 (1965), Chicago Univ. Press, Chicago and London.
- ✓ 20) Hall, C.S.: *J. Comp. Psychol.*, **22**, 345 (1936)
- ✓ 21) Waller, M. B. et al.: *Psychol. Reports*, **7**, 99 (1960)
- ✓ 22) Dumham, N. W. and T. S. Miya: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **46**, 208 (1957)
- ✓ 23) Kondziella, W.: *Arch. int Pharmacodyn.*, **152**, 277 (1964)
- ✓ 24) Randall, L. O. and J. J. Selitto: *Arch. int Pharmacodyn.*, **111**, 409 (1957)
- 25) 秋吉正豊ら: *Jap. J. Antibiotics*, **27**, 735 (1974)
- 26) Osterberg, R. E. et al.: *Abstract of Papers, Society of Toxicology 17th Annual Meeting*, P. 71 (1978)
- 27) 江崎孝三郎, 谷岡功邦: *先天異常*, **10**, 216 (1970)
- 28) Palmer, A. K.: in "Drugs and Fetal Development," Klingberg, M. A. et al. eds., *Adv. Exp.*

Biol. Med., 27, 45 (1972)

29) Kimmel, C. A. and J. G. Wilson: *Teratology*, 8, 309 (1973)

30) 安田峯生, 前田広由: 先天異常, 13, 25 (1973)

31) Tanaka, S. et al.: *Cong. Anom.*, 13, 73 (1973)

Hexobarbital radiometry の開発とその応用

井上和秀・溝上敬之助・藤内桃子
高仲 正・粕谷 豊・大森義仁

Development of Hexobarbital Radiometry and Its Application

Kazuhide INOUE, Keinosuke MIZOKAMI, Momoko SUNOUCHI, Akira TAKANAKA
Yutaka KASUYA and Yoshihito OMORI

In order to detect a very low activity of the drug metabolizing enzyme, a high sensitive HB-radiometry was developed.

The metabolic hydroxylation of HB has been determined by measuring the disappearance of the substrate. This method is not so useful to determine very low metabolic activity since the disappearance of the substrate by metabolic conversion is not so marked as the experimental error is. In our radiometry, the radioactivity of metabolites in the aqueous phase was measured directly, therefore, the reliability of measurement was high when concentration of substrate was enough. Using this radiometry as well as AM- and BP-radiometry, monooxygenase activities in fetal livers of rats were detected as early as on day 17 of gestation. Moreover, the induction by PCB maternally administered was also found on them.

(Received May 31, 1980)

結 言

肝小胞体の薬物代謝酵素は薬物や環境汚染物質等異物の生体内運命にとって重要な役割をになっており、この酵素活性の変動は異物の作用あるいは毒性に大きく影響してくる。したがってこの活性を測定することは生体内異物の pharmacodynamics を理解する上で極めて重要な仕事となる。ところで近年の研究の進歩に伴い、この分野の研究対象は肝臓以外のより活性の低い組織へと向かい、また生検で得たごく微量の試料を測定対象とする機会もふえてきた。それゆえ、これらの低い活性あるいは微量の試料の活性を測定できる確実で再現性のあるしかも簡便な方法が要求される。

一般に薬物代謝酵素活性は基質により異なる。当研究室では薬用医薬品の hexobarbital (HB) や aminopyrine (AM) を代表的な基質として用いてきた¹⁻³⁾。前者はアリフェティックな水酸化、後者はN-脱メチル化をみるものとして意味がある。薬物代謝酵素系の中で基質と結合する cytochrome P-450 といわれるヘムタンパクには大きくわけて 3-methylcholanthrene で誘導される P-448^{4,5)} と phenobarbital で誘導され

る P-450^{6,7)} とがある。HB あるいは AM などは主に P-450 で代謝される。P-448 はアロマティックな炭化水素の水酸化に特に深く関与していると言われ、P-448 に特異的な基質として benzo(a)pyrene (BP)⁸⁻¹⁰⁾ があげられる。

以上の理由から、HB、AM 及び BP を代表基質とした肝薬物代謝酵素活性の高感度測定法について検討し、かつこれらを応用してラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性を測定し、更にそれらの活性に及ぼす PCB の影響も合わせ検討したのでここに報告する。

実 験 方 法

動物

ウィスター系ラットを室温 24°~26° の動物室で、固型飼料及び水は自由摂取として飼育した。妊娠動物は、4~5 匹の雌ラットを 2 匹の雄ラットと 1 夜同居させることにより得、膣垢中に精子を確認したその日を妊娠 0 日とした。胎仔の肝薬物代謝酵素活性に及ぼす PCB の影響をみる場合には、実験に供する 3 日前に PCB (カネクロール 400, d=1.45) 0.5 ml/kg (20% オリーブ油溶液) を母体に経口投与した。

肝, $1 \times 10^4 \times g$, 上清の調整

成熟ラットは断頭後放血し, 摘出した肝臓を冷1.15%等張塩化カリウム溶液に入れ小断片にきざみよく洗った後, 氷水で冷却しながらテフロンホモジナイザーで3倍量の等張塩化カリウム溶液とともにホモジナイズし, $1 \times 10^4 \times g$, 20分間冷却遠心分離し, この上清を酵素液とした。

胎仔肝臓は摘出後冷却等張塩化カリウム溶液で洗浄し, 1腹をプールして3倍量の等張塩化カリウム溶液とともにホモジナイズした。更に $1 \times 10^4 \times g$, 20分間冷却遠心分離し, 上清を酵素液とした。

試薬

NADP 及び G-6-P は Boehringer and Soehne GmbH 製 [dimethylamine- ^{14}C]-AM (70.0 mCi/mmol) 及び [^{14}C]-HB (8.58 mCi/mmol) は New England Nuclear 製, [^{14}C]-BP (21.7 mCi/mmol) は The Radiochemical Centre, Amersham 製のものをそれぞれ精製して使用した。その他は市販の特級試薬を使用した。

HB radiometry

^{14}C -HB の精製と ^{14}C -HB の基質溶液の調整 市販の ^{14}C -HB エタノール溶液を必要量だけとり水 2 ml と冷却クロロホルム 4 ml を加えよく振盪し, 2500 rpm で10分間遠心分離する。その後クロロホルム層 3.5 ml を分取し, 窒素ガス中でクロロホルムを留去した。残留する ^{14}C -HB に標識していない HB 水溶液を加え, 最終的に 1×10^5 dpm/0.5 μ mol/0.02 ml とする。

反応液の調整 反応液は基本的に次の構成とした。すなわち, NADP 1 mM, G-6-P 30 mM, 塩化マグネシウム 5 mM, ニコチン酸アミド 10 mM, 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.24 ml, ^{14}C -HB 溶液 0.02 ml, 酵素液 0.2 ml に水を加え総容量 0.5 ml とした。

HB 代謝活性測定 反応液を 15 ml 共栓つき試験管に入れ, 37° で30分間インキュベーションした。その後, 試験管を氷水中で冷却し, 1.5% イソアミルアルコール含有のヘキサン 8 ml と 1 M の酢酸緩衝液 (pH 5.0) 1 ml を加えて 20 分間振盪し, ついで 2500 rpm で10分間遠心分離した。有機層は吸引除去して, 水層 1 ml を分取し, 再び 1.5% イソアミルアルコール含有のヘキサン 8 ml を加え10分間振盪後 2500 rpm で10分間遠心分離した。有機層を吸引除去後, 水層 0.5 ml を取りノニオン系シンチレーター 15 ml (トルエン 10.5 ml に POPOP 2.625 mg 及び DPO 47.25 mg を加え溶かし, 更にノニオン(日本油脂) 4.5 ml を加えよく混和する。)と水 2 ml の混合液に加えよく振盪した。このものの放射活性を Liquid Scintillation

Spectrometer (Aloka 651 型, 日本無線医理学研究所製) で測定した。インキュベーションをしない以外全て同様の操作方法を経たものを blank とした。また, 代謝活性を計算するために1試験管当たりの加えた全放射活性をも測定した。

上記水層中の代謝物の検討 代謝物と未反応の基質との分離を確認するために thin-layer radiochromatography (TLC) にて水層並びに有機層の各物質を展開した。対照として HB を用いた。スポットフィルムシリカゲル f (東京化成工業) に各層の濃縮液を 10 μ l スポットし, 次の3溶媒系にて展開した。すなわち N; chloroform: acetone (9:1, v/v), B; ethyl acetate: methanol: aq. ammonia (85:10:5, v/v) 及び A; benzene: acetic acid (9:1, v/v) である。スポットの位置確認は U. V. ライトと radiochromato-scan (Aloka Thin-Layer Chromatogram Scanner) とを用いて行った。代謝物は更に TLC で2回展開することにより精製し, 得られた結晶の MS, NMR, 及び IR などのスペクトルからその構造式を求めた。

AM radiometry

^{14}C -AM の精製及び ^{14}C -AM 基質溶液の調整 市販の ^{14}C -AM 水溶液を必要量だけとり, 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 2 ml と冷却クロロホルム 4 ml を加え振盪した。以下は ^{14}C -HB の場合と同様に操作した。

反応液の調整 反応液は基本的に次の構成とした。すなわち NADP 1 mM, G-6-P 30 mM, 塩化マグネシウム 5 mM, ニコチンアミド 10 mM, セミカルバジド 10 mM, 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.23 ml, ^{14}C -AM 溶液 0.02 ml, 酵素液 0.2 ml に水を加え総容量 0.5 ml とした。

AM 代謝活性測定 Poland and Nebert の方法¹³⁾ に準じて次のように行った。反応液を 15 ml 共栓つき試験管に入れ 37° で30分間インキュベーションした。その後, 試験管を氷水中で冷却後冷却クロロホルム 8 ml と 0.1 N の水酸化ナトリウム溶液 1 ml を加えて 5 分間振盪し, ついで 2500 rpm で10分間遠心分離した。水層 1 ml を分取し再び冷却クロロホルム 8 ml を加え 5 分間振盪後 2500 rpm で10分間遠心分離した。この後, 水層 0.5 ml を取りノニオン系シンチレーター 15 ml と水 2 ml の混合液に加え放射活性を測定した。この場合もインキュベーションをしない以外同一操作を経たものを blank とした。

BP radiometry

^{14}C -BP の精製及び ^{14}C -BP 基質溶液の調整 市販の ^{14}C -BP トルエン溶液を必要量だけ取り, 0.5 N 水酸化ナトリウム水溶液の80%エタノール溶液 2 ml と

ヘキサン 4 ml を加え振盪し、2500 rpm で10分間遠心分離した。その後ヘキサン層 3.5 ml を分取し、窒素ガス中でヘキサンを留去した。残留する ^{14}C -BP に標識していない BP のアセトン溶液を加え、最終的に 1×10^5 dpm/80 μmol /0.025 ml のアセトン溶液とした。

反応液の調整 反応液は基本的に次の構成にした。すなわち NADP 1 mM, G-6-P 30 mM, 塩化マグネシウム 5 mM, 塩化マンガン 5 nM, 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.695 ml, 酵素液 0.2 ml に水を加え総量 0.975 ml とした。

BP 代謝活性測定 Nesnow らの方法¹²⁾に準じて次のように行った。 ^{14}C -BP のアセトン溶液 0.025 ml をそれぞれの試験管に入れた後 37°, 30分間のインキュベーションをした。その後ヘキサン 3 ml と 0.5 N 水酸化ナトリウム水溶液の80%エタノール溶液 1 ml を

加え 5分間振盪し 2500 rpm で10分間遠心分離した。更に、トリフルオロ酢酸 10 μl を上層に静かに滴下し約 2分間静置後、5分間振盪し 2500 rpm で10分間遠心分離した。この後下層を 1 ml 分取し、ヘキサン 3 ml を加え再び 5分間振盪及び 2500 rpm, 10分間遠心分離をした。この下層 0.5 ml をノニオン系シンチレーター 15 ml と水 2 ml に加え、その放射活性を測定した。酵素液 0.2 ml の代わりに牛血清アルブミン水溶液 (70 mg/4 ml) 0.2 ml を加えた以外上記と同様に操作したものを blank とした。

実験結果

1. HB radiometry

加えた放射活性の回収率は 2回抽出した有機層の放射活性と水層のそれとを合計し、この合計値と加えた

Analytical Method			Hexobarbital	Metabolite
TLC (R_f)	Solvent systems	N	0.72	0.10
		B	0.90	0.68
		A	0.41	0.09
MS (m/e)			236 M ⁺	234 (M ⁺ -H ₂ O)*
NMR (CDCl ₂ , δ)	1.60 ($-\text{CH}_3$, s)		1.60 ($-\text{CH}_3$, s)	
	Ca 1.6 ($-\text{CH}_2\text{-X}_2$, br)		Ca 1.6 ($-\text{CH}_2\text{-X}_2$, br)	
	1.90 ($-\text{CH}_2-$, br)		Ca 1.7 ($>\text{CH-OH}$, br)*	
	2.10 ($-\text{CH}_2-$, br)		1.90 ($-\text{CH}_2-$, br)	
	3.25 (N- CH_3 , s)		3.24 (N- CH_3 , s)	
			Ca 4.2 ($>\text{OH}$, br)	
	5.70 ($-\text{CH}=\text{C}<$, m)		5.73 ($-\text{CH}=\text{C}<$, m)	
9.10 ($-\text{OH}$, br)		8.43 ($-\text{OH}$, br)		
IR (KBr)				

* unidentified

Fig. 1. Analytical data of HB and its metabolite by TLC, MS, NMR, and IR

In TLC, solvent systems were N; chloroform: acetone (9:1, V/V), B; ethyl acetate: methanol: aq. ammonia (85:10:5, V/V), and A; benzene: acetic acid (9:1, V/V).

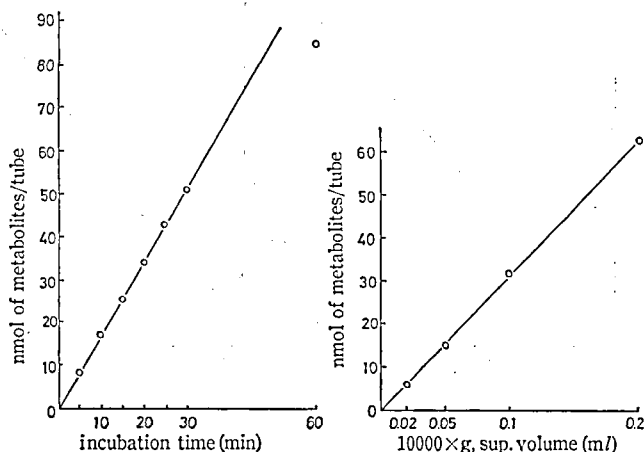


Fig. 2. Linearity with incubation time and $1 \times 10^4 \times g$, supernatant fraction (enzyme) volume of the HB radiometry

In the experiment of linearity with incubation time, enzyme volume was 0.1 ml. In the experiment of linearity with enzyme volume, incubation time was 30 min.

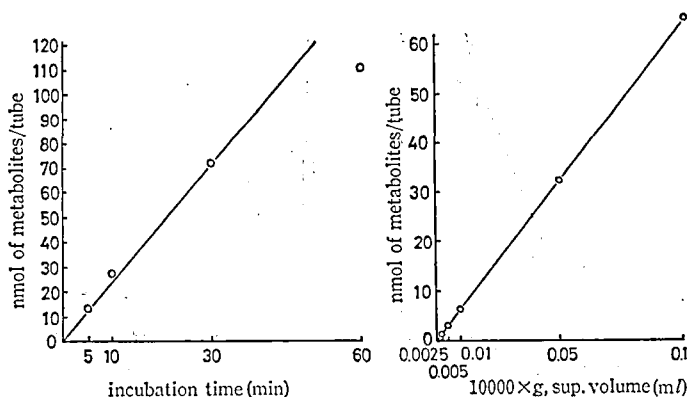


Fig. 3. Linearity with incubation time and $1 \times 10^4 \times g$, supernatant fraction (enzyme) volume of the AM radiometry

In the experiment of linearity with incubation time, enzyme volume was 0.1 ml. In the experiment of linearity with enzyme volume, incubation time was 30 min.

放射活性とを比較することにより求めた。その結果、反応液を30分間インキュベーションした場合、回収率は 99.6 ± 1.0 (S. E.)% であり、blank の場合のそれは 101.0 ± 1.3 % であり、ほとんどすべての放射活性は回収される。

次に TLC の結果であるが、有機層の radioactive なスポット (Org. と略) はすべて HB と同じ R_f 値を示した。すなわち、N, B 及び A 展開溶媒での Org. と HB の R_f 値はそれぞれ次の通りであった。N (Org.; 0.74, HB; 0.78), B (Org.; 0.87, HB; 0.86) 及び

A (Org.; 0.48, HB; 0.49)。Org. のスポットは単一であったので有機層には未反応の基質のみが含まれていると考えられた。一方、水層の radioactive なスポット (Aq. と略) はただ1つ認められ、その R_f 値は Fig. 1 のごとく、いずれの溶媒でも HB とは異なるので、このものは代謝物と思われる。NMR の結果、代謝物では HB に比シクロヘキセン環の 2.1 ppm 付近の $-\text{CH}_2-$ プロトンが2個減少し、新たに1個のプロトンのピークが 1.7 ppm 付近に、1個の水酸基と思われるピークが 4.2 ppm 付近に現われた。また

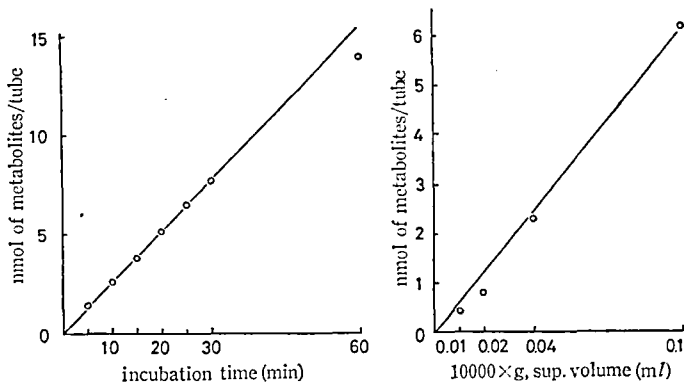


Fig. 4. Linearity with incubation time and $1 \times 10^4 \times g$. supernatant fraction (enzyme) volume of the BP radiometry

In the experiment of linearity with incubation time, enzyme volume was 0.2 ml. In the experiment of linearity with enzyme volume, incubation time was 30 min.

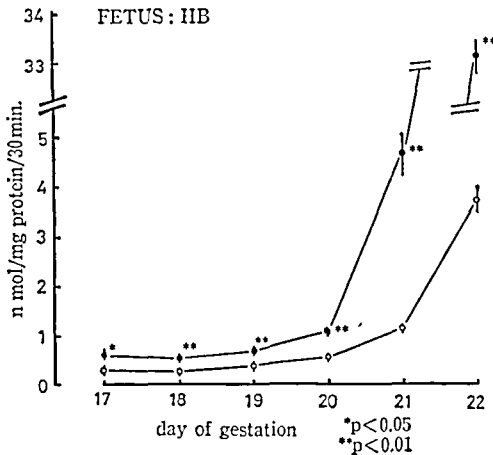


Fig. 5. HB-metabolizing activity in fetal livers of rats and the induction by PCB

The data are represented as the mean \pm S. E. \circ - \circ ; Control, \bullet - \bullet ; PCB treated. The asterisk indicates a statistically significant difference from control.

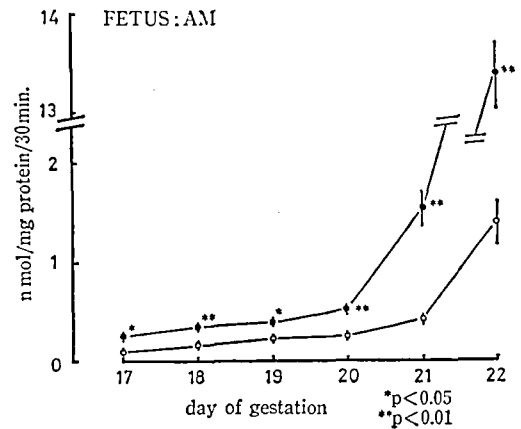


Fig. 6. AM-metabolizing activity in fetal livers of rats and the induction by PCB

The data are represented as the mean \pm S. E. \circ - \circ ; Control, \bullet - \bullet ; PCB treated. The asterisk indicates a statistically significant difference from control.

代謝物の高分解能 MS の測定結果から、 M^+ として $C_{12}H_{14}N_2O_3$ (found 234. 1011, calcd, 234. 1018) が与えられる。この値は NMR の結果から MS 測定中に脱水したものと考えられる。以上の結果から、代謝物は HB のシクロヘキセン環に水酸基が入ったものと考えられる。

酵素液として成熟雌ラットの肝 $1 \times 10^4 \times g$, 上清を用い、インキュベーション時間及び酵素量と代謝物生成量との直線性について検討した結果、インキュベーション時間は 30 分まで、酵素量は 0~0.2 ml におい

て直線性がみられた (Fig. 2)。

2. AM 及び BP radiometry

酵素液として成熟雌ラットの肝 $1 \times 10^4 \times g$, 上清を用い、インキュベーション時間及び酵素量と代謝物生成量との関係を検討した結果、AM (Fig. 3), BP (Fig. 4) いずれもインキュベーション時間は 30 分まで、酵素量は 0~0.1 ml において直線性がみられた。

3. Radiometry によるラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性の測定並びに PCB の誘導効果

HB-, AM- 及び BP-radiometry を用いてラット胎

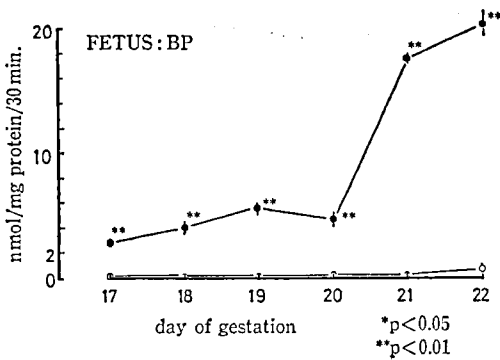


Fig. 7. BP-metabolizing activity in fetal livers of rats and the induction by PCB

The data are represented as the mean \pm S. E. ○—○; Control. ●—●; PCB treated. The asterisk indicates a statistically significant difference from control.

仔肝の薬物代謝酵素活性を測定した。その結果を Fig. 5~7. に示す。HB, AM 及び BP 代謝活性は低いながらも既に胎令17日目から測定することができ、出産に近づくにつれ徐々に活性は上昇した。一方、PCBを母体に投与した場合、その母体から得られた胎仔の肝薬物代謝酵素活性は対照群に比し有意に増加していた。すなわち、HB 及び AM 代謝活性は胎令21及び22日に対照群の胎仔の約4及び9倍にも達する強い誘導を受け、この22日の活性は対照群母体のそれに匹敵した。特に BP 代謝酵素活性は既に胎令17日目から対照群胎仔の約37倍にも達する強力な誘導を受け、更に胎令22日目には対照群胎仔の42倍、対照群母体の約7.5倍にも達した。

考 察

近年の研究の進歩に伴い、より高感度な薬物代謝活性測定法が必要とされてきた。今回より簡便な HB radiometry を開発し、AM 及び BP radiometry を加え、代表的な3基質による薬物代謝酵素活性の簡便かつ高感度の測定方法をまとめた。その応用として胎仔肝臓の薬物代謝活性を測定した。

胎仔の薬物代謝活性についてはいくつかの報告があり^{14,15)}、BP 水酸化活性は胎令17日目から認められている。BP に関する報告が多いのは BP の活性測定法が高感度であることも一因していると考えられる。それに反し、これまで HB あるいは AM 代謝活性を出生以前に測定した報告はほとんどない。これも一つにはこれらの測定感度が低いためであろう。例えば Guenther ら¹⁶⁾は AM N-demethylation はラット胎

仔肝には認められなかったと報告しているが、その時の測定限界は 50 nmol of HCHO/g liver/hr であった。我々は 2.94 nmol of AM/g liver/30 min まで確実に測定し得た。HB 代謝活性は従来 Cooper and Brodie らの方法¹³⁾を用いて測定してきたが、この方法では基質の減少に基づいて水酸化速度を測定するため、代謝活性が極めて低い場合には代謝による基質の減少量が添加基質量の誤差範囲を越えず、そのために代謝活性を測定できない場合があった。我々の HB radiometry では水層に残留する代謝物を直接測定するので、基質量が充分の場合には比活性を確実に測定することにより各反応液に加える基質量の誤差は活性測定の障害ではなくなる。それゆえ、胎仔肝の代謝酵素のように活性が極めて低いものでも測定することができる。

Radiometry の感度を上げるには基質の比活性の上昇、blank 値の低下と安定化などが考えられるので、後者について HB の抽出溶媒や抽出回数を検討した。抽出回数と水層の blank 値の変動を全放射活性に対する%で示すと、1, 2及び3回抽出ではそれぞれ 4.16 ± 0.14 (SE) %, 0.82 ± 0.03 (SE) % 及び 0.70 ± 0.00 (SE) % であり、抽出回数が多いほど水層の blank 値は低くかつ安定してくる。一方、抽出した有機層内の放射活性を反応液と blank で比較した場合、2回目の抽出有機層では 1:1, 3回目のそれでは 4.5:1 であり、3回抽出により代謝物の1部分が有機層に移行すると考えられる。以上により、抽出回数は2回とした。

なお HB radiometry については Kupfer らの報告¹⁶⁾があるが、彼らの方法ではクロロブタンで未反応の基質を2回抽出した後水層の代謝物を酢酸エチルに抽出し、酢酸エチル層を分取した後酢酸エチルを窒素気流中で留去し、そこにトルエンシンチレーターを加え放射活性を測定しており、代謝物の酢酸エチルへの移行率が測定に影響し、操作も煩雑である。また blank 値が加えた放射活性の 2.6% とかなり高いので、代謝活性の極めて低い試料を数多く測定するには不都合である。我々の方法は非常に簡便であり、blank 値は加えた放射活性の 0.82 ± 0.03 (SE) % とかなり低い。

さて、PCB は全世界に広く分布した環境汚染物質であり、PCB の生体に対する作用のうち最も鋭敏なものは肝薬物代謝酵素の誘導作用であるといわれている¹⁷⁾。今回の実験から、母体に PCB を投与した場合、その母体から得られた胎仔の肝薬物代謝酵素活性は著明に上昇することが明らかとなった。このように、高感度の測定方法の開発によって、薬物代謝活性の誘導効果は胎仔についても PCB の影響をみる良い指標となりうる。

文 献

- 1) R. Kato, A. Takanaka, M. Takayanaghi: *J. Biochem.*, **68**, 395 (1970)
- 2) R. Kato, A. Takanaka, A. Takahashi: *Gann*, **61**, 359 (1970)
- 3) R. Kato, K. Onoda, A. Takanaka: *Jap. J. Pharmac.*, **20**, 546 (1970)
- 4) N. E. Sladek, G. J. Mannering: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **24**, 668 (1966)
- 5) A. P. Alvares et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 521 (1967)
- 6) A. P. Alvares et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **30**, 588 (1968)
- 7) A. Y. Lu et al.: *J. Biol. Chem.*, **247**, 1727 (1972)
- 8) A. P. Alvares et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **70**, 1321 (1973)
- 9) D. E. Ryan et al.: *Mol. Pharmacol.*, **13**, 521 (1977)
- 10) A. P. Alvares, A. Kappas: *J. Biol. Chem.*, **252**, 6373 (1977)
- 11) A. P. Poland, D. W. Nebert: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **184**, 269 (1973)
- 12) S. Nesnow et al.: *Anal. Biochem.*, **80**, 258 (1977)
- 13) J. R. Cooper, B. B. Brodie: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **114**, 409 (1955)
- 14) F. Oesch: *FEBS Lett.*, **53**, 205 (1975)
- 15) T. M. Guenther, G. J. Mannering: *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 567 (1977)
- 16) D. Kupfer, J. Rosenfeld: *Drug Metab. Disp.*, **1**, 760 (1973)
- 17) Y. Araki, K. Tanaka: 福岡医誌, **65**, 47 (1974)

F-344 ラットにおける次亜塩素酸ナトリウムの癌原性試験実施にあたっての予備試験（急性毒性・亜慢性毒性）の成果について

古川文夫・倉田 靖・小久保 武・高橋道人・中館正弘

Oral Acute and Subchronic Toxicity Studies for Sodium Hypochlorite in F-344 Rat

Fumio FURUKAWA, Yasushi KURATA, Takeshi KOKUBO
Michihito TAKAHASHI and Masahiro NAKADATE

Sodium hypochlorite has been used commonly for bleaching or disinfectant purpose recently.

Sodium hypochlorite showed mutagenic activities. Carcinogenicity test should be needed for sodium hypochlorite. Preliminary experiments of acute and subchronic toxicity test was conducted before carcinogenicity testing.

Acute toxicity test of sodium hypochlorite is composed of 4%, 2%, 1% and 0.5% groups in drinking water for 14 days. All animals in experimental groups showed dehydrated tendencies. However, there were no focal lesions by macroscopic and histopathologic observation.

Subchronic toxicity test is composed of 0.4%, 0.2%, 0.1% and 0.05% of sodium hypochlorite in drinking water for 92 days. No remarkable pathologic changes were observed among these groups. Carcinogenicity testing has developed in progress based upon these preliminary experiments.

(Received May 31, 1980)

はじめに

次亜塩素酸ナトリウムは、昭和25年に食品添加物として指定されて以来殺菌消毒剤として用いられており、各種食品の製造加工において装置、器具の殺菌消毒に使用されている。また室内、家具、器具、プール水、浴場水、下水、し尿処理排水などの消毒にも用いられている。

更に伝染病予防法に基づく法定代用消毒剤にも指定されている。一方、この酸化作用を利用して、漂白剤として織物、パルプ、クリーニングなどにも使用されるほか、化学工業原料として用いられる。そのほか、脱臭、脱色、工業廃水処理などにも用いられるなど広範囲な用途がある。

次亜塩素酸ナトリウムの性状は、無色～淡緑黄色の液体で塩素の臭気を有し、通常の市販品は有効塩素量

として2~6%のものと10~18%のものがあり、有効塩素量4%以上を含むものが食品添加物として用いられ、後者は主に工業用に用いられる¹⁾。その急性毒性は、ネズミに経口投与でLD₅₀ 12 mg/kgであるとされる。人体には粘膜を刺激し、食道、胃穿孔、喉頭の浮腫、吸入による肺の浮腫、接触での皮膚炎が報告されている。

変異原性試験では、*S. typhimurium* TA-100において陽性、*S. typhimurium* TA-98においては陰性、Repair testにおけるRec-assayでは陰性、Uvr-assay陽性、chromosome testにおけるチャイニーズ・ハムスター(CHL)陽性、ラット(Poae-marrow cell)陰性、ヒト(aberration)陰性(SCE)陽性であり、Silkworm test陽性であったので癌原性が疑われた。

今回の報告は癌原性試験の実施に先立って予備試験としての第1次予備試験（急性毒性試験）、第2次予備試験（亜慢性毒性試験）を行い、種々の検索結果を得たので報告する。

実験材料及び方法

1) 検体

次亜塩素酸ナトリウムは鶴見曹達株式会社製の有効塩素濃度12%のものをを用いた。

第1次予備試験、第2次予備試験とも本品を用いた。

2) 使用動物

日本チャールスリバー社から購入したSPFのFischerラット(F-344)6週令を用い第1次予備試験において雄40匹、雌40匹、第2次予備試験では雄60匹、雌60匹を用いた。

1週間の馴化期間の後、7週令にて無作為抽出法によって第1次予備試験では雌雄各8群(各群5匹)、第2次予備試験では雌雄各6群(各群10匹)に分けた。

3) 飼育

飼料として日本チャールスリバー製のCRF-1を用い、両試験共期間中自由に摂取させた。

動物の飼育はバリアーシステム内にて行い、温度24±1°、湿度55±5%、換気回数18/hr(オートフレッシュ)の条件下で飼育し、12時間人工照明、12時間消灯としプラスチックケージに5匹を収容した。床敷(ホワイトフロック)の交換は週2回行った。

体重測定はいずれも実験開始時及び毎週、終了時に測定を行った。

4) 実験方法

第1次予備試験では飲料水は給水瓶を用い、次亜塩素酸ナトリウムをイオン交換水で希釈して用い、4.0%、2.0%、1.0%、0.5%、0.25%、0.125%、0.065及び

0% (対照群)とした。

各実験濃度はpH 8前後の弱アルカリ性であった。

第2次予備試験では、第1次予備試験の結果に基づき同様にイオン交換水で希釈し、0.4%、0.2%、0.1%、0.05%、0.025%及び0% (対照群)とした。また、第1次予備試験、第2次予備試験共に各実験濃度群はpH 8前後の弱アルカリ性であった。給水瓶の金属先管は次亜塩素酸ナトリウムにより酸化するためガラス先管を用いた。投与期間は、第1次予備試験では14日間、第2次予備試験では92日間であり、投与期間中は摂水量の計測を行った。

5) 病理組織学的検索

第1次予備試験では14日後にエーテル麻酔下で屠殺し、全臓器の変化を肉眼的に観察した。

第2次予備試験は92日後に18時間の絶食後エーテル麻酔下で屠殺、全臓器の変化を肉眼的に観察してから、脳、下垂体、唾液腺、心臓、胸腺、肺臓、腎臓、副腎、肝臓、脾臓、睪丸及び卵巣については重量測定をも行い、胃、腸、膵臓、膀胱、骨髄、皮膚、乳腺、リンパ節、副鼻腔、気管支、食道、甲状腺、副甲状腺、舌、精のう、前立腺、子宮、陰などとともに10%中性ホルマリン液で固定し、各臓器から切出しを行い、脱水、透徹、パラフィン包埋後薄切片を作製し、Hematoxylin-Eosin (H, E) 染色を施し、病理組織学的に検索を行った。

6) 生化学的検索

エーテル麻酔下で採血に先立ち、ヘパリン(武田薬工、5000 unit/アンブル)を100 mlのハンクス液内に無菌的に混入し、0.5 ml/100 g体重の割合で静注し、開腹後腹部大動脈(総腸骨動脈分岐部)から採血し、スピッツ管に移し、3000 rpm 10分間遠心分離を行い、冷凍保存の後GOT、GPT、LDH、ALP、TTT、総ビリルビン(TB)、総コレステロール(TC)、中性脂肪(TG)、β-リポタンパク(B-RP)、総タンパク(TP)、A/G、コリンエステラーゼ(ChE)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CR)、尿酸(UA)、電解質としてNa、K、Clについて計測した。

これらの生化学的検査はすべて味の素分析センターに依頼して実施したものである。

結 果

第1次予備試験の体重の変化は、Fig. 1, Fig. 2に示した如くで、雌雄共0.065%群では、増加傾向にあるが、上昇曲線が対照群に比し緩やかで軽度の抑制がみられ、雌雄0.125%群では、投与開始初期で減少が見られたものの、実験終了時には回復の兆しがみられ、

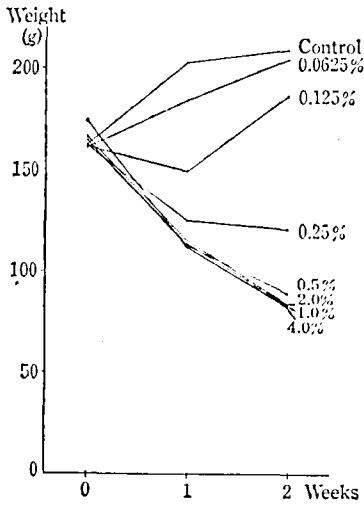


Fig. 1. Growth curves of rats on NaClO (Acute)
(Male rat)

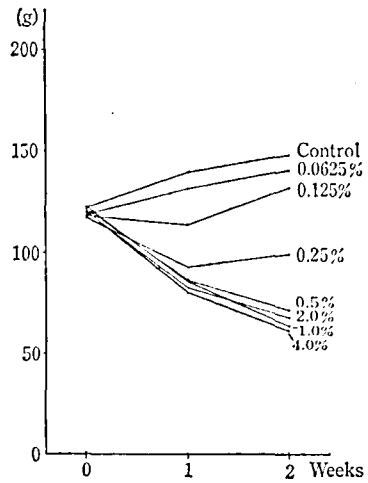


Fig. 2. Growth curves of rats on NaClO (Acute)
(Female rat)

Table 1. Intake of Water and NaClO (Acute)

	Concentration of NaClO	Drinking Water		NaClO	
		Total (ml)	Daily Average (ml)	Total (ml)	Daily Average (ml)
Male	4.0 %	11.4	0.8	0.45	0.032
	2.0 %	9.8	0.7	0.19	0.013
	1.0 %	18.2	1.3	0.18	0.012
	0.5 %	29.2	2.0	0.14	0.010
	0.25 %	54.5	3.8	0.13	0.009
	0.125 %	157.4	11.2	0.19	0.013
	0.0625 %	202.8	14.4	0.12	0.008
	control	265.8	18.9		
Female	4.0 %	7.2	0.5	0.28	0.020
	2.0 %	11.2	0.8	0.22	0.015
	1.0 %	6.0	0.4	0.06	0.004
	0.5 %	21.0	1.5	0.10	0.007
	0.25 %	65.4	4.6	0.16	0.011
	0.125 %	110.4	7.8	0.13	0.009
	0.0625 %	161.8	11.5	0.10	0.007
	control	215.6	15.4		

雌では回復の傾向が著しい。

0.25%群では雄が横ばいの増加に対して雌では回復の兆しがみられる。雌雄高濃度群, 4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5% においては直線的な減少がみられ, 屠殺時には実験開始時の約 1/2 に体重が減少した。また雌雄 4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5% 群には強度の脱水症がみられた。

摂水量を対照群と比較すると (Table 1 参照), 雄

対照群が 18.9 ml/day に対し 4.0% 群では 0.8 ml/day, 2.0% 群では 0.7 ml/day, 1.0% 群では 1.3 ml/day, 0.5% 群では 2.0 ml/day といずれも著しい摂水量の減少がみられる。また雌においても対照群が 15.4 ml/day に対し, 4.0% 群では 0.5 ml/day, 2.0% 群では 0.8 ml/day, 1.0% 群では 0.4 ml/day, 0.5% 群では 1.5 ml/day の如く同様に減少がみられた。

実験終了時の肉眼的解剖所見では対照群雌雄いずれ

Table 2. Intake of Water and NaClO (Subchronic)

	Concentration of NaClO	Drinking Water		NaClO	
		Total (ml)	Daily Average (ml)	Total (ml)	Daily Average (ml)
Male	0.4 %	526.3	5.7	2.10	0.022
	0.2 %	900.0	9.8	1.80	0.019
	0.1 %	1103.7	12.0	1.10	0.011
	0.05 %	1290.8	14.0	0.64	0.006
	0.025 %	1415.3	15.4	0.35	0.003
	control	1554.4	16.9		
Female	0.4 %	770.7	8.4	3.08	0.034
	0.2 %	1378.0	15.0	2.75	0.029
	0.1 %	1641.0	17.8	1.64	0.017
	0.05 %	1889.0	20.5	0.94	0.010
	0.025 %	2114.0	23.0	0.52	0.005
	control	2212.1	24.0		

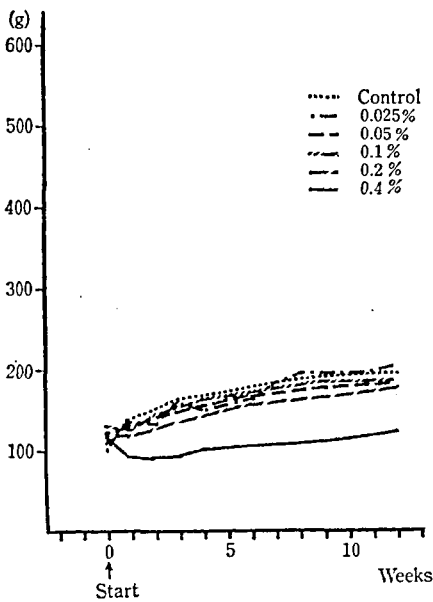


Fig. 3. Growth curves of rats on NaClO (Subchronic) (Male rat)

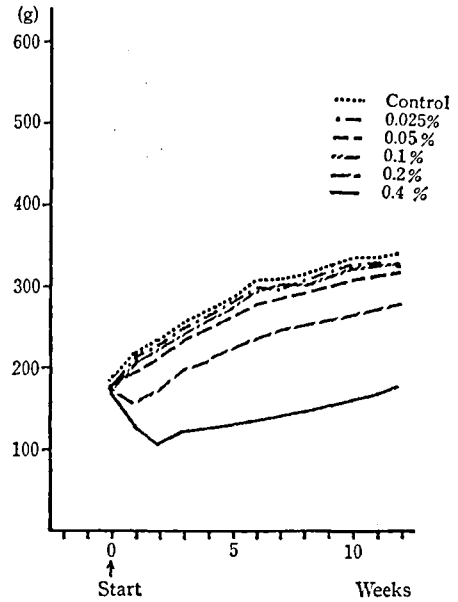


Fig. 4. Growth curves of rats on NaClO (Subchronic) (Female rat)

も著変は認められなかったが、実験群には雄において、4.0%群では腸萎縮1例、2.0%群では肺出血2例、1.0%群では胃腸出血1例、0.5%群では腸萎縮3例、0.25%群では腸萎縮3例、0.125%群では胸腺出血1例、膀胱内異物3例、肺出血1例、0.0625%群では膀胱内異物3例がみられた。

雌においては4.0%群では、臓器全体が萎縮したものが1例、2.0%群では肺うっ血2例、1.0%群では肺出血2例、腸出血1例、0.5%群では腸萎縮3例、肺

出血1例、肺うっ血1例、0.25%群、0.125%群は特に変化を認めなかった。また0.065%群では腸内出血1例がみられた。

第2次予備試験の摂水量はTable 2に体重の変化はFig. 3, 4に示した。雌雄共、0.4%群で体重の減少が実験開始時から2週間みられたが、第3週目から緩やかな回復傾向がみられ、対照群と同じ勾配で増加している。雄の体重は対照群 346.8 ± 17.9 g であるの compared, 0.4%群では 185.4 ± 24.4 g であった。

Table 3. Body weight and organ weight for male rat (Subchronic)

	0.4%	0.2%	0.1%	0.05%	0.025%	Control
Body Weight	185.4±24.4	281.0±16.9	320.9±10.9	336.0±13.7	335.9±13.1	346.8±17.9
Salivary (R)	0.22±0.07	0.23±0.03	0.22±0.01	0.27±0.04	0.25±0.12	0.26±0.07
(L)	0.21±0.03	0.20±0.03	0.02±0.016	0.24±0.02	0.26±0.13	0.26±0.06
Thymus	0.07±0.02*	0.20±0.02	0.20±0.05	0.24±0.07	0.26±0.24	0.23±0.07
Lung (R)	0.52±0.06	0.64±0.14	0.64±0.05	0.70±0.51	0.66±0.09	0.72±0.11
(L)	0.24±0.01*	0.30±0.05	0.32±0.03	0.35±0.07	0.34±0.02	0.35±0.06
Heart	0.59±0.06	0.79±0.08	0.90±0.07	0.92±0.06	0.90±0.03	0.92±0.04
Liver	4.67±0.17*	7.07±1.41	7.29±0.23	7.88±0.82	7.72±0.37	8.71±1.58
Spleen	0.33±0.06*	0.50±0.04	0.56±0.03	0.54±0.03	0.57±0.05	0.62±0.14
Kidney (R)	0.74±0.09	0.94±0.12	0.96±0.60	1.05±0.13	0.99±0.07	1.03±0.90
(L)	0.75±0.07	0.94±0.18	0.99±0.04	1.07±0.12	1.00±0.07	1.04±0.08
Adrenal (R)	0.01±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
(L)	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Testes (R)	1.17±0.07	1.26±0.05	1.37±0.05	1.31±0.16	1.33±0.08	1.40±0.07
(L)	1.25±0.07	1.35±0.04	1.41±0.05	1.35±0.91	1.39±0.06	1.39±0.16
Brain	1.81±0.07	1.88±0.06	2.00±0.07	1.97±0.07	1.98±0.04	1.97±0.01
Pituitary	0.008±0.001	0.007±0.002	0.007±0.002	0.014±0.007	0.009±0.004	0.007±0.003

Mean±S. D.

* Significant at 5% level.

Table 4. Body weight and organ weight for female rat (Subchronic)

	0.4%	0.2%	0.1%	0.05%	0.025%	Control
Body weight	127.0±14.9*	176.6±7.166	180.2±4.79	186.0±6.10	179.8±10.93	183.4±7.28
Salivary (R)	0.13±0.03*	0.15±0.01	0.16±0.03	0.16±0.01	0.15±0.01	0.17±0.01
(L)	0.11±0.01*	0.14±0.01	0.15±0.03	0.15±0.03	0.15±0.01	0.16±0.01
Thymus	0.10±0.01*	0.15±0.02	0.16±0.03	0.17±0.03	0.18±0.02	0.16±0.03
Lung (R)	0.40±0.02*	0.47±0.06	0.46±0.04	0.49±0.04	0.50±0.03	0.51±0.05
(L)	0.20±0.02*	0.23±0.02	0.26±0.07	0.25±0.02	0.25±0.01	0.25±0.04
Heart	0.40±0.11*	0.56±0.04	0.56±0.03	0.59±0.04	0.58±0.04	0.58±0.03
Liver	3.03±0.54	3.88±0.48	3.88±0.21	3.86±0.20	4.10±0.64	4.41±0.72
Spleen	0.27±0.03	0.39±0.10	0.38±0.10	0.38±0.08	0.35±0.02	0.35±0.03
Kidney (R)	0.51±0.08	0.60±0.04	0.58±0.03	0.54±0.02	0.55±0.04	0.56±0.05
(L)	0.53±0.04	0.62±0.03	0.61±0.05	0.55±0.04	0.54±0.03	0.57±0.06
Adrenal (R)	0.07±0.16	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.04	0.02±0.01
(L)	0.01±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Gonad (R)	0.03±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.02	0.04±0.01	0.05±0.02
(L)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.06±0.04
Brain	1.70±0.08*	1.78±0.07	1.80±0.09	1.80±0.10	1.85±0.04	1.81±0.01
Pituitary	0.009±0.005	0.011±0.004	0.011±0.004	0.011±0.004	0.012±0.003	0.011±0.004

Mean±S. D.

* Significant at 5% level.

雄0.2%群では、実験開始時から体重の減少が続いたが、第2週目からは回復、増加傾向を示すが、対照群に比べ緩やかな回復傾向を示している。また雄0.1%、0.05%、0.025%群では対照群に比べれば増加傾

向が低かったが、その差は微少であり、一応順調な増加を示し、0.025%群は第8週からむしろ対照群を越している。

また雌の体重では対照群183.4±7.28gに対し0.4

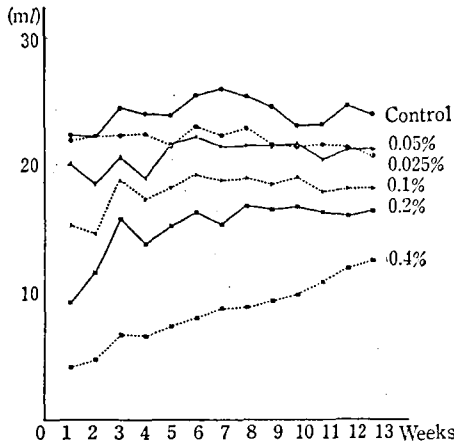


Fig. 5. Daily intake of water containing NaClO in various concentration (Subchronic) (Male rat)

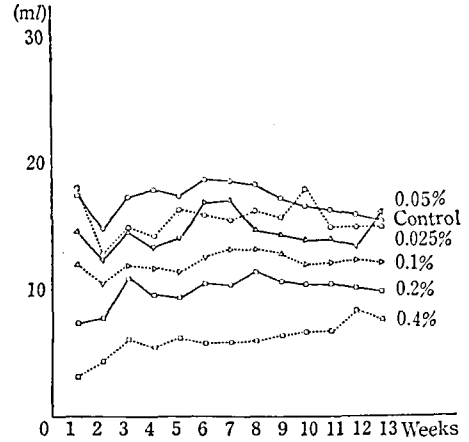


Fig. 6. Daily intake of water containing NaClO in various concentration (Subchronic) (Female rat)

Table 5. Serum biochemical data for male rat (Subchronic)

	0.4%	0.2%	0.1%	0.05%	0.025%	Control
GOT (KU)	102±58	59±13	58±8	62±8	61±8	67±17
GPT (KU)	50±30	30±11	32±9	28±7	31±9	42±13
LDH (WU)	366±150	234±91	178±31	203±60	229±71	210±87
ALP (KAU)	11±2	10±2	9±1	9±1	8±1	9±2
TTT (SHU)	0.2±0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.2
TB (mg/dl)	0.4±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
TC (mg/dl)	48±4	52±7	47±1	49±5	48±4	50±5
TG (mg/dl)	52±10	71±16	73±13	76±12	65±9	81±21
B-RP (mg/dl)	27±9	20±8	21±3	16±6	15±4	23±19
TP (mg/dl)	5.7±0.1	5.8±0.3	5.7±0.2	5.9±0.2	5.7±0.2	5.6±0.1
A/G	1.8±0.1	1.7±0.1	1.8±0.1	1.8±0.1	1.9±0.1	1.7±0.1
BUN (mg/dl)	27±4*	23±1	19±1	19±1	18±1	18±1
CR (mg/dl)	0.7±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.8±1.1	0.4±0.1	0.4±0.1
UA (mg/dl)	1.0±0.5	0.6±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.2
Na (mEq/l)	144±1	143±1	143±1	144±1	144±1	142±4
K (mEq/l)	3.4±0.3	3.4±0.3	3.2±0.1	3.1±0.1	3.3±0.1	3.4±0.2
Cl (mEq/l)	106±1	103±2	102±1	102±1	104±2	102±4
ChE (ΔPH)	0.09±0.01	0.09±0.02	0.09±0.01	0.10±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01

Mean±S. D.

* Significant at 5% level.

%群は127.0±14.9gであり有意差をもって減少がみられた。

臓器重量では、雄での胸腺が対照群0.23±0.07gに対し0.4%群では0.07±0.02gであり、左肺では対照群0.35±0.06gに対し0.4%群では0.24±0.01gと減少していた。また0.4%群の肝臓も対照群8.71±1.58gに対し4.67±0.17gと減少し、脾臓におい

ても対照群0.62±0.14gに対し0.33±0.06gと減少し、いずれも有意差が認められた。その他の臓器重量においては有意差は見られなかった(Table 3 参照)。

雌0.4%群の次の臓器において減少がみられた。すなわち唾液腺右0.13±0.03g、左0.11±0.01g(対照群右0.17±0.01、左0.16±0.01)、胸腺0.10±0.01(対照群0.16±0.03)、肺臓右0.40±0.02g、左0.20

Table 6. Serum biochemical data for female rat (Subchronic)

	0.4%	0.2%	0.1%	0.05%	0.025%	Control
GOT (KU)	73±10*	51±4	49±6	52±9	46±11	52±4
GPT (KU)	56±51	30±3	23±4	24±6	26±4	22±6
LDH (WU)	146±59	158±49	158±39	177±44	209±70	223±43
ALP (KAU)	15±11	5±1	4±1	4±1	4±1	6±2
TTT (SHU)	0.2±0.0	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1
TB (mg/dl)	0.3±0.2	0.2±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
TC (mg/dl)	47±0	60±3	63±4	65±3	63±4	77±20
TG (mg/dl)	51±1*	52±3	56±7	61±9	68±11	85±8
B-RP (mg/dl)	14±4	13±4	12±4	17±6	21±7	36±7
TP (mg/dl)	4.8±0.2	5.3±0.2	5.4±0.1	5.3±0.3	5.4±0.2	5.5±0.4
A/G	2.6±0.3	2.3±0.2	2.1±0.1	2.2±0.1	2.3±0.1	2.2±0.3
BUN (mg/dl)	29±0	19±1	17±1	19±1	18±2	19±2
CR (mg/dl)	0.2±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
UA (mg/dl)	0.9±0.1	0.5±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1	1.1±0.9	0.8±0.3
Na (mg/dl)	145±1	143±1	144±1	144±1	144±1	144±1
K (mEq/dl)	3.7±0.1	3.2±0.2	3.0±0.1	2.9±0.1	3.1±0.1	3.3±0.4
Cl (mEq/dl)	108±1	104±2	105±3	104±1	104±2	105±2
ChE (ΔPH)	0.45±0.12	0.84±0.07	0.82±0.07	0.83±0.04	0.82±0.08	0.89±0.08

Mean±S. D.

* Significant at 5% level.

±0.02 g (対照群右 0.51±0.05 g, 左 0.25±0.04 g), 心臓 0.40±0.11 g (対照群 0.58±0.03 g), 脳 1.70±0.08 g (対照群 1.81±0.01 g) であった。いずれも有意差を認めた。その他の臓器重量においては有意差は認められなかった (Table 4)。

摂水量は、Fig. 5 に示すように雄では実験群において実験開始時より徐々に増量し、対照群では、大体平均した摂水量を示した。

雌は Fig. 6 に示したように 0.4% 群において雄 0.4% 群よりも鈍い緩やかな直線を描き増加した。その他の群では平均した摂水量であった。

肉眼的解剖所見では、雄 0.4% 群に胸腺出血 1 例、0.2% 群では膀胱内異物 2 例、0.1% 群は膀胱内異物 3 例、0.5% 群では膀胱内異物 1 例、0.25% 群では膀胱内異物 2 例、0.125% 群では膀胱内異物 1 例、対照群では膀胱内異物 1 例がみとめられたほかには特記すべき変化を認めず、また雌においてはすべての群に特に変化は認められなかった。

病理組織学的検索では、特に変化は認められなかったが、雌雄 0.4% 群共に心臓において心内膜の肥厚及び心筋の線維化がみられ、また、脾臓において focal atropy が観察されたが、対照群においても同様の所見が観察されこの群特有の変化ではなかった。

生化学的検査は、Table 5 (雄)、Table 6 (雌) に示

した如くであり、雄では BUN 値において 0.4% 群が 27±4 (mg/dl) と対照群 18±1 (mg/dl) に対し有意差を示した。他の生化学的検査では有意差は認められなかった。

雌では GOT において 0.4% 群が 73±10 (KU) に対して対照群は 52±4 (KU) であり、TG では 0.4% 群が 51±1 (mg/dl) に対して対照群 85±8 (mg/dl) で GOT, TG に有意差がみられた。

その他の検査成績においては有意差はみられなかった。

考 察

次亜塩素酸ナトリウムの水溶液は弱酸性で特有の塩素臭がある。通常栄養型細菌を迅速細菌するが、芽胞には抵抗性がみられる。最近においては HB 抗原に対しても 500 ppm 以上で有効と報告されている。

Druckrey らは SD ラットで 100 mg/ml を life-span 経口投与し、7 世代生長、血液像、肝、脾、腎その他の臓器に毒性の影響はみられなかったとし、腫瘍の発生も対照群に比べ有意差はなかったと報告している²⁾。

また Hayashi らは ddN mice 雌を使用し 4-NQO を背中に 20 回塗布し次亜塩素酸ナトリウムを 45 回塗布した実験を実施し、塗布部位に fibrosarcoma 1 例、

squamous cell carcinoma 3例, Papilloma 5例がみられ, その他 Lymphatic leukemia 1例がみられたとし, 対照群の 4-NQO を20回塗布した群及び次亜塩素酸ナトリウムを60回塗布した群には良性, 悪性腫瘍の発生がみられなかった³⁾. このことから次亜塩素酸ナトリウムにプロモーター作用があることを報告している.

人体に対する影響として次亜塩素酸ナトリウムを常用する洗濯婦に皮膚炎がみられ, また感作性を有するということが Patty らが報告している⁴⁾. また次亜塩素酸ナトリウムを含有する Javel 液を摂取すると2~3日後咽頭及び食道に不快感を起こすという Looket 等の報告もある⁵⁾.

我々の実験では第1次予備試験において雌雄 4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5% 群では, 次亜塩素酸ナトリウムが高濃度のため摂水量が抑制された. したがって次亜塩素酸ナトリウムの摂水量も極めて少なかった. 以上の所見より雌雄 4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5% 群は実験中ほとんど摂水していないと見なされる. 剖検時に見られた諸所見はいずれも脱水症の所見と考えることができる.

この第1次予備試験の結果から 0.4% を第2次予備試験の最大投与量とし, 第2次予備試験の濃度を 0.4

%, 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.025% とした.

第2次予備試験では, 雌雄共に総次亜塩素酸ナトリウム摂取量は実験群濃度と逆相関を示し, 高濃度群は摂水量が少なかった. また体重増加との相関性もみられた.

生化学的検索結果では, 雌雄 0.4%, 0.2% 群に軽度の肝障害を思わせる所見がみられたが, 病理組織学的には特記すべき変化を認めなかった.

また肉眼的所見でみられた膀胱内結石による膀胱への影響は, 組織学的にほとんど認めなかった.

この第2次予備試験の結果に基づき, 現在, 癌原性試験を雄 0.1%, 0.05%, 及び雌 0.2%, 0.1% 及び対照群で実施中である.

文 献

- 1) 食品添加物公定書解説書, 第三版, p. 394 (1973) 広川書店
- ✓ 2) H. Druckrey: *Food Cosmet. Toxicol.*, 6, 147 (1968)
- ✓ 3) Hayatsu, *etal.*: *Nature*, 233, 5320.
- 4) F. A. Patty: *Industrial Hygiene and Toxicology*, 2nd Ed. (1962)
- 5) S. Looket: *Clinical Toxicology*, (1956)

チラム (Tetramethylthiuram Disulfide) の癌原性試験実施にあたっての予備試験 (亜慢性毒性) の成果について

倉田 靖・古川文夫・小久保 武・高橋道人・中館正弘

Oral Subchronic Toxicity Test for Tetramethylthiuram Disulfide (THIRAM) in F344/DuCrj Rat

Yasushi KURATA, Fumio FURUKAWA, Takeshi KOKUBO,
Michihito TAKAHASHI, and Masahiro NAKADATE

Subchronic toxicity of Thiram was investigated with toxicologic methods including biochemical and histologic studies. Ten male and 10 female rats were fed commercial diet containing 0.015%, 0.03% or 0.06%, respectively of Thiram for 13 weeks and 9 male and 9 female rats were fed commercial diet alone as a control. Intake of feed and body weight gains did not reduce clearly between experimental groups and a control. Female rats in highest dose group showed higher level of GOT, GPT, LDH and lower level of Ch-E. Histologically slight cholangiolitis in the liver was observed in 5 female rats, but this could not find in the other groups. Although male rats in highest dose group were observed increase of GOT activity, any histological changes in the liver could not be found. This experiment indicated that maximum tolerated dose of Thiram would be more than 0.06% Thiram in commercial diet. Carcinogenicity test of Thiram at 0.05% and 0.1% dose level in rats is in progress in our laboratory.

(Received May 31, 1980)

はじめに

チラムは tetramethylthiuram disulfide の略称であるが、多くの化学名、商品名、呼び名があり、それらは化学式とともに、Table 1 に示した如くである。チラムは1937年 Guy により殺虫性が見出され、更に1942年 Tisdale と Flenner により殺菌性のあることが示された。また本剤は、古くからゴムの加硫促進剤として知られている。わが国では、殺菌剤として種子の塗抹消毒、あるいは茎葉、土壤に散布して用いられている¹⁾。

外観は無色針状結晶で、ベンゼン、アセトン、四塩化炭素、クロロホルムなどに可溶、水にはほとんど不溶、酸により分解を受けて dimethylamine を生成するが、比較的安定した物質である。

変異原性試験では、*S. typhimurium* TA-100 において陽性、*S. typhimurium* TA-98 においては陰性、Repair test における Rec-assay では陽性、Chromomom test におけるチャイニーズ・ハムスターでは陰性、ラットでは陽性である。

ヒトに対する影響は種々の報告がみられ、チラムの0.5~1.5g を数週間にわたって投与したが、なんらの影響も生じなかったと Domingo らは報告している²⁾。また、粘膜や皮膚に対して刺激性があり、特に皮膚に対して感作作用がある。脂肪、オイル、油性溶媒によって毒性が増強され、3年以上チラム製造に携わった労働者(42人が男性、181人が女性)を数年にわたって観察した報告によると、眼に対する刺激、咳、気管支痛、心悸亢進、鼻出血、皮膚病変、心筋異常、肝機能低下、無力感など様々な臨床的症狀があった

が、これら労働者のうち193人はチラムと直接接してはいなかったとされている。チラムに接触した人々の間に共通してみられる症状は、上述のような症状のほかに、甲状腺の腫脹があったという報告を Cherpak らがしている³⁾。また、Kaskevich 及び Bezugly は105人の労働者を調査し、甲状腺の腺癌が1例、甲状腺の異常を7例報告している⁴⁾。以上のように、チラムに暴露された人々がなんらかの障害を受ける危険性が示唆され、我々はチラムの安全性評価、特に癌原性の有無を検索するに当たり、第2次予備試験(亜慢性毒性)を実施し、その成果を得たので報告する。

実験材料及び方法

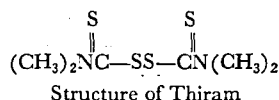
動物は、日本チャールスリバー株式会社から Fischer 系ラットを雄、雌それぞれ39匹(6週齢)購入し、1週間飼育した後、10匹を1群とする3実験群と9匹からなる対照群に任意に分けた。

投与飼料は、日本チャールスリバー社製の一般飼料(CRF-1)にチラムを、1群には0.015%、2群には0.03%、3群には0.06%の割合で混入し固型飼料として投与した。4群は対照群として一般固形飼料(CRF-1)だけを与え、全群実験終了時まで、すなわち13週間継続投与した。飼料は冷蔵庫内に保管し、各群の動物の摂取量を週に2回測定した。飲料水は水道水を自由に摂取させた。

動物の飼育は室温24°前後に保たれた空調室で行い、エコンケージで飼育し、床敷は熱処理消毒(127°、約30分)を行った堅材(White wood)の物をを用い、毎週2回交換を行った。

Table 1. Synonyms and trade names of Thiram

Bis [(dimethylamino) carbonothioyl] disulphide; bis (N, N-dimethylthiocarbamoyl) disulphide; 1, 1'-dithiobis (N, N-dimethylthioformamide); α , α' -dithiobis (dimethylthio) formamide; α , α' -dithiobis (dimethylthio) formamide; N, N'(dithiodicarbonothioyl) bis (N-methylmethanamine); methyl thiram; methyl thiuramdisulphide; tetramethyldiurane: tetramethylenethiuram disulphide; tetramethylthiocarbamoyldisulphide; tetramethyl thiurane disulphide; TMTD; TMTDS; Acceletator Thiuram; Aceto TMTD; Arasan; Cyuram; Ekagom TB; Fernasan; Fernide; Hermal; Heryl; Kregasan; Mercuram; Methyl Tuads; Nobecutan; Nomersan; Panoram 75; Polyram Ultra; Pomarsol; Pomasol; Puralin; Rezifilm; Royal TMTD; Sadoplon; Spotrete; Tersan; Tetrasipton; Thillate; Thiosan; Thiotox; Thirasan; Thiulin; Thiurad; Thiuramyl; Thiuram; Tiuramyl; Tridipam; Tripomal; Tuads; Tuex; Tulisan; Vulcafor TMTD; Vulkacit MTIS



体重は毎週1回、午前10時に測定を行った。

病理学的検索

実験期間は13週間で、実験終了前に死亡あるいは著しく衰弱した動物は屠殺し、すべて剖検を施行した。実験終了まで生存した動物の屠殺は、18時間の絶食後エーテル麻酔のもとに実施し、全臓器の変化を観察し、脳、下垂体、胸腺、唾液腺、肺、肝、腎、副腎、脾、及び精巣あるいは卵巣については重量測定も行い、胃、腸、脾、甲状腺、骨髄などとともに、10%中性ホルマリンで固定し、各臓器の切り出しの後、脱水、透徹、パラフィン包埋後、薄切片を作製し、hematoxin-eosin (H. E) 染色を行い病理組織学的に検索を行った。

血清生化学的検査

検査項目として GOT, GPT, LDH, ALP, TTT, 総ビリルビン (TB), コリンエステラーゼ (Ch-E), 総コレステロール (T-Ch), トリグリセリド (TG), β -リポ蛋白 (β -L), 総蛋白 (TP), A/G 比, 尿素窒素 (BUN), クレアチン (CR), 尿酸 (UA), ナトリウム (Na), クロール (Cl) を全動物について実施し、分析は味の素(株)分析センターに依頼した。

なお臓器重量、血清生化学的検査データについては、Canon BX-1 型機を用いて分析を行った。

実験成績

飼料摂取量

飼料摂取量については Table 2 に示した。投与群は対照群と比較して、飼料摂取量に有意な差は認められなかった。

体重変化

テラム投与による体重の推移については Fig. 1 に示した如くである。テラム投与群と対照群では、著しい体重の差は認められず、高濃度群 (0.06%) で、雌

雄ともに体重の増加の抑制がややみられる程度であった。一方、雄の 0.015% 群では、体重の増加傾向がわずかながら認められた。

臓器重量

雄のラットにおける臓器重量は Table 3 に示し、体重に対する臓器重量比を Table 5 に示した。雌の臓器重量は Table 4 に、体重に対する臓器重量比は Table 6 に示した。雄のラットでは、0.06% 群の唾液腺の重量が減少し、0.015% 群と 0.03% 群の肝の重量は増加を示している。このことは体重臓器重量比でも示され、対照群より値が大となっており、体重内に占

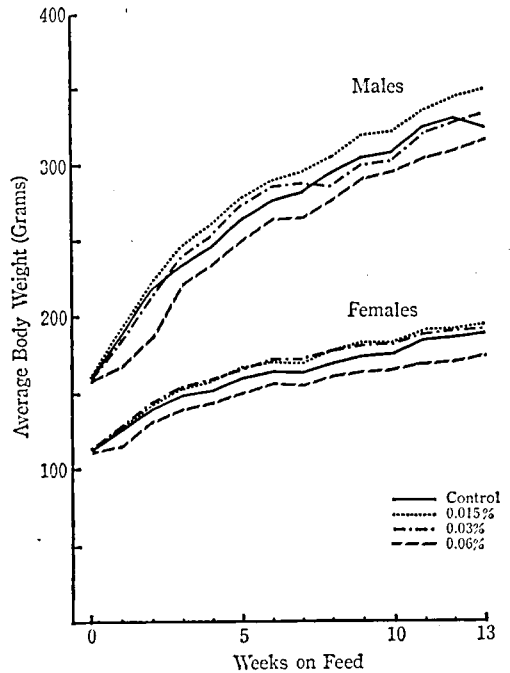


Fig. 1. Body weights of rats fed thiram

Table 2. Total intake and Average daily intake of feed or Thiram on rat

Group	Sex	Feed		Thiram	
		Total Intake (g)	Average Daily Intake (g/rat/day)	Total Intake (g)	Average Daily Intake (mg/rat/day)
Control	Male	12499	15.27	—	—
	Female	9975	12.18	—	—
0.015%	Male	12875	14.14	1.931	2.12
	Female	8780	9.65	1.317	1.44
0.03%	Male	12024	13.21	3.607	3.93
	Female	9199	10.11	2.759	3.03
0.06%	Male	12160	13.36	7.296	8.01
	Female	6904	7.65	4.178	4.59

Table 3. Average Organ Weights for Male Rats

Organ	Side	Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
Body weight		333.9 ± 16.0	352.5 ± 25.4	331.7 ± 26.0	323.6 ± 19.4
Salivary gland		0.473 ± 0.079	0.474 ± 0.081	0.533 ± 0.361	0.397 ± 0.042*
Thymus		0.197 ± 0.025	0.195 ± 0.056	0.204 ± 0.063	0.194 ± 0.049
Heart		0.832 ± 0.055	0.892 ± 0.107	0.381 ± 0.066	0.799 ± 0.151
Liver		9.616 ± 0.501	10.656 ± 1.196*	10.659 ± 1.238*	10.314 ± 1.022
Spleen		0.592 ± 0.043	0.603 ± 0.074	0.581 ± 0.072	0.640 ± 0.042
Brain		1.906 ± 0.070	1.875 ± 0.212	1.864 ± 0.061	1.890 ± 0.050
Pituitary		0.006 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.001
Lung	Right	0.763 ± 0.276	0.771 ± 0.076	0.812 ± 0.132	0.777 ± 0.125
	Left	0.431 ± 0.093	0.417 ± 0.066	0.466 ± 0.134	0.411 ± 0.079
Kidney	Right	0.918 ± 0.066	0.992 ± 0.101	0.954 ± 0.072	0.481 ± 0.055
	Left	0.958 ± 0.084	0.989 ± 0.105	1.000 ± 0.201	0.844 ± 0.076
Adrenal	Right	0.018 ± 0.007	0.017 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.017 ± 0.006
	Left	0.020 ± 0.005	0.017 ± 0.002	0.018 ± 0.002	0.019 ± 0.005
Testis	Right	1.318 ± 0.059	0.342 ± 0.135	1.318 ± 0.065	1.337 ± 0.041
	Left	1.397 ± 0.088	0.403 ± 0.142	1.383 ± 0.057	1.376 ± 0.060

(Mean ± SD)

* Significant at 5% level.

Table 4. Average Organ Weights for Female Rats

Organ	Side	Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
Body weight		190.5 ± 9.5	196.1 ± 6.1	191.9 ± 7.7	176.9 ± 7.7
Salivary gland		0.399 ± 0.025	0.329 ± 0.023	0.300 ± 0.026	0.314 ± 0.029
Thymus		0.172 ± 0.023	0.160 ± 0.023	0.170 ± 0.018	0.162 ± 0.038
Heart		0.561 ± 0.033	0.558 ± 0.040	0.521 ± 0.039	0.531 ± 0.026
Liver		5.504 ± 0.437	6.266 ± 0.616	5.817 ± 0.355	5.451 ± 0.212
Spleen		0.396 ± 0.021	0.394 ± 0.029	0.388 ± 0.030	0.451 ± 0.060
Brain		1.799 ± 0.049	1.776 ± 0.049	1.732 ± 0.047	1.714 ± 0.060
Pituitary		0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001
Lung	Right	0.535 ± 0.060	0.589 ± 0.142	0.473 ± 0.029*	0.488 ± 0.045
	Left	0.308 ± 0.055	0.317 ± 0.078	0.246 ± 0.012*	0.253 ± 0.034
Kidney	Right	0.554 ± 0.024	0.606 ± 0.064*	0.547 ± 0.033	0.485 ± 0.061*
	Left	0.570 ± 0.022	0.603 ± 0.041*	0.564 ± 0.016	0.507 ± 0.049*
Adrenal	Right	0.021 ± 0.002	0.020 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.018 ± 0.002
	Left	0.024 ± 0.004	0.022 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.021 ± 0.004
Ovary	Right	0.037 ± 0.011	0.034 ± 0.007	0.030 ± 0.010	0.090 ± 0.165
	Left	0.035 ± 0.007	0.036 ± 0.007	0.034 ± 0.012	0.089 ± 0.165

(Mean ± SD)

* Significant at 5% level.

Table 5. Organ weight as a Percent of Body weight in Male Rats

Organ	Side	Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
Salivary gland		0.141±0.025	0.134±0.020	0.164±0.126	0.123±0.015
Thymus		0.058±0.006	0.054±0.013	0.061±0.018	0.060±0.015
Heart		0.246±0.017	0.252±0.017	0.248±0.013	0.247±0.046
Liver		2.881±0.081	3.015±0.140	3.243±0.296	3.181±0.157
Spleen		0.177±0.012	0.170±0.011	0.175±0.019	0.198±0.008
Brain		0.572±0.042	0.533±0.058	0.564±0.035	0.585±0.023
Pituitary		0.002±0.000	0.002±0.000	0.002±0.000	0.002±0.000
Lung	Right	0.226±0.082	0.218±0.013	0.247±0.056	0.240±0.037
	Left	0.130±0.032	0.118±0.013	0.142±0.048	0.127±0.024
Kidney	Right	0.276±0.018	0.280±0.011	0.288±0.012	0.260±0.011
	Left	0.288±0.022	0.280±0.015	0.300±0.042	0.260±0.013
Adrenal	Right	0.005±0.002	0.005±0.000	0.005±0.000	0.005±0.002
	Left	0.006±0.001	0.005±0.000	0.005±0.000	0.006±0.001
Testis	Right	0.396±0.025	0.381±0.028	0.398±0.025	0.414±0.021
	Left	0.420±0.029	0.398±0.029	0.418±0.022	0.421±0.018

(Mean±SD)

Table 6. Organ weight as a Percent of Body weight in Female Rats

Organ	Side	Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
Salivary gland		0.179±0.016	0.166±0.011	0.156±0.016	0.178±0.020
Thymus		0.090±0.010	0.080±0.010	0.088±0.009	0.091±0.022
Heart		0.294±0.016	0.248±0.014	0.272±0.025	0.300±0.016
Liver		2.889±0.169	3.194±0.238	3.032±0.161	3.086±0.192
Spleen		0.208±0.013	0.200±0.009	0.202±0.018	0.255±0.040
Brain		0.935±0.033	0.907±0.042	0.903±0.040	0.985±0.054
Pituitary		0.004±0.000	0.004±0.001	0.004±0.000	0.005±0.000
Lung	Right	0.282±0.037	0.300±0.070	0.247±0.018	0.276±0.030
	Left	0.162±0.030	0.160±0.039	0.128±0.009	0.143±0.020
Kidney	Right	0.292±0.022	0.308±0.025	0.285±0.018	0.274±0.028
	Left	0.300±0.020	0.307±0.019	0.294±0.012	0.287±0.027
Adrenal	Right	0.011±0.001	0.010±0.001	0.008±0.001	0.010±0.001
	Left	0.012±0.002	0.011±0.001	0.011±0.001	0.012±0.002
Ovary	Right	0.019±0.006	0.017±0.003	0.016±0.005	0.050±0.092
	Left	0.018±0.004	0.018±0.003	0.017±0.006	0.050±0.092

(Mean±SD)

Table 7. Statistical Summary of Biochemical Data for Male Rats

		Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
GOT	(KU)	69.444±11.822	81.777±49.703	78.900±21.931	99.555±32.859*
GPT	(KU)	38,666± 7.017	42.666±27.622	37.500±11.017	44.111±10.810
LDH	(WU)	246.222±106.370	152.125±45.284	280.200±135.451	241.111±78.625
ALP	(KAU)	16.955± 2.864	17.955± 4.958	22.020± 3.422	19.233± 2.359
TTT	(SHU)	0.122± 0.097	0.122± 0.083	0.100± 0.094	0.066± 0.086
TB	(mg/dl)	0.111± 0.092	0.066± 0.050	0.080± 0.078	0.033± 0.050*
T-Ch	(mg/dl)	57.000± 4.734	59.000± 6.244	56.900± 6.607	53.888± 4.456
Ch-E	(mg/dl)	0.752± 0.076	0.827± 0.043	0.836± 0.098	0.660± 0.068
TG	(mg/dl)	48.777±12.049	63.666±19.557	51.700±12.605	43.111± 6.050
β -L	(mg/dl)	23.666±12.519	28.111±13.373	20.600± 8.044	14.555± 4.666
TP	(g/dl)	6.277± 0.323	6.355± 0.436	6.590± 0.453	6.066± 0.463
A/G		1.744± 0.133	2.044± 0.113	2.070± 0.082	1.988± 0.145
BUN	(mg/dl)	17.444± 1.424	17.666± 2.499	18.900± 1.523	20.666± 1.802
CR	(mg/dl)	0.400± 0.158	0.355± 0.142	0.440± 0.142	0.455± 0.174
UA	(mg/dl)	0.933± 0.460	1.037± 0.713	1.170± 0.673	1.022± 0.373
Na	(mEq/L)	138.555± 3.244	139.250± 2.434	140.000± 2.267	136.555± 3.166
K	(mEq/L)	2.511± 0.190	2.837± 0.908	2.437± 0.238	2.366± 0.150
Cl	(mEq/L)	104.111± 1.964	103.375± 2.326	105.875± 1.642	105.555± 2.006

(Mean±SD)

* Significant at 5% level.

Table 8. Statistical Summary of Biochemical Data for Female Rats

		Group			
		Control	0.015%	0.03%	0.06%
GOT	(KU)	68.777±16.581	73.500±12.474	90.000±18.607	172.300±35.531*
GPT	(KU)	40.888±11.559	40.800± 8.625	51.000±12.719	81.130±15.095*
LDH	(WU)	211.500±81.170	258.888±79.266	310.400±104.308	421.333±103.940*
ALP	(KAU)	17.833± 1.913	15.810± 1.572	18.490± 4.655	19.230± 1.594
TTT	(SHU)	0.250± 0.151	0.240± 0.107	0.250± 0.097	0.290± 0.099
TB	(mg/dl)	0.075± 0.070	0.050± 0.070	0.090± 0.073	0.130± 0.150
T-Ch	(mg/dl)	42.777± 3.562	43.211± 4.148	39.400± 5.891	45.100± 5.915
Ch-E	(mg/dl)	0.096± 0.017	0.085± 0.026	0.037± 0.023*	0.067± 0.033*
TG	(mg/dl)	87.500±25.139	75.500±21.925	62.400±21.629	63.100±19.278
β -L	(mg/dl)	29.250±21.939	24.100±11.019	20.100± 8.774	29.900±24.204
TP	(g/dl)	6.133± 0.421	5.870± 0.249	5.850± 0.422	5.790± 0.223
A/G		1.644± 0.133	1.900± 0.141	1.780± 0.325	1.820± 0.225
BUN	(mg/dl)	17.250± 1.488	16.400± 0.843	18.100± 3.034	20.600± 1.712
CR	(mg/dl)	0.487± 0.099	0.500± 0.188	0.550± 0.184	0.660± 0.164
UA	(mg/dl)	0.450± 0.192	0.660± 0.571	0.700± 0.823	1.080± 0.689*
Na	(mEq/L)	137.250± 3.150	137.900± 1.852	136.900± 3.381	136.100± 3.984
K	(mEq/L)	2.850± 0.185	2.800± 0.305	2.880± 0.388	2.860± 0.323
Cl	(mEq/L)	102.000± 2.507	102.000± 1.247	103.200± 1.316	102.600± 1.264

(Mean±SD)

* Significant at 5% level.

める肝の重量が増加していることを表わしている。

雌は、0.03%群の肺の重量が対照群と比較し減少しており、体重・臓器重量比でも同様の所見が観察された。また腎では、0.015%群で重量の増加がみられるのに対し、0.06%群ではむしろ減少している。いずれの重量変化も数値の差は極めて少ないものであった。

血清生化学的検査結果

雄のラットにおける血清生化学的検査所見は Table 7 に、雌のラットは Table 8 に示した。雄の 0.06%投与群では GOT と総ビリルビン (TB) に変化がみられ、前者は対照群に比べて1.2~1.6倍の増加、後者は約5分の2に減少していた。他の所見は対照群と比較して有意差のある数値は認められなかった。雌のラットでは Table 8 から明らかなように、0.03%群におけるコリンエステラーゼ (Ch-E) の2分の1から5分の1の減少が対照群と比較して認められた。0.06%群では GOT, GPT, LDH が約2倍の増加が認められ、コリンエステラーゼは5分の2から5分の4の減少を示していた。また尿酸 (UA) は約2倍の値を示した。

病理学的所見

1) 肉眼的所見

雄の 0.03%群に1例の肺膿瘍が見られ、雄と雌の 0.06%群に胸腺出血がそれぞれ1例ずつ見られたほかは、他の臓器に特記すべき所見は認められなかった。

2) 病理組織学的所見

肝：雌の 0.06%群では、特に血清の GOT, GPT, LDHの上昇と、コリンエステラーゼの減少が認められ、その中の5例に胆管炎が見られた。その組織像は胆管周囲のリンパ球浸潤を主とした肉芽形成であった。しかし雄の 0.015%及び 0.03%群では、肝重量の増加、0.06%群では GOT と総ビリルビンに変化が示されたが、組織学的に異常は認められなかった。

腎：0.015%及び 0.03%群の腎重量に、前者は増加、後者は減少と示されていたが、組織学的には変化は認められなかった。また雌の 0.06%群では尿酸の増加が示されたが、同様に特記すべき所見はみられなかった。他の群においても特別な変化はみられなかった。

唾液腺：雄の 0.06%群では重量の減少が示されたが、組織学的に特記すべき変化は認められなかった。

肺：雄の 0.06%群に気管支及び気管支周囲炎が5例認められ、同様の病変が 0.015%, 0.03%群にも3及び4例みられており、対照群においても雄に1例観察された。

考 察

チラムの癌原性試験としては、マウスを用いた経口投与と皮下への単体投与が行われている。これらの試験では癌原性がないという観察結果であったが⁵⁻⁷⁾、これらの報告は現在の癌原性評価に十分耐えうるデータとはいえないとされている⁹⁾。

最近では、Cheng-Chan Lee らが急性、亜慢性及び慢性毒性試験の結果を報告している⁹⁾ この亜慢性試験では、1群20匹の雄のラットを用いて4群、すなわち対照群、0.05%, 0.1%, 0.25%群を設けて実験を行った。その結果、投与群に著明な体重と飼料摂取量の減少が対照群に比して認められ、加えて0.1%群では BUN(尿素窒素)の軽度の上昇と、0.25%群では血清の GOT, GPT のわずかな上昇があったと述べている。しかし彼らの慢性毒性試験では、このような所見が高濃度群の雄及び雌にはほとんど認められず、同時に癌原性も否定されている⁹⁾。今回我々の亜慢性試験では、0.06%と Lee らの高濃度群に比べて低い投与率であったために、体重及び飼料摂取量 (Table 2) には大きな変化はなかったものと思われる。また彼らの亜慢性試験における病理組織学的検査では、精巣の精細管に変性があり、副睾丸には異常な精子細胞を伴っていたと報告している。また Short らは、亜慢性試験によってチラムが雄に不妊症を起こすと報告している¹⁰⁾。我々の検査においては、ラットの睾丸に上記のような病変は認められなかった。そのほか、雌のラットの 0.06%群に血清酵素 (GOT, GPT, LDH) の上昇とコリンエステラーゼの減少が示されたと同時に、病理組織学的に胆管炎が50%所見として認められた。雄のラットの高濃度群では、やはり GOT の増加が示されている。しかし相関するほかの項目 (GPT, LDH, A/G 比, Ch-E など) に対照群と有意差がなく、病理組織学的にも特記すべき所見が認められないため、GOT 上昇が肝障害によるものではないと考えられた。

チラムに直接接触した労働者の甲状腺に障害があったとされているが⁹⁾、亜慢性毒性試験においては、ラットの甲状腺に組織学的な著変は認められなかった。

病理組織学的検査におけるチラム投与群の気管及び気管支周囲炎は、飼育中の感染であると思われるが、特に雄の投与群に多く、これらのことからチラムが感染に対する抵抗を弱める作用があるという可能性も否定できない。

本報告でのチラムの亜慢性毒性試験は、高濃度群の雌に胆管炎がみられたほかは、特別な所見は認められなかった。以上の結果に基づき癌原性試験の実施に際

しては0.06%前後の濃度が最大耐量であることが示唆され、現在、雌雄共0.1%、0.05%を用いて癌原性試験を実施している。

文 献

- 1) 武藤聰雄：農薬概説，p.688 (1970)，技報堂
- 2) A. F. Domingo: *Rev. Med. Vet.* (Caracas), **11**, 335 (1952)
- 3) V. V. Cherpak *et al.*: *Vrach. Delo*, **10**, 136 (1971)
- 4) L. M. Kaskevich, V. P. Bezugly: *Vrach. Delo*, **6**, 128 (1973)
- 5) J. R. M. Innes *et al.*: *J. Nat. Cancer Inst.* **42**, 1101 (1969)
- 6) O. V. Chernov *et al.*: *Onkologiya*, **3**, 123 (1972)
- 7) NTIS (National Technical Information Service) (1968)
- 8) IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER) Vol. 12, 232 (1976)
- 9) Cheng-Chun Lee *et al.*: *J. Toxicol. Environ. Health.* **4**, 93 (1978)
- 10) R. D. Short *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **315**, 83 (1976)

Pyrogen Test と Limulus Test の相関性 II

加納晴三郎・川崎浩之進

Studies on the Relationship between Pyrogen Test and Limulus Test

Seizaburo KANOH and Hironoshin KAWASAKI

We investigated on the relationship between Limulus test and pyrogen test and the following results were obtained.

1) The cell suspensions derived from various species of bacterial cultures were compared with their activities on both Limulus test and pyrogen test. Among them, gram-negative bacterial cells showed highly responsible to both tests and the activities were enhanced by sonication of cell suspensions.

2) LPS derived from *E. coli* showed the most potent activity to Limulus test among the other cellular components; RNA, DNA and protein fractions.

3) By the progress of purification of LPS, the activity on Limulus test was increased and it was also increased according to the increase of molecular weight of LPS.

4) Glucose or Ringer's solution containing the definite dose of LPS showed the same activity as LPS alone in pyrogen test. However, the activity on Limulus test decreased in the solutions, so that it was suggested that the test might be interfered by some kind of inhibitors.

From the above data, it should be concluded that there was no exact correlation between Limulus test and pyrogen test except LPS.

(Received May 31, 1980)

ま え が き

Limulus amebocyte (カブトガニ血球) の lysate と endotoxin とのゲル化反応は、endotoxin の検出法として知られており¹⁾、ウサギを用いる pyrogen test の代用に供しうるのでないかという考え方がある。これらの相関性に関する研究は、既に多くの人々によって試みられている²⁻⁵⁾。

いわゆる Limulus test は Limulus amebocyte の蛋白が endotoxin によって *in vitro* で凝固を起こす反応系であるのに対して、pyrogen test はウサギに被検液を静注したときの発熱反応の強度を測定する bioassay

であり、その機構は全く異った次元にある。pyrogen test の作用機序は古くから多くの研究が行われており、血中に投与された endotoxin は直接視床下部前庭の体温中枢、特に交感神経系に作用して発熱が起こるとともに、更に血中の endotoxin が流血中の多核白血球に捕捉され、白血球性発熱物質を生じ、これが二次的に体温中枢に作用して発熱を起こすものとされており、ウサギの発熱曲線が一般に二峰性を示すうちの最初のピークが直接作用の分であり、第二のピークが白血球性発熱物質による分であると考えられている。この間に様々な生理作用が付随するものであり、発熱という生体反応はなお充分に理解されているわけではな

い。したがって、このように *in vitro* のゲル化反応と発熱反応を同一に論ずることは原則的に不可能なことではあるが、著者らは今回は実用的な立場から、同一の endotoxin による二つの活性を相対的に比較することによって、両者の感受性の相関性を明らかにしようと試みたので、以下にそれらの結果を記述する。

実験材料と方法

Pyrogen test

体重 2 kg 前後の健常な雄性白色ウサギを用いた。1 群 3 羽のウサギに被検液を 1 ml/kg ずつ耳静脈より注射し、3 時間までの発熱曲線を求め、 0.6° 以上上昇せしめる濃度を最少発熱量 (Minimum Pyrogenic Dose, M. P. D.) として表示した。また 4 時間までの発熱曲線より得られる面積比を Fever Index として FI-4 と記載した。

Limulus test

Limulus amoebocyte として Pre-gel [帝國臓器製薬(株)製造、生化学工業(株)発売。(これはわが国で初めて創製されたもので、1 パイアルそのまま使用できるよう工夫されている。)] を用いた。常法にしたがってゲル化の度が 1+ 以上の濃度を 1 ml 当たりの含量に修正し、最少ゲル化量 (Minimum Gelation Dose, M. G. D.) として表示した。

各種 pyrogen の調製

endotoxin (lipopolysaccharide, LPS) は各種の菌体より熱フェノール法⁶⁾により抽出精製した。M-protein は *Strep. pyogenes* Type-12 より Lancefield の方法⁷⁾により抽出した。大腸菌菌体の DNA, RNA 及び蛋白はそれぞれ所定の方法⁸⁾により調製した。

その他の実験方法については各項に記載した。

実験結果

I. 各種発熱物質のウサギに対する発熱性

一般にウサギは性温順で比較的体温が一定し、また各種の発熱物質によく反応し、ヒトの場合とかなりの相関性があることから、pyrogen test に好んで用いられている。また、発熱機構の解明にも利用されている。各種の物質による発熱曲線の代表的な例を Fig. 1 に示した。LPS 以外の各種の発熱物質はそれぞれ特有の発熱曲線を示し、発熱反応の多様な形式と複雑さを示しているといえることができる。

II. 各種菌体の Limulus test への反応性

グラム陰性菌として *E. coli*, グラム陽性菌として *Staph. aureus* 209P 及び *Strep. pyogenes* T-12 をそれぞれ常法にしたがって培養し、それらを無菌かつ

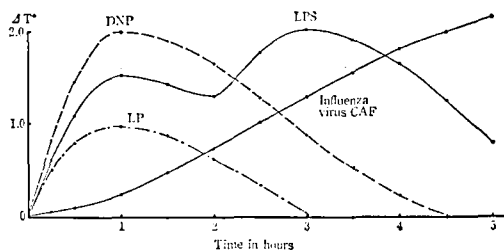


Fig. 1. Typical fever curves of varying pyrogen in rabbits

2,4-dinitrophenol (DNP) and lipopolysaccharide (LPS) were intravenously injected at dose of 5 mg/kg and 0.2 μ g/kg respectively. Leucocytic pyrogen (LP) was prepared from the supernatant of the incubation with 10^8 cells/ml of rabbit polymorphonuclear leucocytes in saline at 37° for 30 min and 1 ml/kg of the supernatant was injected iv. Each curve represents the mean of three rabbits.

pyrogen free の生理食塩水に一定数の菌体浮遊液としてそれぞれ調製し、これらに対する Limulus test の反応性を検討した。また、菌体を超音波処理したものを同様に検討した。Table 1 に示すように、グラム陰性菌である *E. coli* の反応性は著しく高く、他のグラム陽性菌に比べて約10万倍も高い値を示した。また、超音波処理によってその活性は上昇した。

E. coli が最も Limulus test に強い反応性を示すことから、他の細菌より各種の toxin を抽出し、それらの Limulus test 及び pyrogen test への反応を比較検討した。また、発熱性を示す細菌毒素以外の毒素である aflatoxin や ricin を抽出し、同様に両 test に対する反応性を比較検討した。

Table 2 に示すように、A と B の 2 つの大腸菌 LPS 以外の毒素では、pyrogen test で比較的活性の強いものは ricin であったが、これは Limulus test での反応性は低い。また、Limulus test に比較的好く反応する M-protein は pyrogen test での反応性は低い。その他の毒素では、いずれも両 test に反応しうるものは LPS 分画のみであった。更に *E. coli* の菌体成分を LPS, RNA, DNA 及び蛋白にそれぞれ所定の方法によって分画し、それらの Limulus test への反応性を検討した。また、それらの分画の発熱性をウサギを用いて pyrogen test を行い、最少発熱量を定めて Limulus test と pyrogen test との反応性を比較した。

Table 3 に示すように、pyrogen test の最も高いものは粗製 LPS から超遠心 (105000 g \times 60 分) で精製した精製 LPS であり、また、Limulus test において

Table 1. Activity of some bacterial cells to Limulus test

Species of bacteria	Treatment	Number of Cells per ml							
		10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²
<i>E. coli</i> UKT-B	Intact	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1+	—
	Sonicated	3+	3+	3+	3+	2+	2+	1+	—
<i>Strep. pyogenes</i> T-12	Intact	2+	1+	±	±	—	—	—	—
	Sonicated	2+	1+	1+	±	—	—	—	—
<i>Staph. aureus</i> 209 P	Intact	2+	1+	±	±	—	—	—	—
	Sonicated	2+	1+	1+	±	—	—	—	—

After cultivation for 24 hr at 37°, the cells were resuspended in saline and adjusted the cell number as indicated.

Sonication was done by 20kc. for 20 min.

Table 2. Comparison of the activity in some bacterial toxins to the both Limulus test and pyrogen test

Materials	Pyrogen test M. P. D.* ¹	Limulus test M. G. D.* ²
<i>E. coli</i> UKT-B		
LPS (A)	10 ⁻² μg/kg	10 ⁻³ μg/ml
" (B)	10 ⁻² "	10 ⁻³ "
<i>Strep. pyogenes</i> T-12		
LPS	10.0 μg/kg	1.0 μg/ml
M-protein	10.0 "	10 ⁻¹ "
Mucopeptide	10.0 "	10.0 "
<i>Staph. aureus</i> 209p LPS	100.0 "	1.0 "
<i>Staph. B.</i> enterotoxin	10.0 > "	10.0 "
<i>C. welchii</i> enterotoxin	10.0 > "	10.0 "
Aflatoxin	N. D.* ³	10 ² "
Ricin	10 ⁻¹ "	10 ² "
<i>Baker's yeast</i> LPS (Boivin type)	10.0 "	1.0 "

*¹ M. P. D.: Minimum pyrogenic dose

*² M. G. D.: Minimum gel formation dose

*³ N. D.: Not done

Table 3. Comparison of the activity of some cellular components of *E. coli* to the both Limulus test and pyrogen test

Fractions	Pyrogen test M. P. D.* ²	Limulus test M. G. D.* ³
LPS purified*	10 ⁻² μg/kg	10 ⁻⁵ μg/ml
LPS crude	5 × 10 ⁻² "	10 ⁻³ "
RNA crude	1.0 "	10 ⁻¹ "
DNA crude	1.0 "	1.0 "
Protein crude	1.0 "	1.0 "

*¹ Purified LPS was prepared from crude LPS by centrifugation at 105000 × 60 min.

** M. P. D.: Minimum pyrogenic dose

*** M. G. D.: Minimum gel formation dose

Table 4. Comparison of the activity in the various molecular weights of LPS to the both Limulus test and pyrogen test

Molecular weight (M.W.)	Pyrogen test M.P.D.*	Limulus test M.G.D.**
Parent LPS	10 ⁻² μg/kg	10 ⁻⁵ μg/ml
M.W. > 3 × 10 ⁵	5 × 10 ⁻³ "	10 ⁻⁸ "
3 × 10 ⁵ > M.W. > 10 ⁵	2 × 10 ⁻² "	10 ⁻⁵ "
10 ⁵ > M.W. > 5 × 10 ⁴	1.0 "	10 ⁻¹ "
5 × 10 ⁴ < M.W.	10 ² "	10 ² "
30000 rpm.....60 min.	10 ⁻³ "	10 ⁻¹¹ "

Molecular weight of LPS was divided by membrane filter (Diaflo membrane).

* M. P. D.: Minimum pyrogenic dose

** M. G. D.: Minimum gel formation dose

Table 5. Effect of heating of the varying kinds of glucose and Ringer's solution added with LPS on both Limulus test and pyrogen test

Solutions*	Final conc. of LPS (μg/ml)	Treatment	Pyrogen test (FI-4)	Limulus test M.G.D. (μg/ml)
5% glucose solution	0.1	—	38.0 ± 3.4	10 ⁻⁴
		heat	33.0 ± 3.4	10 ⁻³
	0.01	—	26.4 ± 4.4	10 ⁻³
		heat	0	0
20% glucose solution	0.1	—	37.0 ± 3.2	10 ⁻⁴
		heat	25.8 ± 3.2	10 ⁻²
	0.01	—	26.8 ± 2.1	10 ⁻⁴
		heat	0	0
50% glucose solution	0.1	—	30.5 ± 6.6	10 ⁻³
		heat	0	10 ⁻¹
	0.01	—	18.2 ± 3.2	10 ⁻³
		heat	0	0
Ringer's solution	0.1	—	37.0 ± 3.4	10 ⁻⁴
		heat	32.4 ± 4.4	5 × 10 ⁻³
	0.01	—	24.3 ± 3.0	10 ⁻⁴
		heat	18.8 ± 5.2	10 ⁻²
0.85% NaCl solution	0.1	—	36.0 ± 6.8	10 ⁻⁴
		heat	17.6 ± 5.6	10 ⁻²
	0.01	—	28.4 ± 3.6	10 ⁻⁴
		heat	0	0

* All solutions were confirmed to be pyrogen and aseptic free before experiments. After addition of LPS in the solutions, they were heated at 120° for 30 min. and injected intravenously (1ml/kg) to rabbits.

も LPS 分画が最も高い活性を示した。他の分画は両 test に反応性を示すが、その度合は LPS に比べて著しく低いことが明らかである。これらの反応は抽出工程中に LPS が混入したものと考えられる⁹⁾。

III. *E. coli* LPS の分子サイズと Limulus test 及び pyrogen test への反応性

以上の実験結果から、*E. coli* の LPS が最も発熱性及び Limulus test への反応性が強く、ほぼ両活性は平行していることが認められた。このことから、既に

多くの先人が示しているように、両活性は LPS に依存していることが明らかである²⁻⁵⁾。

しかし、LPS は高分子ミセル構造を有し、様々な分子サイズの集合体であると考えられ、分子会合度と活性の関係は明らかでない。

本実験では著者らは *E. coli* LPS を membrane filter で30万以上のもの、30万より10万までのもの、10万より5万までのもの、及び5万以下のものに分画したところ、その含有率はそれぞれ84.5%、1.3%、3.3%及

び10.9%であった。これらの分画部について、前述の実験と同様に pyrogen test 及び Limulus test を行ったところ、Table 4 に示したような成績が得られた。

分子サイズの最も大きな30万以上の分画部が両 test に対して最も反応性が強く、他の分画もそれぞれの活性は強いが、その度合は分子サイズの低下に伴って減少していることが示されている。また両 test への反応性もほぼ平行して低下しており、LPS の両活性の相関性は強いものと考えられる。もとの LPS を 30000 rpm 60分遠沈し精製度を進めたものは、両 test に対して反応性は上昇した。

IV. 被検液に一定量の LPS を添加したとき pyrogen test と Limulus test に対する反応性の相関性と加熱処理による影響

ブドウ糖注射液及びリンゲル液は日常汎用される輸液であるため、これらに LPS を混入せしめて、これが両 test に対していかなる反応性を示すものか、またこれを加熱処理して、LPS を不活性化せしめたときの両 test への反応性の変化を検討した。それらの結果を Table 5 に示した。

0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう LPS を各被検液に混入したとき、それぞれの pyrogen test に対する反応性はほぼ一定であり、また Limulus test に対する反応性もほぼ同一であった。しかし 120° 30分間加熱処理した場合、各標品の pyrogen test に対する反応性は一般に低下するが、その度合は被検液の組成によって一定の値を示さなかった。また、Limulus test に対する反応性は同様に低下し、ほぼ pyrogen test に対する反応性の低下に対応していた。0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう LPS を添加した場合においてもほぼ同様の結果を示した。

考 察

以上の結果により、既に先人の述べたごとく、Limulus test の反応性の主体はグラム陰性菌の LPS であり、精製により活性は増大することが確認された。また、LPS の分子サイズの大小がその反応性に相関性があるものと推定された。この反応性はウサギの発熱反応とよく対応した。しかし、pyrogen test は生物系を介する bioassay であって、本質的にその作用機序を異にするものである。その上、さまざまな因子が発熱反応に関与しており、LPS のみに特異性がある

ものではないが、LPS は極めて微量で発熱反応を起こしうることから pyrogen と呼ばれる所以である。

本研究において、著者らは主として LPS を中心として Limulus test と pyrogen test との相関性を検討したが、Limulus test に対しては LPS が著しく強く反応し、純度が高まるにつれて上昇し、その反応性は LPS のうちでも分子量が大きくなるにつれて上昇することを認めた。pyrogen test については、ほぼ前述の結果と同様の傾向があり、LPS についてのみではほぼ pyrogen test と Limulus test との相関性はあるものといえよう。

注射液中に混入した LPS について Limulus test は反応性は認められるが、被検液の組成によって差がみられ、Limulus test の反応性を阻害する因子の存在が推定され、供試検体以外の注射液については未知の阻害物質が含まれることが考えられ、必ずしも Limulus test によって LPS の検出が可能であるとは限らないように思われる。一方、pyrogen test については被検液の組成にかかわらず、ほぼ一定の反応性を示していることから、輸液の pyrogen test による LPS の検出は信頼度の高いものといえよう。

したがって Limulus test と pyrogen test の反応性は、LPS と阻害物質のない限られた条件のもとのみよく相関性を示すものと考えられ、Limulus test の LPS に対する反応阻害物質の検討が今後の重要な研究の主題であると考えられた。

文 献

- 1) Bang, F. B.: *John Hopkins Hosp.*, 98, 325 (1956)
- 2) Elbert, J., Jr.: *Bull. Parenteral Drug Assoc.*, 26, 253 (1972)
- 3) Cooper, J. F., J. D. Hochstein, R. B. Seligmann, Jr.: *Bull. Parenteral Drug Assoc.*, 26, 153 (1972)
- 4) Rojars Corona, R.R., R. Tamakuma, J. Fine: *Proc. Soc. Exp. Med.*, 132, 59 (1969)
- 5) 加納晴三郎, 川崎浩之進: *診断と治療*, 62, 326 (1974)
- 6) Westphal, O., O. Lüderitz: *Angew. Chem.*, 66, 407 (1954)
- 7) Lancefield, R. C.: *J. Exp. Med.*, 47, 91 (1929)
- 8) 加納晴三郎: *ファルマシア*, 6, 397 (1971)
- 9) Kanoh, S., H. Kohlhaage, R. Siebert: *J. Bacteriol.*, 96, 738 (1968)

家兎におけるサルファ剤の血中濃度とそれに及ぼす 発熱物質の影響

吉田 稔・伊丹孝文・加納晴三郎

Effect of Bacterial Pyrogen on Plasma Concentrations of Sulfonamides in Rabbit

Minoru YOSHIDA, Takafumi ITAMI and Seizaburo KANOH

In this report, we investigated the effect of bacterial pyrogen (lipopolysaccharide, LPS) on the blood concentrations of sulfamethizole (SM) and sulfadimethoxine (SD) after oral administration in rabbits.

We obtained the following results:

- 1) Rectal temperature was not influenced by administration of SM and SD (500 mg/kg, p.o.) in normal or LPS-induced febrile rabbits.
- 2) Plasma concentrations of total and non-conjugated SM and SD after oral administration (250 and 500 mg/kg) were increased by pre-injection of LPS (0.2 μ g/kg, i.v.), but the concentrations of conjugated drugs were not significantly changed.

(Received May 31, 1980)

ま え が き

薬物の血中濃度の推移を明らかにすることはその薬効を知る一つのパラメータであると考えられているが、薬物側の特性や生体側の多くの要因に支配され、必ずしもその判断は容易であるとはいえない。

先に著者らは各種の解熱剤の作用機序についての研究において、発熱物質 (bacterial pyrogen: LPS) を投与して発熱させた家兎に解熱剤を与えると解熱効果が見られるとともに、その血中濃度が著しく上昇することを見出した¹⁻³⁾。このような現象は単に発熱物質の作用によるものか、あるいは発熱物質の効果が拮抗する解熱剤投与の場合のみ認められる現象なのか、又は一般的な現象なのか解熱剤以外の薬物について検討を要する点である。

感染症は一般に発熱を主徴とするが、実験的に発熱物質を与え発熱させた動物では、抗菌性物質がどのような血中濃度の推移をたどるかという点については明らかにされていない。

本論文において著者らは発熱物質によって発熱させた家兎にサルファ剤を投与し、その血中濃度が如何なる影響をうけるかを明らかにしようとしたものである。

実験材料及び方法

1. Bacterial pyrogen (LPS) の調製

E. coli UKT-B 株の乾燥菌体より Westphal と Lüderitz による 90% 熱フェノール抽出法に基づいた加納⁴⁾の方法に従い調製した。

2. 薬物

Sulfamethizole [N-(5-methyl-1, 3, 4-thiadiazole-2-yl)sulfanilamide=SM: エーザイ(株)製] 及び Sulfadimethoxine [N-(2, 6-dimethoxy-4-pyrimidinyl)sulfanilamide=SD: 第一製薬(株)製] を使用した。両者とも日本薬局方に適合したものであり、いずれも磨砕し、100~200 mesh の粒子を選別し使用した。

3. 家兎

2.5~3.0 kg の雄性家兎を16時間絶食させて実験に供した。

4. 薬物の投与

LPS は滅菌生理食塩水で溶解し、0.2 μ g/kg を静注した。SM 及び SD は0.25%アルギン酸ナトリウムに懸濁させ各々 250 mg 及び 500 mg/10 ml の濃度にし、LPS 投与 2 hr 後に経口カニューレを用いて10 ml/kg を投与した。

5. サルファ剤の血漿中濃度の測定

家兎耳静脈より採血後、直ちに血液 5 ml 当たりへパリン溶液 (1000 unit/ml) を 50 μ l 加え、遠心分離し、血漿を得た。この血漿について Bratton 及び Marshall⁵⁾の方法に準じて SM と SD の総及び遊離型濃度を定量し、更に、抱合体濃度は両者の差より算出した。

6. 家兎体温測定

室温 $25^{\circ}\pm 1^{\circ}$ にて家兎直腸温をサーミスター式体温自動記録装置(飯尼電気製)を用いて記録した。

実験結果

1) LPS による発熱家兎及び正常家兎の体温に対する SM 及び SD の影響について

LPS により誘発された典型的な二峰性発熱に対し、SM 及び SD の発熱家兎体温に対する影響を明らかにするため、LPS ($0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) 投与 2 hr 後に SM 及び SD $500 \text{ mg}/\text{kg}$ を経口投与した。

その結果は Fig. 1 に示す如く、それらの解熱効果は認められなかった。また、SM 及び SD とも家兎の正常体温に対しても何ら影響を認められなかった(Fig. 1)。

2) SM 経口投与による正常及び発熱家兎の経時的血漿中 SM 量について

a) 血漿中の総 SM 量について

1群3匹の正常家兎に SM 250 及び $500 \text{ mg}/\text{kg}$ を経口投与し、経時的に血漿中濃度を測定した。また、家兎に LPS ($0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$) を静注し、2 hr 後の発熱家兎(以下発熱家兎)に SM 250 及び $500 \text{ mg}/\text{kg}$ を経口投与し、以後経時的に血漿中の SM の総量を測定した。正常家兎に SM $250 \text{ mg}/\text{kg}$ を経口投与すると、投与 3 hr 後にその血漿中濃度が $70 \mu\text{g}/\text{ml}$ の最高濃度になり以後減少する傾向を示した(Fig. 2A)。また、 $500 \text{ mg}/\text{kg}$ の経口投与では投与後、血漿中濃度は漸次増加し、5 hr 後においてその濃度は最高の $110 \mu\text{g}/\text{ml}$ となり以後漸次減少する傾向を示した(Fig. 2B)。

一方、発熱家兎に $250 \text{ mg}/\text{kg}$ を経口投与すると、その最高血漿濃度が投与 6 hr 後において $82 \mu\text{g}/\text{ml}$ となり、そのピークが正常家兎の場合よりシフトし、SM の血漿中濃度は高濃度を持続するパターンを示した

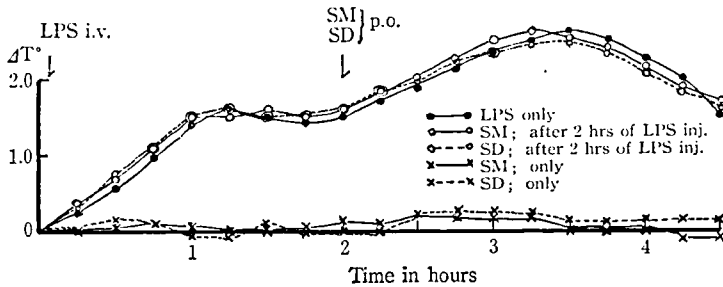


Fig. 1. Effect of Sulfamethizole (SM) and Sulfadimethoxine (SD) on the rectal temperature of normal or febrile rabbits induced by LPS. SM or SD ($500 \text{ mg}/\text{kg}$) was given p.o. 2 hr after LPS ($0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$) i.v.

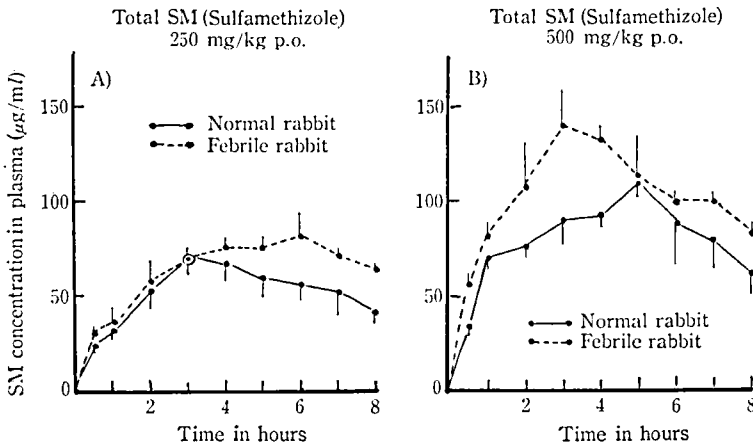


Fig. 2. Time course of plasma concentration of total Sulfamethizole (SM) after oral administration in normal and febrile rabbits

Each curve with vertical bars represents the mean \pm S.D. of three rabbits. SM (250 or $500 \text{ mg}/\text{kg}$) was given p.o. 2 hr after LPS ($0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$) i.v.

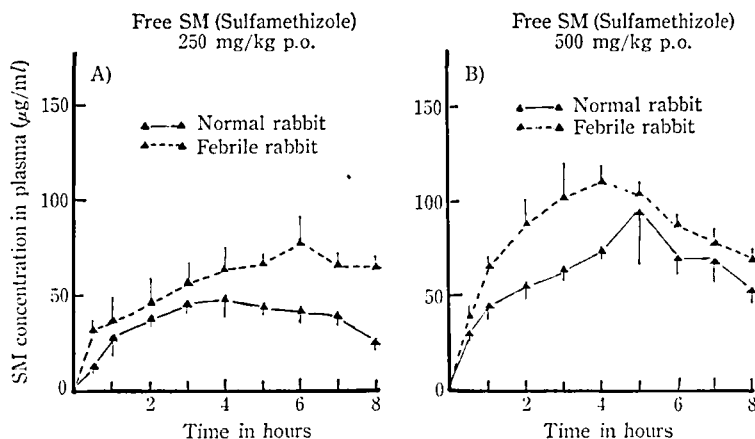


Fig. 3. Time course of plasma concentration of free Sulfamethizole (SM) after oral administration in normal and febrile rabbits

Each curve with vertical bars represents the mean \pm S.D. of three rabbits. SM (250 or 500 mg/kg) was given p.o. 2 hr after LPS (0.2 μ g/kg) i.v.

(Fig. 2A). また、500 mg/kg を経口投与すると、投与 3 hr 後にその血漿中濃度が最高値 140 μ g/ml に達し (Fig. 2B), その後、漸次減少した。更に投与後、8 hr で正常家兎のそれに近い値までに減少した。

b) 血漿中の遊離型 SM 量について

上述の実験より経時的に得られた血漿 sample 中の遊離型 SM 量を測定した。Fig. 3 に示されるように、遊離型 SM 量においては総 SM 量の場合と同様のパターンを示した。正常家兎に 250 mg/kg 経口投与すると投与 4 hr 後に最高値 48 μ g/ml に達し (Fig. 3A), また、500 mg/kg 経口投与では投与 5 hr 後で最高値 93 μ g/ml に達し (Fig. 3B), 両者とも以後、漸次減少する傾向を示した。

一方、発熱家兎に SM 250 mg/kg 経口投与すると投与 6 hr 後で血漿中濃度は 97 μ g/ml に達し、正常家兎の場合に比して約 35% の増大が示された (Fig. 3A)。また、500 mg/kg 経口投与においては投与 4 hr 後に血漿中濃度が 110 μ g/ml に達し (Fig. 3B), 正常時に比して約 30% の増大を示し、以後両者とも減少の傾向を示した。

3) SD 経口投与による正常及び発熱家兎の経時的血漿中 SD 量について

a) 血漿中の総 SD 量について

1 群 3 匹の正常家兎に SD 250 mg 及び 500 mg/kg を経口投与し、経時的に血漿中濃度を測定した。また、発熱家兎に SD 250 及び 500 mg/kg を経口投与し、以後経時的に血漿中濃度を測定した。Fig. 4 に示されるように正常家兎の場合、SD 250 mg/kg 投与では投与後血漿中 SD 量は漸次増加し、4~5 hr 後に血漿濃

度 138 μ g/ml の最高濃度に達し (Fig. 4A), 以後漸次減少した。また、500 mg/kg 投与では投与 3 hr 後で血漿中濃度は 160 μ g/ml に達し (Fig. 4B), 以後漸次減少した。

一方、発熱家兎に SD を 250 mg/kg 経口投与すると、血漿中濃度は正常家兎の場合と同様のパターンを示し、その最高濃度は 147 μ g/ml に達し、正常家兎の場合に比してやや増大したに過ぎなかった (Fig. 4A)。しかし、500 mg/kg 経口投与すると投与後漸次血漿中濃度は増加し、4 hr 後にその濃度は 198 μ g/ml に達し (Fig. 4B), そのピークは正常家兎の場合よりもやや遅れ、以後漸次減少し、投与 8 hr 後においてもなお正常家兎の最高濃度に近い血漿濃度を示した。

b) 血漿中の遊離型 SD 量について

上記の実験より経時的に得られた血漿 Sample 中の遊離型 SD 量を測定した。正常家兎に SD 250 mg/kg を経口投与すると投与後血漿中濃度は時間経過とともに増加し、5 hr 後に血漿中濃度は 110 μ g/ml に達し、漸次減少した (Fig. 5A)。また、500 mg/kg 経口投与では投与後、漸次血漿中 SD 濃度は増加し、3 hr 後に最高濃度 135 μ g/ml に達し、以後減少した (Fig. 5B)。

一方、発熱家兎に SD 250 mg/kg を投与すると、血漿中濃度は投与後時間の経過とともに増加し、5 hr 後に最高濃度 125 μ g/ml に達し、以後減少した (Fig. 5A)。また、500 mg/kg を経口投与すると、血漿中濃度は時間の経過とともに増加し、4 hr 後に最高濃度 165 μ g/ml に達し、以後減少に向うが、投与後 8 hr 後においても血漿中濃度は 115 μ g/ml と高い濃度を維持した (Fig. 5B)。

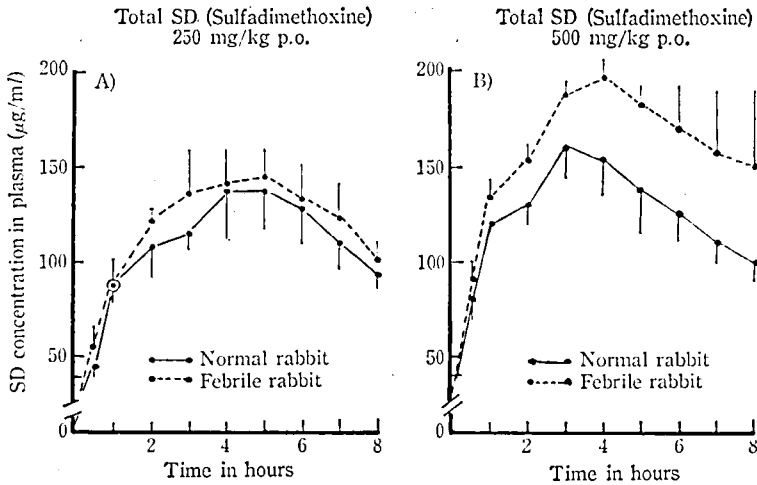


Fig. 4. Time course of plasma concentration of total Sulfadimethoxine (SD) after oral administration in normal and febrile rabbits

Each curve with vertical bars represents the mean \pm S.D. of three rabbits. SD (250 or 500 mg/kg) was given p.o. 2 hr after LPS (0.2 μ g/kg) i.v.

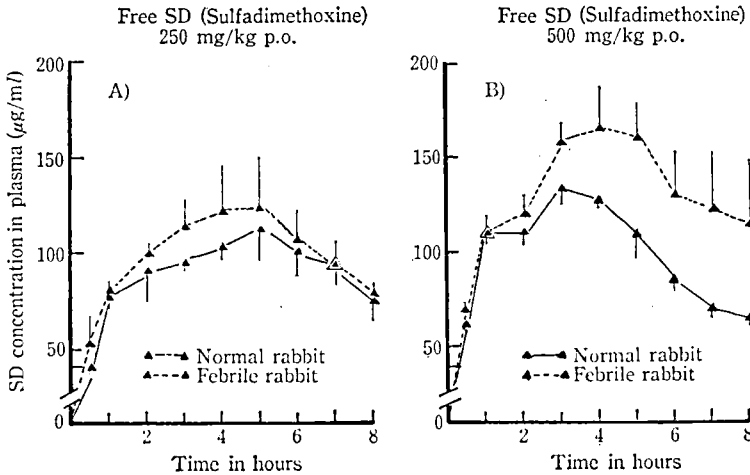


Fig. 5. Time course of plasma concentration of free Sulfadimethoxine (SD) after oral administration in normal and febrile rabbits

Each curve with vertical bars represents the mean \pm S.D. of three rabbits. SD (250 or 500 mg/kg) was given p.o. 2 hr after LPS (0.2 μ g/kg) i.v.

4) 正常家兎及び発熱家兎における SM 及び SD 投与 4 hr 後の血漿中総 SM 及び SD 量について

前述の実験系において LPS 投与 2 hr 後に SM 及び SD を経口投与し、それぞれの血漿中濃度が最高濃度に近い値を示す投与 4 hr 後の血漿濃度を測定比較した結果は Fig. 6 に示す如くである。正常家兎に SM 250 mg/kg 経口投与すると血漿中総 SM 量 66 μ g/ml を示し、発熱家兎では 76 μ g/ml を示し、その値はやや発熱家兎において増大した。また、500 mg/kg 経口

投与において正常家兎では 94 μ g/ml を示し、発熱家兎では 132 μ g/ml を示し発熱家兎において有意に増大した (Fig. 6)。

一方、SD においても 250 mg/kg 経口投与において正常家兎の血漿中の総 SD 量は 139 μ g/ml を示し、発熱家兎においても 140 μ g/ml とほぼ同じ値を示した。しかし、500 mg/kg 経口投与において正常家兎の血漿中の総 SD 量は 145 μ g/ml を示し、発熱家兎では 196 μ g/ml を示し、有意に増大した (Fig. 6)。

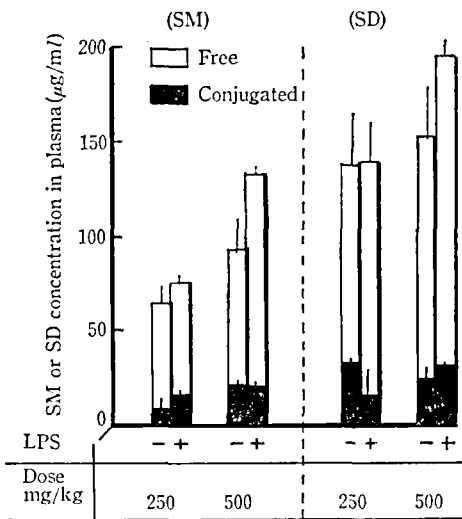


Fig. 6. Plasma concentration of total and conjugated Sulfamethizole (SM) and Sulfadimethoxine (SD) after 4 hr of oral administration in normal and febrile rabbits

SM or SD (250 or 500 mg/kg) was given p.o. 2 hr after LPS (0.2 µg/kg) i.v.

5) 正常家兎及び発熱家兎における SM 及び SD 投与 4 hr 後の血漿中抱合体 SM 及び SD 量について

上記の総及び遊離型 SM と SD 量の観察から、血漿中の濃度の増加が遊離型の増加によるものかどうかを明らかにするため抱合体量を計算した。その結果は Fig. 6 に示す如く、SM 250 mg/kg 経口投与において正常家兎では 9 µg/ml であり、発熱家兎においては 16 µg/ml でその値に有意な差は認められなかった。500 mg/kg 経口投与では正常家兎においては 21 µg/ml、発熱家兎では 20 µg/ml とほとんど同じ値を示した。

一方、SD 250 mg/kg 経口投与において正常家兎では 34 µg/ml であり、発熱家兎では 14 µg/ml であったが後者はその測定値のばらつきが大きく有意の差はなかった。また、500 mg/kg 経口投与において正常家兎では 25 µg/ml であり、発熱家兎では 31 µg/ml であり、有意な差を認められなかった。

考 察

著者らは発熱物質によって発熱させた家兎にサルフ

ァ剤を投与し、その血漿中濃度が如何なる影響をうけるかを検討した。その結果、短時間作用型の SM 及び長時間作用型の SD の発熱家兎における総血漿中濃度は正常家兎の場合に比べていずれも高い値を示した。また、遊離（非抱合体）の薬物濃度についても同様であった。発熱群及び正常群における血漿中薬物濃度の差は投与量の増加に伴い増える傾向がみとめられた。しかし、抱合された薬物の濃度を総血漿中濃度より遊離型の薬物濃度を減ずる計算により求めると、発熱時の抱合体の濃度は正常時とほぼ同じであった。これらの結果より、先ず薬物代謝あるいは抱合能が LPS の投与により、直接あるいは間接に阻害されたのではないかと推定される。

また、前報¹⁻³⁾では発熱時のアスピリン投与時に消化管からの吸収速度の増加現象が観察されたが、今回の実験では SM と SD の発熱時での血漿中濃度増加速度及びその最高濃度に達するまでの時間は正常時とほぼ同様であり、吸収速度の著しい増加はないと思われる。

一方、他の原因として LPS による薬物の組織への透過性の昂進⁶⁾、血液循環系の阻害⁷⁾あるいは肝における抱合反応の低下⁸⁾などの報告もあるが、これら一つの特定な反応によるものとも考えられない。

今後、これらの薬物の代謝あるいは抱合の阻害等について薬効への影響を含めて更に明らかにしていきたいと考える。

文 献

- 1) 加納晴三郎, 伊丹孝文: 応用薬理, **13**, 539 (1977)
- 2) 伊丹孝文, 加納晴三郎: 日薬理誌, **73**, 683 (1977)
- 3) 伊丹孝文, 加納晴三郎: 日薬理誌, **73**, 829 (1977)
- 4) 加納晴三郎, 川崎浩之進, 吉田 稔, 小林多美, 小川俊太郎: 日薬理誌, **62**, 135 (1966)
- 5) Bratton, A. C., Marshal, E. K. Jr.: *J. Biol. Chem.*, **128**, 537 (1937)
- 6) 西尾 晃, 川崎浩之進, 加納晴三郎: 日薬理誌, **70**, 315 (1974)
- 7) Gilbert, R.: *Physiol. Rev.*, **40**, 245 (1960)
- 8) Vainino, H.: *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, **51**, 65 (1973)

酵素製剤の定量試験(その1) リゾチーム製剤

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Assay of Enzyme Preparations (I) Lysozyme Preparations

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

This paper describes the stability of lysozyme in solution and *Micrococcus lysodeikticus* in suspension as lysozyme substrate, and the lysozyme potencies in the commercial lysozyme preparations. The stability of lysozyme in 66.7 mM sodium phosphate buffer (pH 6.2) (P-buffer) was markedly affected by its own concentration. The lysozyme activity was almost unchanged in concentration of 540 $\mu\text{g/ml}$ at 0° for 4 hr, whereas the activity was decreased to about 80 and 60% for 2 and 4 hr, respectively, in concentration of 0.43 $\mu\text{g/ml}$. The suspension of *M. lysodeikticus* dried cells (50 mg in 120 ml of P-buffer) retained the original ability as substrate for 5 hr at 0° or 2 hr at 35°. However, with stirring for 2 hr at 0°, the suspension was slightly decreased in the ability as substrate. The lysozyme potencies of commercial lysozyme tablets (preparations A, B, C and D) were measured. The potencies of A, B, C and D which were extracted with P-buffer were 14.4, 51.8, 100.9 and 97.9% of labeled potency, respectively. On the other hand, the potencies of A, B and C were 109.0, 96.8 and 104.3%, respectively, when these preparations were extracted with P-buffer additionally containing 0.4 M NaCl. The lysozyme protein recoveries from A, B and C were 10.9, 47.7 and 100.5%, respectively, when they were extracted with P-buffer, whereas 102.8, 94.5 and 110.8%, respectively, with P-buffer containing 0.4 M NaCl. These results suggest that, in the preparations which have shown lower potency as extracted with P-buffer, lysozyme as active ingredient may be adsorbed to the insoluble excipients or may be decreased in solubility by the presence of excipients and other additives, and sodium chloride added in the extraction buffer may produce a salting-in effect or prevent an interaction between lysozyme molecule and insoluble excipients. This fact seems to have an important meaning in aspect of bioavailability.

(Received May 31, 1980)

今日、多くの酵素が消化や消炎あるいは血栓溶解や止血などの目的で医薬品として開発され、臨床の場でも寄与することが多くなってきた¹⁻³⁾。今後も臨床面での酵素剤の使用頻度の増大に伴って多くの酵素剤が新しく開発され、市販されてくるものと推察される。しかるに、一方では同一の酵素を主成分とする酵素製剤も、その酵素剤の臨床での利用頻度が高くなればなるほど、多品目が市販されてくる傾向にある。例えば、塩化リゾチームの場合、現在その製剤はすでに顆粒剤：18社、18品目、錠剤：52社、86品目、カプセル剤及びシロップ剤：各1社、1品目が市販されている。このように同種製剤として多品目が市販されている場合には、より品質の優れた品目を選択することが治療効果を上げるために重要なことである。そして、この選択のためには品質の評価を行うことが必要である。

一般に製剤の医薬品としての品質の評価には確認試験、純度試験などの基礎的項目から bioavailability に

至る種々の試験によって総合的に行われるべきものである。しかし、場合によっては定量試験の結果から品質を評価できないこともない。特に酵素製剤の場合には、主成分である酵素が活性を有するたん白質であるという特異な性質をもつために、一般の合成医薬品に比べて不安定であったり、あるいは賦形剤との間で種々の相互作用が生じたりして、製剤間での酵素の力価に大きな変動が生ずる可能性があることから、定量試験が品質を評価し、比較するために大いに役立つ場合があると考えられる。

著者ら^{4,5)}はリゾチーム製剤の中に定量法、特に製剤からの酵素の抽出法の相違によって、得られる力価が大きく異なるものがあることを既に報告した。本報ではこのような現象の原因を明らかにし、定量試験からみたりゾチーム製剤の品質について考察した。更に、基質液の安定性、酵素溶液の安定性など定量試験のための基礎的知見をも得たので、ここであわせて報告す

る。

実験方法

試料・試液

1) リン酸塩緩衝液 (pH 6.2): リン酸二水素ナトリウム (2水塩) 10.40 g に水を加えて 1000 ml とした液 815 ml に、無水リン酸一水素ナトリウム 9.464 g に水を加えて 1000 ml とした液 185 ml を加える。必要ならば更にいずれかの液を加えて pH 6.2 に調節する。

2) 基質液: *Micrococcus lysodeikticus* の乾燥菌体(生化学工業社製) 約 50 mg にリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) 120 ml を加え、ゆるやかに振り混ぜて均一な懸濁液とする。この懸濁液の水を対照として層長 10 mm, 波長 640 nm における透過度が 10% になるように更に基質又はリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) を加える。用時調整する。

3) リゾチーム製剤: 10 mg (力価) を含有する市販リゾチーム製剤を使用した。

4) リゾチーム標準品: 国立衛生試験所リゾチーム標準品を使用する。

リゾチーム力価の測定

1) 試料溶液及び標準溶液の調製: 錠剤 20 個をとり、その重量を精密に量り、1 個当りの平均重量をあらかじめ算出しておき、それを乳鉢ですりつぶして粉末とする。この粉末試料をデシケーター (シリカゲル) 中で 2 時間減圧乾燥し、その約 50 mg (力価) に対応する量を精密に量り、それにリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) を加えて正確に 100 ml とする。この液を 3000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄液を試料抽出液とする。試料抽出液 2 ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) を加えて 100 ml とし、この液 2 ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) を加えて正確に 50 ml とし試料溶液とする。別にリゾチーム標準品をデシケーター (シリカゲル) 中で 2 時間減圧乾燥し、その約 50 mg (力価) を精密に量り、それにリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) を加えて溶解し、正確に 100 ml とし、この液 2 ml を正確に量り、以下試料溶液と同様に操作し標準溶液とする。

2) 力価測定操作法: 基質液を均一な懸濁液になるようにゆるやかに振り混ぜながら正確に 3 ml ずつを量り、試料溶液、標準溶液及び対照液について 3 回以上測定するのに必要な本数の試験管 (肉厚: 内径 16 mm, 高さ 16.4 cm) に移し、氷水中に浸し、測定開始直前に順次 35° で 3 分間加温する。別に 35° で 3 分間加温した試料溶液、標準溶液及びリン酸塩緩衝液

(pH 6.2) を正確に 3 ml ずつ、先に加温した基質液に加え、35° で 10 ± 0.1 分間放置する。次いで、水を対照として層長 10 mm, 波長 640 nm における吸光度を測定する。試料溶液、標準溶液及び対照液について各々少なくとも 3 回以上測定を繰り返し、各液の平均値を A_T , A_S 及び A_0 とする。試料 1 mg 中のリゾチーム量は (1) 式で、試料 1 錠中のリゾチーム含有率は (2) 式で算出する。

$$\begin{aligned} & \text{試料 1 mg 中のリゾチーム量 [mg (力価)] (LA)} \\ &= \frac{A_0 - A_T}{A_0 - A_S} \times \frac{\text{標準品の量 [mg (力価)]}}{\text{採取した粉末試料の重量 (mg)}} \quad (1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{試料 1 錠中のリゾチーム含有率 (\%)} \\ &= LA \times \frac{1 \text{ 錠当たりの平均重量 (mg)}}{\text{試料 1 錠当たりの表示量 [mg (力価)]}} \\ & \quad \times 100 \quad (2) \end{aligned}$$

リゾチームたん白質量の測定

リゾチームをリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) に溶解し、その 280 nm における吸光度から、リゾチームの 280 nm における吸光係数 ($E_{280\text{nm}}^{1\%}$) を 26.0⁹⁾ としてリゾチームたん白質量を算出した。

結果と考察

リゾチームの水溶液中における安定性

リゾチームをリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で 0.43 $\mu\text{g/ml}$ 及び 540 $\mu\text{g/ml}$ の 2 種類の濃度に溶解し、それぞれを氷水中に静置し、0 時間、2 時間及び 4 時間後にそれぞれのリゾチーム力価を測定した (Table 1)。リゾチーム力価の測定は、低濃度 (0.43 $\mu\text{g/ml}$) 溶液はそのままで、高濃度 (540 $\mu\text{g/ml}$) 溶液はリン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で 1250 倍希釈し、「リゾチーム力価の測定」の項の 2) 力価測定操作法に準じて行った。低濃度溶液では 2 時間後に約 20%、4 時間後に約 40% のリゾチーム力価の消失がみられた。これに対して、高濃度溶液では 4 時間後もほとんど力価の低下は認められなかった。低濃度溶液のリゾチーム濃度は「試料溶液の調製」の項で述べた「試料溶液」のリゾチーム濃度に相当し、高濃度溶液のリゾチーム濃度は「試料抽出液」のリゾチーム濃度に相当する。したがって、ここで述べた結果は、製剤中のリゾチームの定量に際して試料を抽出して得た「試料抽出液」は力価測定の直前に希釈して「試料溶液」とすべきであり、あらかじめ希釈して「試料溶液」として保存することは不適当であることを示している。

Micrococcus lysodeikticus 乾燥菌体懸濁液の安定性

種々の条件下に置いた *M. lysodeikticus* 乾燥菌体懸

濁液を基質液としてリゾチーム力価を測定し、このときの力価の変化をもって *M. lysodeikticus* 乾燥菌体懸濁液の基質能の変化とした。

M. lysodeikticus 乾燥菌体 (50 mg) をりん酸塩緩衝液 (pH 6.2) (120 ml) に懸濁し、氷水中に静置したものは少なくとも5時間はリゾチームに対する基質能の低下を認めなかった。また 35° で静置した場合でも2時間で比較した限りにおいては、まったく測定値に影響を及ぼさないことがわかった。しかし、氷水中に保存した場合でも攪拌下では基質としての能力が若干低下する傾向がみられた (Table 2)。したがって、基質としての *M. lysodeikticus* 乾燥菌体懸濁液は菌体細胞が破壊される可能性のある機械的、物理的衝撃などを避けて、氷冷下に静置しておけば相当時間使用に耐え得るので、基質液の調製後の安定性については過度に気を配る必要性はないと考えられる。

抽出溶媒の相違によるリゾチーム力価の変動

試料溶液の調製の際に、抽出溶媒としてりん酸塩緩

衝液 (pH 6.2) を用いた場合と塩化ナトリウム (0.4 M) を含るりん酸塩緩衝液 (以下、塩化ナトリウム含有りん酸塩緩衝液と称す) (pH 6.2) を用いた場合とで得られるリゾチーム力価に大きな差が認められる製剤が存在した。例えば、Table 3 に示すように、製剤Aはりん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出した場合には表示量の14.4%の力価を示したにすぎなかったが、塩化ナトリウム含有りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出した場合には109.0%の力価を示した。また、製剤Bの場合にはそれぞれ51.8%及び96.8%の力価を示した。このような抽出溶媒の相違によって力価の値が異なる原因を明らかにする目的で、それぞれの抽出溶媒で抽出した試料抽出液中のリゾチームたん白質濃度を測定してみたところ、製剤Aの場合、りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出すると表示量から換算したリゾチームたん白質の回収率は10.9%であり、塩化ナトリウム含有りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出したときの回収率は102.8%であった。また、製剤Bのそれぞれの回収率は47.7%及び94.5%であった。一方、製剤Cの場合には、りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出したときの力価は100.9%、たん白質の回収率は100.5%であり、塩化ナトリウム含有りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出したときの力価は104.3%、たん白質の回収率は110.8%であり、両抽出液の間に大きな差は認められなかった。製剤Dでもりん酸塩緩衝液 (pH 6.2) による抽出で97.9%の力価とそれに相当する94.5%のたん白質の回収率を示し、これを塩化ナトリウム含有りん酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出してもたん白質の回収率は95.3%であり、りん酸塩緩衝液で抽出した場合と差が認められなかった。

Fig. 1 には製剤A, B, C及びDの両緩衝液で抽出したリゾチーム溶液の紫外吸収スペクトルを示してある。Table 3 に示した両緩衝液でのたん白質の回収率の差はこのスペクトルの吸光度の差からも明らかである。これらの吸収スペクトルはリゾチーム標準品のそれと同一のものであった。

Table 1. Stability of lysozyme in solution

Concentration of lysozyme (μg/ml)	Incubation time at 0° (hr)	Remaining activity (%)
0.43	0	100
	2	79.3
	4	61.0
540	0	100
	4	97.1

Table 2. Stability as substrate of *Micrococcus lysodeikticus* dried cells in suspension

Temperature	Time (hr)	Ability as substrate (%)
0°	2	100
35°	2	100.8
0°	2 (stirring)	94.3

Table 3. Effect of sodium chloride on the extraction of lysozyme from some commercial lysozyme tablets

Sample	Recovery (%) against labeled amount			
	-NaCl		+0.4 M NaCl	
	Lysozyme potency	Lysozyme protein	Lysozyme potency	Lysozyme protein
A	14.4	10.9	109.0	102.8
B	51.8	47.7	96.8	94.5
C	100.9	100.5	104.3	110.8
D	97.9	94.5	—	95.3

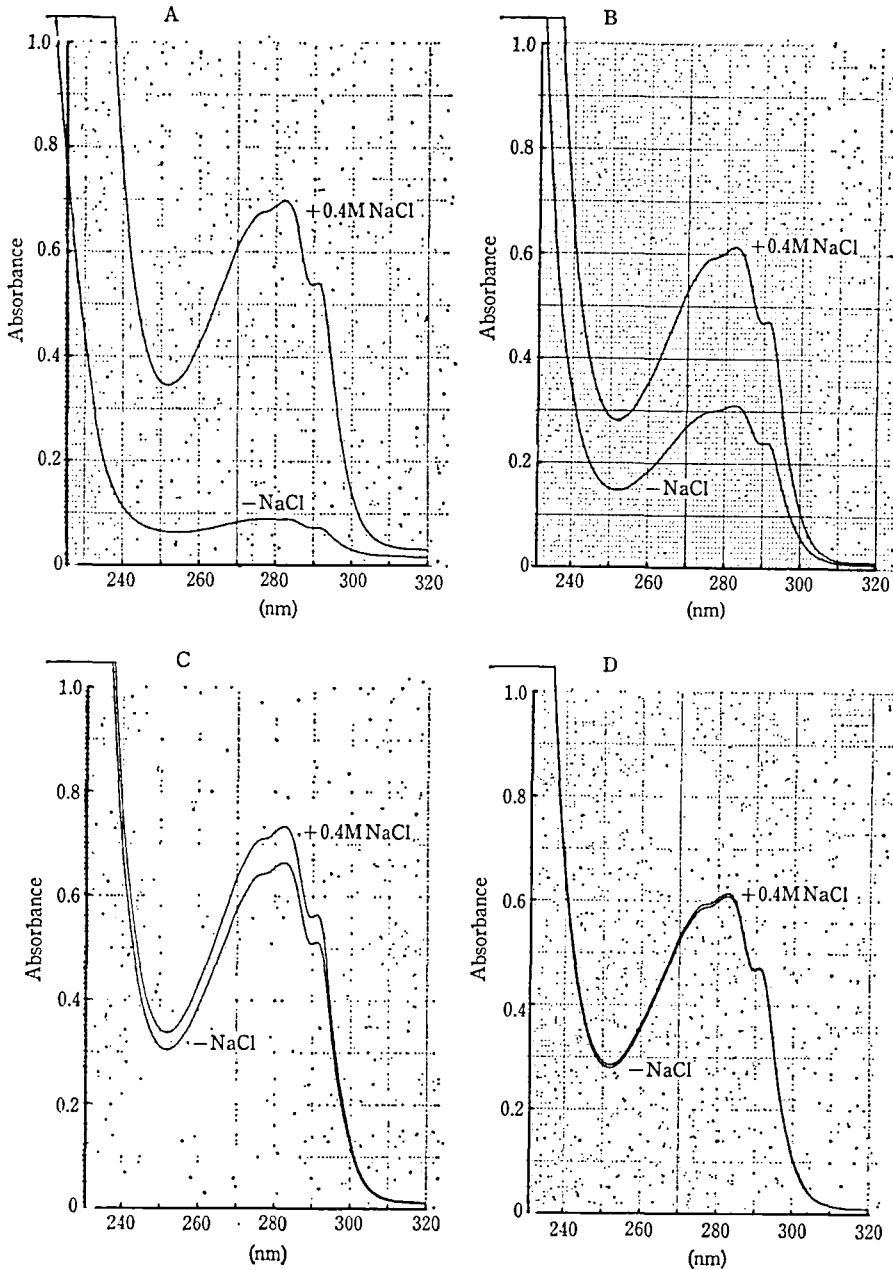


Fig. 1. UV spectra of samples extracted with sodium phosphate buffer (pH 6.2) with or without 0.4 M NaCl

これらの結果から、製剤からのリゾチームの抽出時に抽出溶媒として塩化ナトリウムを含むものと含まないものを用いたとき、両者で力価に差が生じるのは、抽出されるリゾチームの量の差によるものであることが明らかになった。塩化ナトリウムの有無によってリゾチームの抽出量が異なる原因としては、主成分であるリゾチームが不溶性の賦形剤に吸着しているか、あ

るいはリゾチームの溶解度が賦形剤の影響で著しく低下させられているためであろうと推察される。すなわち、これら製剤を塩化ナトリウム含有リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出すると、塩が不溶性賦形剤とリゾチームとの相互作用を弱めるか、あるいは塩溶効果によってリゾチームの溶解度を増大して高力価を示すようになったものと推察される。

上述と同様の定量試験を35社の製品について試みたところ、リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出した場合には、全体の12.2%に相当する6検体が表示量の70%以下の力価を示した。しかし、これらの検体も塩化ナトリウム含有リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で抽出することによって全てが95~110%の力価を示した。

これらのことは各製剤に適した条件で試料溶液を調製すれば、含量規格に適合する結果が得られることを示している。しかしながら、抽出溶媒の違いで力価が変動することは主成分の溶出性に差違があることを意味している。例えば、本実験で使用した製剤Aと製剤Cとを比べたとき、塩化ナトリウム含有リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で溶出を行えば、両者の溶出速度に大きな差は認められないかもしれない。しかし、リン酸塩緩衝液 (pH 6.2) で溶出したときには、製剤Aの溶出速度は製剤Cよりも遅いことが推察される。この溶出速度の違いは、生体に投与したときの有効性に大きく

影響すると推察される。したがって、各製剤間で試料溶液の調製法を含めた定量操作に相違点がある場合には、たとえ定量試験で規格に適合した製剤であっても、それらが一律に医薬品としての同等の品質をもつものであると結論することは早計であり、操作上の相違により生ずる結果の変化が何を意味するかを考察することによって製剤間の品質の差をある程度は比較し、評価することができると思われる。

文 献

- 1) 島田宜治, 芳野 健: 薬局, 29, 29 (1978)
- 2) 竹内節夫: 薬局, 29, 35 (1978)
- 3) 安倍 達: 薬局, 29, 43 (1978)
- 4) 西崎笹夫ら: 衛生試験, 91, 53 (1973)
- 5) 谷本 剛ら: 衛生試験, 96, 103 (1978)
- ✓ 6) D. B. Wetlaufer: *Advan. Prot. Chem.*, 17, 378 (1962)

酵素製剤の定量試験（その2）ブロメライン製剤

谷本 剛・福田秀男・川村次良

Assay of Enzyme Preparations (II) Bromelain Preparations

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA

The bromelain potencies of commercial bromelain tablets (preparation 1, 2 and 3) were measured. The bromelain potencies of preparation 1, 2 and 3 which were extracted with aqueous solution containing 0.03M cysteine and 6 mM EDTA (pH 4.5) (solution A) were 20.8, 21.5 and 94.9% of labeled potency, respectively, whereas these potencies with the same aqueous solution containing 0.4M NaCl (solution B) were 80.1, 74.6 and 98.1%, respectively. Polyacrylamide gel electrophoresis at pH 4 showed that more amounts of basic protein(s) were extracted from preparation 1 with solution B than with solution A. These results suggest that, in the preparations which have shown lower potency as extracted with solution A, bromelain may be adsorbed by the insoluble excipient or may be decreased in solubility due to the presence of excipient and other additives.

(Received May 31, 1980)

ブロメラインはパイナップルの果実、葉茎に含まれるSH-プロテアーゼであり¹⁾、消炎効果や抗浮腫効果をもつことが認められている^{2,3)}。現在、このブロメライン製剤は錠剤として32品目、顆粒剤、カプセル剤として各1品目が市販され、広く抗炎症の目的で臨床的に使用されている。このように同一成分の製剤が多品目市販されている現状においては、いずれの品目を選択するかは大きな関心事であるが、第一義的には最も品質の優れた製剤を選択することである。そのため

には品質評価のための試験を行う必要がある。品質評価のための試験には種々の試験方法があるが、酵素製剤の場合には前報⁴⁾でも述べたように定量試験が品質の評価に大いに役立つ場合がある。著者らは、リゾチーム製剤と同様に市販ブロメライン製剤についても、その定量試験における試料溶液の調製法の違いによって、定量値が大きく異なる製剤の存在することを見出している⁵⁾。今回はその原因を明らかにする目的で、2, 3の検討を行い、若干の知見を得たので報告

する。

実験方法

試料・試液

1. 試料：3種類の市販ブロメリン製剤（錠剤）（10000単位/錠）を使用した。
2. 酵素希釈液：0.1 N 水酸化ナトリウム液又は0.1 N 塩酸を用いて pH 4.5 に調整した 0.03 M システイン及び 6 mM EDTA を含む液を使用した。
3. 基質液：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 に懸濁し、1 N 塩酸で pH 7.0 に調整したのち水を加えて 100 ml とする。
4. 沈殿試薬：0.11 M トリクロル酢酸、0.22 M 酢酸ナトリウム及び 0.33 M 酢酸を含む液を用いた。
5. チロジン標準品：日本薬局方チロジン標準品を用いた。

定量試験

1. 試料溶液の調製法：A法、試料20錠をとり、水で糖衣層などの削皮を洗い落とし、余分の水分をろ紙で除き、乳鉢で酵素希釈液 5 ml を加えてすりつぶし、粥状とした後、メスフラスコに移し、酵素希釈液 100 ml を加えてよく振り混ぜ、更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、得られた上澄液を試料抽出液とする。試料抽出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 として試料溶液とする。なお、試料溶液 1 ml 中に 30~50 ブロメリン単位を含むように調製する。B法、A法における酵素希釈液の代わりに 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。
2. 操作法：試料溶液 1 ml を試験管にとり、37±0.2° に 5 分間保つ。別に 37° に予温した基質液 5 ml を前記の試料溶液中に速かに加え、酵素反応を開始する。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 を加えた後、基質液 5 ml を加えて、以下同様に操作し、吸光度 A₀ 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 µg を含む液を調整し、その吸光度 A_s を水を対照として測定する。

ブロメリン力価(単位/錠)

$$= \frac{A - A_0}{A_s} \times 50 \times \frac{11}{10} \\ \times \frac{\text{試料抽出液の希釈倍数} \times 200}{20}$$

ポリアクリルアミドゲル電気泳動

pH 8 用ゲルを用いた電気泳動は Grossbach⁹⁾ の方法に、また、pH 4 用ゲルを用いた電気泳動は Reisfeld¹⁰⁾ の方法にしたがって行った。試料抽出液 0.1 ml をゲル上端に積層し、ゲル 1 管当たり 3.5 mA で 70 分間泳動した。ゲルはアミドブラック 10 B で染色した。

たん白質の定量

Warburg と Christian⁸⁾ の方法にしたがって、280 nm と 260 nm の吸光度から測定した。

結果と考察

Table 1 に示したように、A法で試料溶液を調製した場合、試料 1, 2 及び 3 はそれぞれ表示量の 20.8%、21.5% 及び 94.9% の力価を示した。0.4 M 塩化ナトリウムを含有する酵素希釈液を用いる B法で試料溶液を調製した場合には、試料 3 は表示量の 98.1% の力価を示し、A法での値とはほぼ同じ値が得られたが、試料 1 及び 2 ではそれぞれ表示量の 80.1% 及び 74.6% の力価が得られ、A法より高い力価を示した。試料 1 及び 2 の 1 錠当たりの溶出たん白質量は A法ではそれぞれ 6.47 mg 及び 4.31 mg であったのが、B法ではそれぞれ 10.2 mg 及び 7.18 mg に増加した。

試料 1 の A法及び B法で得た試料抽出液のポリアクリルアミドゲル電気泳動像及びそのデンストメトリーによるパターンを Fig. 1 に示した。A法で得た試料抽

Table 1. Effect of sodium chloride on the extraction of bromelain from commercial bromelain tablets

Sample	Recovery against labeled amount			
	Method-A (-NaCl)		Method-B (+0.4 M NaCl)	
	Bromelain potency (%)	protein* (mg)	Bromelain potency (%)	protein* (mg)
1	20.8	6.47	80.1	10.2
2	21.5	4.31	74.6	7.18
3	94.9	8.59	98.1	8.05

* The amount of protein was expressed in mg per tablet.

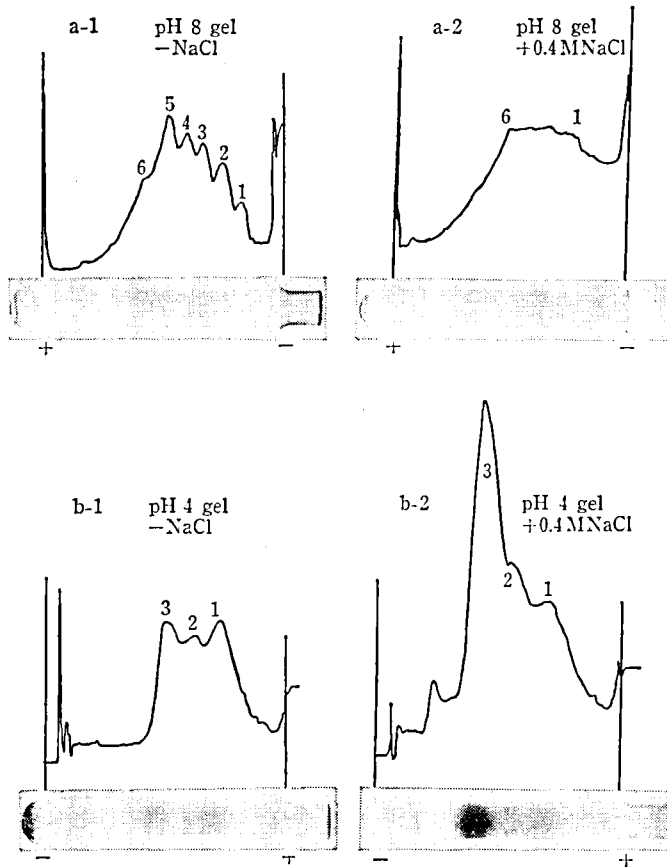


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of the samples extracted with aqueous solution containing 0.03 M cysteine and 6 mM EDTA (pH 4.5) with or without 0.4 M NaCl

出液では pH 8 用ゲルを用いた電気泳動で6本のたん白質染色帯が認められ、pH 4 用ゲルによる電気泳動では3本のたん白質染色帯が認められた。一方、B法で得た試料抽出液を電気泳動すると、pH 8 用ゲルでは明確な染色帯の分離が認められず、幅広い染色帯が認められたのみであり、A法により抽出した場合と比較して、染色帯の濃度の特別な増加はみられなかった。この染色帯が分離しない理由は現在不明である。しかるに、pH 4 用ゲルによる電気泳動では第3染色帯(陰極側に最もよく泳動した染色帯)の著しい増加が認められた。このことは塩によって塩基性たん白質が新たに溶出されてきたことを示している。このような現象は試料2においても全く同様に認められた。

プロメライン製剤に用いられる原料プロメラインは多くの不純たん白質を含む⁹⁾ために、どのたん白質成分が塩によって新たに溶出されてきたかは本実験では不明であるが、医薬品原料として主に利用される葉茎

のプロメラインは塩基性たん白質である⁹⁾ことから、B法で得た試料抽出液の pH 4 用ゲルによる電気泳動における第3染色帯の増加は主にあらたに塩で溶出されたプロメラインによるものと推察された。

以上の結果から考察すると、試料1及び2のA法とB法とで得られた力価の相違は前報⁹⁾で述べたリゾチーム製剤の場合と同じ理由によるものと考えられる。すなわち、主成分であるプロメラインが不溶性賦形剤に強く吸着して酵素希釈液では十分に溶出されなかったものが、塩の存在によってプロメラインと賦形剤との相互作用が弱められて溶出されやすくなったものと考えられ、あるいは賦形剤や主成分中の不純たん白質などの影響によってプロメラインの溶解度が低下していたものが、いわゆる塩溶効果によって溶解度が上昇したためと考えられる。

このように、賦形剤や主成分の純度などによる差違がその製剤からの主成分の溶出あるいは溶解度に大き

く影響する可能性のあることは、薬効という観点からみて重要な意味を含んでいるものと思われる。

文 献

- 1) 山田富美子, 村地 孝: 蛋白質・核酸・酵素, 別冊, 植物酵素・蛋白質研究法. p.217, 共立出版(1976)
- 2) G. J. Martin *et al.*: *Exper. Med. Surg.*, **20**, 227 (1962)
- 3) G. J. Martin: *Nonsteroidal Anti-inflammatory*

Drugs, p. 90 (1965), *Excerpta Medica Found.*, Amsterdam, Holland

- 4) 谷本 剛ら: 衛生試験, **98**, 87 (1980)
- 5) 谷本 剛ら, 衛生試験, **97**, 29 (1979)
- 6) U. Grossbach: *Biochim. Biophys. Acta*, **107**, 180 (1965)
- 7) R.A. Reisfeld *et al.*: *Nature*, **195**, 281 (1962)
- 8) O. Warburg, W. Christian: *Biochem. Z.*, **310**, 384 (1941)
- 9) N. Takahashi *et al.*: *J. Biochem.*, **74**, 355 (1973)

ラットの老化及び四塩化炭素中毒肝における脂質過酸化傾向と脂肪酸構成の変化

三原 翠・近藤龍雄・内山 充

Alterations of Lipid Peroxidation and Fatty Acid Composition of Liver Mitochondria and Microsomes from Rats in Various Age Groups and Carbon Tetrachloride-Intoxication

Midori MIHARA, Tatsuo KONDO and Mitsuru UCHIYAMA

The lipid peroxidation products of rat liver homogenate determined by thiobarbituric acid (TBA) method increased with age up to 40-42 weeks old, but decreased afterwards.

The changes of fatty acid profile in liver particulate fractions with age showed a decrement in arachidonic and docosahexenoic acids and increase in linoleic and oleic acids.

The TBA value of CCl₄-intoxicated liver homogenate increased significantly. The changes of fatty acid pattern in liver lipids due to CCl₄-intoxication were similar to those observed by aged animal, except that no change in docosahexenoic acid content was recognized.

(Received May 31, 1980)

緒 言

生体膜の重要な構成成分あるいは細胞内酵素反応の媒体としての脂質は、多価不飽和脂肪酸に富み、酸素によって容易に酸化を受け、過酸化物を生じる可能性がある¹⁾。そのため生体はグルタチオンや α -トコフェロールなどの抗酸化性物質あるいはパーオキシダーゼなどの酵素によって過酸化物の生成を防いだり²⁾、スーパーオキシドディスムターゼやカタラーゼなどによって活性酸素の発生を抑えたりしている^{3,4)}。

しかし、それらの防御機構が衰えたり障害を受けた時、過酸化物がわずかずつ蓄積して、生体膜などの機能が影響を受けることは充分起こりうることである。

我々は、先に生体組織中の脂質過酸化傾向を測定する方法として、簡便で鋭敏なチオバルビツール酸(TBA)法を改良し、1%リン酸酸性下で反応を行う方

法を報告⁵⁾し、それによって得られるTBA値の変動が、これまで脂質過酸化に起因しているといわれていた四塩化炭素中毒、ビタミンE欠乏症及び老化の進行とよく一致することを報告した⁶⁾。

今回は四塩化炭素中毒及び老化における脂質過酸化傾向と膜の脂肪酸構成比を調べ、興味ある知見を得た。

実験方法

ウィスター系雄性ラットを用い、飼料と水は自由摂取させた。四塩化炭素投与は6~7週令のものに、四塩化炭素(再蒸留品)を0.5 ml/100 g体重の割合で胃ゾンデで1回投与し、24時間後に断頭し、速やかに肝を摘出して実験に供した。老化動物は空調飼育室内において6週令より飼育し、40~42週令、79~85週令の時点で殺し、同様に処理した。摘出した肝は1.15%塩化カリウム溶液を用い、ポッター型ホモジナイザー

Table 1. TBA values of liver subcellular fractions of aged and CCl₄-intoxicated rat

age	whole homogenate	9,000×g pellet	105,000×g pellet
6-7 wk(6)**	5.82±1.82	8.62±3.20	28.66±4.84
40-42 wk(6)	20.66±5.47	12.86±3.10	113.24±25.71
79-85 wk(5)	18.60±12.90	8.71±3.90	39.80±19.30
CCl ₄ * 24 hr(4)	64.80±5.30	29.10±5.42	32.31±7.00

* CCl₄ 0.5 ml/100 g body weight was given orally to 6-7 week-old rats and sacrificed 24 hrs later.

** Number in parenthesis means the number of animals employed.

All values are expressed as mean ± S.D.

Table 2. Comparison of percentage composition of fatty acids of liver subcellular fractions of aged and CCl₄-intoxicated rat*

	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{20:4}	C _{22:6}
9,000×g pellet						
6-7 wk(5)	19.9±0.9	21.2±1.7	6.8±0.5	15.7±0.6	25.5±0.9	9.7±1.1
40-42 wk(3)	22.4±1.3	18.8±0.4	9.3±0.8	17.8±1.2	21.6±0.4	8.7±1.5
79-85 wk(4)	23.4±1.8	18.7±2.0	9.8±1.0	20.1±2.5	19.8±1.3	8.4±0.6
CCl ₄ 24 hr(4)	25.2±2.0	17.5±1.9	12.6±0.2	22.2±1.2	13.5±1.4	9.2±1.3
105,000×g pellet						
6-7 wk(5)	20.0±1.4	24.3±1.4	6.6±1.4	11.8±2.0	26.7±0.8	9.8±0.6
40-42 wk(3)	24.3±3.4	18.4±0.7	9.7±1.0	18.3±3.1	21.6±3.1	7.6±1.2
79-85 wk(4)	23.8±2.5	21.2±2.5	8.9±0.9	18.4±1.9	20.1±1.3	7.7±0.7
CCl ₄ 24 hr(4)	24.1±2.1	19.9±1.5	10.0±1.0	19.2±2.1	17.0±3.0	9.9±1.0

* Experimental conditions were as described for Table 1.

All values are expressed as percentage of total, only major fatty acids were used in calculation.

で10%ホモジネートを調製し、次のように遠心分画を行った。1000×gで10分間遠心後上清を取り、10000×gで10分間遠心後沈殿物を塩化カリウム溶液に懸濁し、9000×gで20分間再遠心して沈殿物を9000×g沈殿とした。別に9000×g上清を105000×gで60分間遠心し105000×g沈殿物を得た。

TBA法は沈殿物を元の10%ホモジネートに相当する量の塩化カリウム溶液に再懸濁し、以下のように行った。すなわちホモジネート液0.5mlを取り1%リン酸3ml、0.6%TBA水溶液1mlを加え、沸騰水浴中45分間加熱し、冷却後n-ブタノール4mlで抽出し、生成した色素を二波長分光光度計で532-520nmの吸光度差を測定し、単位たん白量(g)当りの吸光度をTBA値とした。たん白量はLowryらの方法⁷⁾により測定した。

脂肪酸分析は9000×g沈殿、105000×g沈殿を少量の水で再懸濁し、以下のように行った。まずFolchらの方法⁸⁾で総脂質の抽出を行い、脱水濃縮後、Stoffelらの方法⁹⁾を一部改変してメチル化物を作成した。すなわち濃縮をクロロホルムが少量残る程度にと

どめ、5%メタノール塩酸を加えて室温で2日間放置してエステル変換を行い、n-ヘキサンでメチル化物を抽出してガスクロマトグラフィー用試料とした。ガスクロマトグラフは島津6A型(水素炎イオン化検出器付)を用い、Shinchrom E71をShimalite(80~100メッシュ)に5%となるようにコーティングした2mのカラムで、190~240°, 毎分2°の条件下で昇温分析を行った。

結 果

老化及び四塩化炭素投与ラットの肝の全ホモジネート、9000×g沈殿部、105000×g沈殿部のTBA値をTable 1に示した。

老化に伴ってTBA値は40~42週令までは上昇することを前報⁶⁾で述べたが、それを過ぎると減少し、特に105000×g沈殿部のTBA値の減少は著明である。一方、四塩化炭素投与では全ホモジネートでは大きな値の上昇が認められるが、予想に反し105000×g沈殿部はあまり変化していない¹⁰⁾。

同じ試料について脂肪酸分析を行った結果をTable

2 に示す。

脂肪酸構成の変化は老化に伴い、9000×g 沈殿、105000×g 沈殿共にアラキドン酸 (C_{20:4}) 及びドコサヘキサエン酸 (C_{22:6}) の減少が認められ、リノール酸 (C_{18:2}) 及びオレイン酸 (C_{18:1}) の増加が観察された。四塩化炭素投与の場合はドコサヘキサエン酸の変動以外は老化に伴って現われる各成分の変化と一致した変化を表しており、しかも老化による変化を更に強めた傾向となっている。

考 察

老化に伴って TBA 値が最後まで上昇し続けないことは、脂質過酸化が必ずしも老化と関係していないのではないかとの疑念を生じさせるが、TBA と反応して呈色する物質が、過酸化脂質から生じる経路を考えると納得いく現象である。すなわち、TBA 反応物質は脂質が酸化されてパーオキシドを生じ、さらに環化してエンドパーオキシドになり、これが分解してマロンアルデヒドを生じ、TBA と反応すると考えられている^{11,12)}。この場合 TBA が存在しない場合は、マロンアルデヒドは他の成分、例えばたん白質やアミノ酸などと結合してリポフスチンを生成するといわれている¹³⁾。反応生成物のリポフスチンは age pigment ともいわれ、老化に伴って増加することが知られている。したがって生体内において生成したマロンアルデヒドは、あまり蓄積しないと考えられている。in vitro の実験系では既にこのような現象は観察されており、太幡ら¹⁴⁾はリポフスチンの生成に伴ってマロンアルデヒドの生成が減少することを報告している。

構成脂肪酸の変化は総脂質について行われた分析であるが、一定の傾向が示されているのは興味あることである。老化によるラットの肝の構成脂肪酸の変化は Kirschmann ら¹⁵⁾による報告があり、それによると肝ではヘキサエン酸が月令に伴って大きく減少しており (0, 3, 6 箇月)、テトラエン酸とジエン酸が軽度の減少を示すといっている。一方 Richardson ら¹⁶⁾のラット肝ミトコンドリアの脂肪酸分析の結果と我々の若令の 9000×g 沈殿物の分析結果はよく一致しているが、彼らはドコサヘキサエン酸を検出していない点だけが異なる。我々の実験結果は Kirschmann ら¹⁵⁾と異なり、9000×g 及び 105000×g 沈殿物に分けて分析したので、より鮮明に月令による変化が観察されたと思われる。

四塩化炭素投与による膜構成脂肪酸の変化について

は多くの報告があり¹⁷⁻¹⁹⁾、いずれもアラキドン酸の減少あるいはリノール酸の増加を認めており、ドコサヘキサエン酸については減少あるいは不変の両方の報告がある。一方 Villarruel ら²⁰⁾はラットでは四塩化炭素投与により著しくアラキドン酸が減少するが、マウスでは過酸化脂質量が多いにもかかわらず、構成、脂肪酸に変化はなかったと報告している。したがって今回報告した脂質過酸化傾向の増加と膜構成脂肪酸の変化の一致に動物種差があるかどうかは今後の課題である。

文 献

- 1) A.L. Tappel: *Fed. Proc.*, **32**, 1870 (1973)
- ✓ 2) P.B. McCay, D.D. Gilbson, K.L. Fong, K.R. Hornbrook: *Biochim. Biophys. Acta*, **431**, 459 (1976)
- 3) 真杉文紀, 中村哲也: 医学のあゆみ, **96**, 429 (1976)
- 4) 浅田浩二: 蛋白質・核酸・酵素, **23**, 42 (1978)
- ✓ 5) M. Mihara, M. Uchiyama: *Anal. Biochem.*, **86**, 271 (1978)
- ▽ 6) M. Mihara, M. Uchiyama: *Biochem. Med.*, **23**, 302 (1980)
- ✓ 7) O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Furr, R.J. Randall: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- ✓ 8) J. Folch, M. Lees, G.H.S. Stanley: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- ✓ 9) W. Stoffel, F. Chu, E.H. Ahrens, Jr.: *Anal. Chem.*, **31**, 307 (1959)
- 10) 三原 翠, 内山 充: 過酸化脂質研究, **3**, 印刷中 (1979)
- ✓ 11) L.K. Dahle, E.C. Hill, R.T. Holman: *Arch. Biochem. Biophys.*, **98**, 253 (1962)
- ✓ 12) W.A. Pryor, J.P. Stanley, E. Blair: *Lipids*, **11**, 370 (1976)
- ✓ 13) C.J. Dillard, A.L. Tappel: *Lipids*, **6**, 715 (1971)
- 14) 太幡利一, 余田和明, 武井 泰, 飯尾利弘: 薬誌, **99**, 711 (1979)
- ✓ 15) J.C. Kirschman, J.G. Coniglio: *Arch. Biochem. Biophys.*, **93**, 297 (1961)
- ✓ 16) T. Richardson, A.L. Tappel, E.H. Gruger, Jr.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**, 1 (1961)
- ✓ 17) C.C. Weddle, K.R. Hornbrook, P.B. McCay: *J. Biol. Chem.*, **254**, 4973 (1976)
- ✓ 18) D.S. Sgoutas: *Metabolism*, **16**, 382 (1967)
- ✓ 19) A. Benedetti, A.F. Casini, M. Ferrali, M. Comporti: *Chem. Biol. Interactions*, **17**, 167 (1977)
- ✓ 20) M. Villarruel, E.G.D. DeTorazo, J. A. Castro: *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **14**, 193 (1976)

チェリー中の総臭素の定量法の検討

鈴木 隆・武田明治・内山 充

Investigation of the Quantitative Analytical Method for Total Bromide in Cherry

Takashi SUZUKI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The effect of co-existence of salt on the determination of total bromide in cherry was examined. The consumption of sodium thiosulfate standard solution by both of bromide and iodide was first determined on the solution prepared by alkali-fusion of sample and subsequent neutralization with sulfuric acid. Amount of iodide was separately titrated after oxidation at different pH using the same solution. The difference of the above two determinations was employed as the amount of bromide only. Co-existence of much amount of salt after alkali-fusion gave the diverse effect on iodometry. The mean concentration of total bromide in the imported cherry performed by the improved method was 5.5 ppm.

(Received May, 31, 1980)

ま え が き

一般に農作物にくん蒸施用された臭化メチルは植物組織と接触した際に容易に分解され、またその揮発性とも相まって2~3日で消失する¹⁾。このため自然のバックグラウンドによるものと人為的に散布したものととの区別がつきにくく、許容量の設定に当たってはそのほとんどが総臭素量によっている。

総臭素量の定量法には種々の方法²⁾があるが、食品の分析などのように広範囲の共存物質を含む場合には使用しうる方法が限られている。一方、小麦中の臭素の定量法は食品衛生法³⁾に記載されているが、この場合にはヨウ素を含めた分析値として表され、真の臭素量とは言い難い。

今回、著者らはチェリー中の総臭素を測定する目的で、アルカリ熔融により総臭素を無機臭素とし、ヨウ素滴定法により臭素とヨウ素を分別定量する方法について検討を行った。

実験方法

1. 試料

チェリーは輸入品を用いた。

2. 試薬

次亜塩素酸ナトリウム溶液：日曹ハイクロン-S 120 gを乳ばちで粉末化した後、水 500 mlを加えてかき混ぜた。この溶液に無水炭酸ナトリウム 5g (温湯 500 ml 溶液)を加え、十分にかき混ぜた後、ひだろ紙で自然ろ過し、ろ液の一部をとり、ヨウ素滴定法で次亜塩素酸ナトリウム溶液の濃度を求め、残りを水で希釈

して2N溶液とした。また市販の次亜塩素酸ナトリウム溶液は水で希釈して2N溶液として使用した。

0.005 N チオ硫酸ナトリウム標準液(標準液)：チオ硫酸ナトリウムを水に溶かして0.1 N 保存溶液を調製した(ヨウ素滴定法により0.1 N 重クロム酸カリウム標準液で標定)。用時この10 mlを煮沸した水で200 mlとして使用した。

デンプン指示薬：溶性デンプン 2gを2 mlの水に懸濁した後、沸とう水 400 mlを加えてかき混ぜ、1分間沸とうさせた後、0.25gのサリチル酸を保存剤として加えて調製した。

ギ酸ナトリウム溶液：40gを水で100 mlとした。

ヨウ化カリウム溶液：50gを水で100 mlとした。

メチルレッド指示薬：0.1gを0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 4 mlに溶解し、水で100 mlとした。

モリブデン酸アンモニウム溶液：1gを水で100 mlとした。

臭素標準液(臭素として10 ppm, 臭化カリウム使用)、ヨウ素標準液(ヨウ素として10 ppm, ヨウ化カリウム使用)、6N 硫酸、水酸化ナトリウム、2.5%水酸化カリウム-エタノール：以上いずれも特級品もしくはこれを用いて調製した。

3. 器具及び装置

ルツボ：ニッケル製(100 ml)

電気炉：池田理化(株)製, MFP 400 N

ホモジナイザー：日本精機(株)製

4. 実験操作

1) 灰化

試料の種子を除いた後、ホモジナイズし、この10g

を 100 ml の広口共せん付三角フラスコに量り込み、これに 2.5% 水酸化カリウム-エタノール溶液 40 ml を加え、密栓して一晩放置した。その後、内容物をルツボに移し、残留物は少量の水で洗い込んだ。砂浴上で緩やかに加温して徐々にエタノールを留去し、ほとんど乾固した後、水酸化ナトリウム 9 g を加え、電気炉中で 300° まで温度を上げた。その後 30 分に 50° の速度で温度を上げ、600° に達した後、75 分間加熱を継続した。加熱終了後、直ちに電気炉より取り出して 2~3 分間放冷し、ついで注意して水 60 ml を加え、アルカリ溶解物を溶解した（溶解し難い場合は水浴上加温しながら行った）。内容物を 500 ml のビーカーに移した後、6 N 硫酸 35 ml を加えて半中和し、ついで砂浴上で加温して約 80 ml に濃縮し、ろ紙上でろした後、水で 100 ml 定容として試験溶液を調製した。

2) 臭素含量及びヨウ素含量の合計量の測定

試験溶液 50 ml を 100 ml の広口共せん付三角フラスコに取り、メチルレッド試液 2 滴を加え（赤色）、これに 6 N 硫酸を加えて一旦酸性とした後（通常 2~3 ml を要した）、5% 水酸化ナトリウム溶液で淡黄色を呈するまで中和した。これに 2 N 次亜塩素酸ナトリウム溶液 2.5 ml を加え、1 N 硫酸で pH 7~8.3^{*1} とし、沸とう水中に 10 分間浸漬して臭素イオン及びヨウ素イオンを各々臭素酸イオン及びヨウ素酸イオンに酸化した。次にギ酸ナトリウム溶液 1 ml 及び 1 N 硫酸を計算量加えて、pH 3~7^{*2} にして、沸とう水中に 5 分間浸漬して過量の次亜塩素酸ナトリウムを分解した。冷後、モリブデン酸アンモニウム溶液数滴、ヨウ化ナトリウム溶液 1 ml 及び 6 N 硫酸 3 ml を加え、暗所に 10 分間放置した後、遊離したヨウ素を滴定終了直前にデンプン指示薬 0.5 ml を加えて標準液で滴定した。空試験値の補正をして臭素イオン及びヨウ素イオンの合計量を求めた。

3) ヨウ素含量のみの測定

2) で使用した残りの試験溶液 50 ml を 100 ml の共せん付三角フラスコに取り、これに 1 N 硫酸を計算量^{*3} 加え、ついで次亜塩素酸ナトリウム溶液 1 ml を加えて pH を 1.3~2.0 にした後、沸とう水中に 5 分間浸漬してヨウ素イオンのみをヨウ素酸イオンに酸化した。次にギ酸ナトリウム溶液 5 ml を加え、沸とう

水中に 5 分間浸漬して過量の次亜塩素酸ナトリウムを分解した。冷後モリブデン酸アンモニウム溶液数滴、ヨウ化ナトリウム溶液 1 ml 及び 6 N 硫酸 3 ml を加え、暗所に 10 分間放置した後、遊離したヨウ素を滴定終了直前にデンプン指示薬 0.5 ml を加えて標準液で滴定し、空試験値の補正をしてヨウ素イオン量を求めた。

結果及び考察

1. 製法の異なる次亜塩素酸ナトリウムの空試験値に及ぼす影響

食品衛生法³⁾ では低い空試験値を得るために、塩酸あるいは次亜塩素酸ナトリウムを調製するのに 6 N 塩酸を蒸留して精製し、この塩酸から次亜塩素酸ナトリウムを調製するのがよいとしている。しかしながら、この方法はいくつかの行程を経なければならず手数がかかる。そこで著者らはサラン粉より調製したものの、国産 2 社の、各々 2 N 溶液を用いて試験溶液として水 50 ml を用い、実験操作の項にしたがって実験を行い、消費した標準液量を調べ、その結果を Table 1 に示した。この結果サラン粉から調製した次亜塩素酸ナトリウムが最も低い空試験値を与えた。理由は明らかではないが、内海ら⁵⁾ もまたサラン粉から低空試験値の次亜塩素酸ナトリウムを得ている。太秦ら⁴⁾ は空試験値の増大を次亜塩素酸ナトリウム中に含まれる臭素によるとしているが、内海ら⁵⁾ は次亜塩素酸ナトリウムの分解が不十分なことによるとしている。しかしながら、結果は次亜塩素酸ナトリウムの由来の相違が明確に現われており、太秦ら⁴⁾ の説が一部正しいことを示しているものと考えられる。

2. 中和剤としての塩酸及び硫酸の相違

百川ら⁶⁾ は魚肉練製品中の臭素塩の定量に際して、アルカリ溶解物を中和するのに 6 N 塩酸の代わりに 6 N 硫酸を使用したほうが空試験値を減少させる上で

Table 1. Effect of sodium hypochlorite solution from various origins on background value

Origin	Consumed 0.005 N Na ₂ S ₂ O ₃ (ml)
Nisso Hichlon-S	0.50
Sodium hypochlorite solution (Kokusen Kagaku Co. Ltd.)	1.10
Sodium hypochlorite solution (Wako Junyaku Co. Ltd.)	1.60

*1 あらかじめ pH 7~8.3 とするのに必要な 1 N 硫酸の量を実測しておく。

*2 あらかじめ pH 3~7 とするのに必要な 1 N 硫酸の量を実測しておく。

*3 次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えたときの pH が 1.3~2.0 になるようにあらかじめ測定しておく。

Table 2. Effect of neutralizing reagents on background value

Neutralizing reagent	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml)
None	0.40
6 N HCl*	2.61
6 N H_2SO_4 *	0.47

* In place of alkali-fusion product, 5 g of NaOH was used.

Table 3. Effect of salt on the consumption of sodium thiosulfate standard solution

Salt origin	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 150 μg of Br (ml)
None	4.32
HCl*	4.22
H_2SO_4 *	4.15

* In place of alkali-fusion product, 5 g of NaOH was used and the values indicated were subtracted the blank value.

有利であるとしている。著者らの実験においても、アルカリ溶解物の中和に多量の酸を必要とすることから、試験溶液として (a) 水、(b) 水酸化ナトリウム 5 g の 6 N 塩酸による中和液 (塩酸中和液)、(c) 水酸化ナトリウム 5 g の 6 N 硫酸による中和液 (硫酸中和液) の各々 50 ml を用いて実験操作の項にしたがって操作し、消費する標準液の量を調べた (Table 2)。この結果 (b) のみに空試験値の増大が認められた。

次に標準液消費量に与える塩の影響を調べる目的で、(a)、(b) 及び (c) の各試験溶液に臭素イオン 150 μg を添加し、標準液の消費量を比較した (Table 3)。この結果、(a) に比べて (b) 及び (c) では明らかに標準液消費量が減少し、塩の妨害効果が認められた。

3. 臭素及びヨウ素イオンの次亜塩素酸ナトリウムによる酸化反応に及ぼす塩類の影響

次亜塩素酸ナトリウムで臭素イオン及びヨウ素イオンを各々臭素酸イオン及びヨウ素酸イオンに酸化するときの pH 条件、ギ酸ナトリウムで過量の次亜塩素酸ナトリウムを分解するときの pH 条件並びにこの際のギ酸ナトリウムの量、臭素酸イオン及びヨウ素酸イオンの安定性については内海ら⁵⁾ により詳細に検討されている。そこでこれらの実験条件が多量の塩の共存によりどのような影響を受けるかについて検討した。その結果、次亜塩素酸ナトリウムによる酸化条件下 (pH 7.7) においてヨウ素イオンのヨウ素酸への酸化は、塩

Table 4. Effect of salt on the oxidation of iodide ion with sodium hypochlorite at pH 7.7

Neutralizing reagent	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 150 μg of I (ml)
None	2.79
H_2SO_4 *	2.75

* In place of alkali-fusion product, 5 g of NaOH was used.

Table 5. Effect of salt on the oxidation of bromide or iodide ion with sodium hypochlorite at pH 1.5

Neutralizing reagent	Added Br (μg)	Added I (μg)	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml)
None	150	0	0.03
None	0	150	2.76
H_2SO_4 *	150	0	0.19
H_2SO_4 *	0	150	2.69

* In place of alkali fusion product, 5 g of NaOH was used and the values indicated were subtracted the blank values.

の有無に関係しないことが明らかとなった (Table 4)。

次に pH 1.5 で臭素並びにヨウ素イオンの酸化を行った。水中の臭素イオンはこの条件下ではほとんど酸化されないが、塩類の共存下において標準液 0.19 ml を消費した (Table 5)。この理由は明らかにしえなかったが、ヨウ素の定量に対して臭素が存在した場合、ヨウ素の定量値にブランク値を与え、その結果臭素の定量値は実際よりもいくぶん低くなることが予想される。

4. モリブデン酸アンモニウムの添加の必要性の有無

臭素酸イオンのヨウ素滴定法での反応を促進する目的で、Kolthoff⁷⁾ はモリブデン酸アンモニウムを使用している。一方、内海ら⁵⁾ は分解のために加えるギ酸ナトリウムの量からしてモリブデン酸アンモニウムの添加の必要はないとしている。そこで著者らは高濃度の塩の共存下において、モリブデン酸アンモニウムの有無が反応にどのような影響を及ぼすかを調べる目的で、塩の有無の標準液の消費量との関係を検討し、その結果を Table 6 に示した。この結果試験溶液が水のように塩を含有しない場合は内海ら⁵⁾ のいうように、モリブデン酸アンモニウムの添加の必要性は認められなかった。しかし硫酸中和液やアルカリ溶解後の

Table 6. Effect of ammonium molybdate on sodium thiosulfate standard solution consumption

Neutralizing reagent	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 150 μg of Br (ml)	
	-Mo	+Mo
None	4.32	4.32
H_2SO_4^*	3.45	4.05

* In place of alkali-fusion product, 5 g of NaOH was used and the values indicated were subtracted the blank value.

Table 7. Effect of reaction time after the addition of potassium iodide on consumption of sodium thiosulfate standard solution

Neutralizing reagent	Consumed 0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 150 μg of Br (ml)			
	Time (min)	10	20	40
None	4.40	4.32	4.34	
H_2SO_4^*	4.15	4.18	4.11	

* In place of alkali-fusion product, 5 g of NaOH was used and the values indicated were subtracted the blank value.

試験溶液のように、高濃度に塩を含有する試験溶液にあっては添加する必要があった。

5. ヨウ化カリウム添加後、遊離ヨウ素滴定までの放置時間の滴定値に及ぼす影響

結果 2 で述べたように、塩の共存下の標準液の消費量は塩のない場合に比べていくぶん低いことが示されたが、反応時間との関係を調べる目的で、ヨウ化カリウム溶液添加後、各々 10, 20, 40 分後に滴定を行った (Table 7)。この結果、10~40 分間の放置時間内では滴定値に変化がないことが判明した。

6. 次亜塩素酸ナトリウムとの反応時における緩衝剤の添加の必要性の有無

食品衛生法による臭素試験法³⁾並びに百川ら⁶⁾は次亜塩素酸ナトリウムで臭素を酸化する際に、pH を 7 から 8.3 に調整するのにリン酸ナトリウム溶液を加えている。一方、内海ら⁵⁾は次亜塩素酸ナトリウムに塩酸を加えてできる次亜塩素酸ナトリウムと次亜塩素酸の緩衝作用を利用できることから、リン酸ナトリウムの添加の必要はないとしている。著者らはこれらの問題が多量の塩の共存下においてどのように変化するかについて調べた。Fig. 1 に (a) 水、(b) 水酸ナトリウムの硫酸中和液及び (c) アルカリ溶解物の硫酸中和液

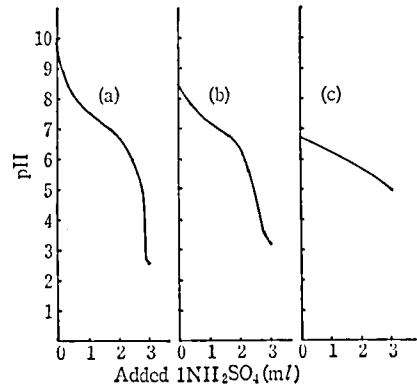


Fig. 1. Titration curves of test solutions after addition of sodium hypochlorite

(a) H_2O ; (b) NaOH (5 g) + 6 N H_2SO_4 ; (c) KOH (0.5 g) + NaOH (4.5 g), after alkali fusion 6 N H_2SO_4 was added.

Table 8. Recovery test of organic and inorganic bromide from cherry

Addition	Recovery (%)
Inorganic Br	92.5
Br CH_2CH_3	71.8
Br $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$	47.8

150 μg of Br as bromide compound were added to 10g of cherry.

の各々についての 1 N 硫酸による滴定曲線を示した。(a) 及び (b) の場合は内海ら⁵⁾が塩酸を用いた場合と同様に、次亜塩素酸及び次亜塩素酸ナトリウムによる緩衝作用が強く現われており、リン酸ナトリウムの添加の必要性は認められない。また (c) においては測定した全領域にわたって、更に強い緩衝作用が認められた。以上の結果から緩衝剤の添加は必要ないものと考えられる。

7. 無機及び有機臭素化合物の回収率

Mapes ら⁸⁾はアルカリ溶解する場合、水酸化カリウム-エタノールではエチレンジブロミド中の臭素 1 原子しか分解出来ず、エタノールアミンで分解することを推奨しており、食品衛生法³⁾でもこれを採用している。一方、著者らは分析対象がチェリー中の臭化メチルであること、並びに実際に分析するものの大部分が無機臭素と考えられる²⁾ことから、2.5% 水酸化カリウムエタノール溶液を加え、密栓して一晩放置した後、アルカリ溶解する方法について検討した。Table 8 に無機臭素、臭化エチル⁴⁾及びエチレンジブロミドをチェリーに添加した場合の回収率を示した。無機臭素は

Table 9. Total bromide in the imported cherry

Sample No.	Total Br (ppm)
1	5.6
2	8.6
3	7.9
4	5.6
5	6.0
6	5.6
7	5.1
8	3.6
9	4.4
10	4.9
11	3.4

92.5%と好収率で回収されたが、有機臭素化合物のうち臭化エチルは72%、エチレンジブロミドは予想通り1原子のみが無機化された。

以上のことから、臭素の定量値はまず臭素及びヨウ素の合計の滴定値を求め、これから空試験値及びヨウ素イオンのみの滴定値を差し引くことによって求めた。なお著者らの実験では空試験値は標準液 0.4~0.5 ml であった。

8. チェリー中の総臭素の分析

Table 9 に昭和53, 54年度の輸入チェリーの分析結果を示した。分析値は平均で 5.5 ppm, 最低で 3.4 ppm から最高で 8.6 ppm の間にあった。一方, Getzendauner ら⁹⁾はチェリー中の天然由来の臭素のバックグラウンド値は 0, くん蒸した試料については総臭素量 7~9 ppm と報告している。今回の著者らの分析結果は後者の値よりいくぶん低い値を示した。

結 論

1) 次亜塩素酸ナトリウムの由来により、これが各々の空試験値に及ぼす影響は異なっていた。市販の既

** 臭化メチルは常温で気体であるので、取扱いに不便であることから臭化エチルでもって代用した。

製の次亜塩素酸ナトリウムよりも、サラン粉から調製したもののほうが低い空試験値を示した。

2) 中和剤として用いた場合、硫酸は塩酸に比べて低い空試験値を与えた。しかしながら、いずれの場合も共存する高濃度の塩は妨害した。そしてこれらはヨウ化カリウム添加後、滴定までの時間の長短に関係しなかった。

3) 臭素の存在は塩の共存下においてヨウ素イオンの滴定値に対して多少の妨害を起こすことが認められた。

4) 高濃度の塩が存在する場合には反応促進剤としてモリブデン酸アンモニウムの添加の必要があった。

5) 次亜塩素酸ナトリウムでの酸化の際、緩衝剤の添加の必要は認められなかった。

6) 無機臭素の添加回収実験では回収率92.5%とほぼ満足すべき結果が得られた。

7) 輸入チェリー中の総臭素を分析した結果 3.4~8.6 ppm の間にあった。

文 献

- ✓ 1) F. P. W. Winteringham, A. Harrison, R. G. Bridges, P. M. Bridges: *J. Sci. Food Agr.*, **5**, 251 (1955)
- ✓ 2) M. E. Getzendauner: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **58**, 711 (1975)
- 3) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生六法, p. 171 (1977), 新日本法規(株)
- 4) 太秦康光, 西村雅吉, 那須義和：分析化学, **8**, 231 (1959)
- 5) 内海 喩, 奥谷忠雄, 田村善藏, 岩崎岩次：分析化学, **12**, 951 (1963)
- 6) 百川 滉, 日向やよい, 堺 敬一：食衛誌, **20**, 49 (1979)
- 7) Kolthoff, H. Yutzy: *2nd. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **9**, 75 (1937)
- ✓ 8) D. A. Mapes, S. A. Shrader: *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.*, **40**, 189 (1957)
- ✓ 9) M. E. Getzendauner, H. H. Richardson: *J. Agr. Food Chem.*, **14**, 59 (1966)

溶媒抽出-フレイムレス原子吸光法による粉乳中のカドミウム及び銅の分析

鈴木 隆・武田明治・内山 充

Analysis of Cadmium and Copper in the Powdered Milk Products by Solvent
Extraction-Flameless Atomic Absorption Spectrometry

Takashi SUZUKI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The method of determination of cadmium and copper in the powdered milk was investigated by combination of sodium diethyldithiocarbamic acid (DDTC)-methylisobutylketone extraction system and flameless atomic absorption spectrometer equipped with a carbon tube atomizer. The results of examination of ashing and atomizing conditions revealed the importance of ashing conditions and the sensitivity was 0.4 ppb (cadmium) and 5 ppb (copper) to 1% absorption, respectively. The co-existence of chelating metals with DDTC showed fairly large interference depending on their amount. The effect of pH on extraction efficiency and the stabilities of these metal complex were also examined. It was possible to determine these metals by calibration method when this method was applied to the analysis of cadmium and copper in the powdered milk. The result of examination of the powdered milk commercially available shows that the content of cadmium is less than 10 ppb and of copper between 0.19 and 0.72 ppm, respectively.

(Received May 31, 1980)

緒 言

種々の金属を共通した方法で分析することは、限られた時間内に多数の試料を処理する上で非常に有利である。著者らは先にジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC)/メチルイソブチルケトン (MIBK) 抽出-フレイムレス原子吸光法 (FLA) によるビスマス及び鉛の分析法につき報告¹⁾したが、今回本法がカドミウム及び銅の分析に適用しうるか否かについて、特に炭素管アトマイザー中での灰化、原子化条件、共存イオンの影響などに重点をおいて検討した。更に市販特殊調製粉乳 (粉乳) 中のこれらの金属の分析もあわせ行った。

試薬及び装置

1. 試薬

DDTC 試液, MIBK, 10% クエン酸アンモニウム試液, 硝酸, 0.5 N 硝酸, 6 N 塩酸及びメタクレゾールパープル試液: いずれも前報¹⁾に準じて調製した。

飽和硫酸アンモニウム試液: 市販原子吸光分析用試薬 45 g を脱イオン蒸留水 100 ml に溶解した後, DDTC 処理して含有する微量の金属を除き使用に供した。

カドミウム及び銅標準液: 市販原子吸光分析用試薬

(1 mg/ml) を用時 0.5 N 硝酸で希釈して用いた。

2. 装置

原子吸光装置, 炭素管アトマイザー, アトマイザー注入用マイクロピペット, 電気炉, ホットプレート, 並びにシェーカー: 前報¹⁾参照。

カドミウム及び銅中空陰極ランプ: 日立製作所製

実験方法

1. 試料の前処理

前報¹⁾に準じて行った。

2. 抽出操作

目的金属イオンを含む試験溶液 (カドミウム ≤ 8 ng, 銅 ≤ 160 ng) を内容積 10 ml の共せん付試験管にカドミウムについては 2 ml, 銅については 0.5 ml を各々採取し, これにクエン酸アンモニウム溶液 2 ml, メタクレゾールパープル試液 1 滴を加えた後, アンモニア水でわずかに紫色を呈するまで中和した。各々飽和硫酸アンモニウム溶液 2 ml, DDTC 溶液 2 ml を加え軽く振り混ぜた後, MIBK 2 ml を加え, 5 分間, シェーカーで激しく振り混ぜた後, 静置した。

3. 原子吸光測定操作

操作は前報¹⁾に準じて行った。

4. 試験溶液

種々の試験溶液について原子化条件, 抽出条件及び

共存塩の影響などを検討した。次に検討した試験溶液の種類を示す。(a)カドミウム及び銅標準液 (b)上記(a)標準液を抽出操作した MIBK 試験溶液 (c)上記(a)標準液に粉乳灰分を添加し、抽出操作した MIBK 試験溶液 (d)上記(a)標準液に塩酸で除鉄した粉乳灰分を添加し、抽出操作した MIBK 試験溶液。

結果及び考察

1. 灰化温度並びに時間

カドミウム：炭素管アトマイザー中での灰化条件について次のような検討を行った。試験溶液 (b) (カド

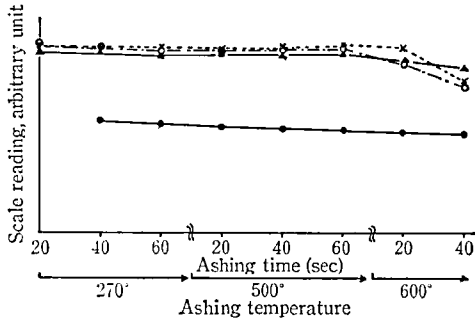


Fig. 1. Effect of ashing conditions on Cd determination

Cd standard (3 ppb in 0.5 N HNO₃): ○—○, extracted with MIBK; ▲—▲, extracted with MIBK (0.4 g milk eq. ash added); ×—×, extracted with MIBK [0.4 g milk eq. ash (treated with MIBK-6 N HCl) added]; ●—●, untreated

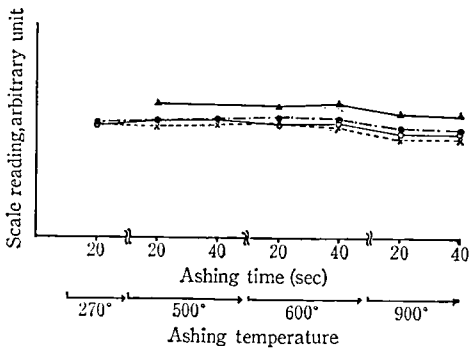


Fig. 2. Effect of ashing conditions on Cu determination

Cu standard (50 ppb in 0.5 NHNO₃): ●—●, extracted with MIBK; ○—○, extracted with MIBK (0.1 g milk eq. ash added); ×—×, extracted with MIBK [0.1 g milk eq. ash (treated with MIBK-6 N HCl) added]; ▲—▲, untreated; Drying: 15°C, 20 sec; Atomizing: 10 V, 12 sec

ミウム, 3 ppb) 20 μl を炭素管に注入して150°, 20秒の条件下で溶媒を蒸発させた後、灰化温度と時間を種々変化させ、次に原子化電圧 8V (2200°), 5秒間で原子化を行い、吸光値に対する影響を検討し、その結果を Fig. 1 に示した。灰化温度及び灰化時間がそれぞれ 500°, 60秒以下で MIBK 抽出群 [試験溶液 (b), (c) 及び (d)] は最大・一定・同程度の吸光値が得られた。一方、抽出操作を行わない試験溶液 (a) を注入した場合は、MIBK 抽出群と比べて6割程度の吸光値しか得られなかった。

以上のことから炭素管アトマイザーで試料を灰化する温度と時間を500°, 20秒と設定し、以下この条件で実験を行った。

銅：乾燥、原子化温度並びに原子化時間をそれぞれ一定にしたとき、灰化温度及び灰化時間の吸光値に及ぼす影響を Fig. 2 に示した。試験溶液 (b), (c) 及び (d) は 600°, 20秒迄、ほぼ最高・一定・同程度の吸光値を与え、それ以上の温度、時間では徐々に減少する。一方、試験溶液 (a) では試験溶液 (b), (c) 及び (d) より大きな吸光値を与えた。種々の食品を扱う際に、灰化温度はできうる限り高いほうがバックグラウンドを除く意味からも有利であることから、以後の実験では600°, 20秒と設定した。

2. 原子化温度及び原子化時間

カドミウム：試料の灰化温度並びに灰化時間を一定にして原子化電圧 (温度) のみを変化させた時の試験溶液 (a), (b), (c) 及び (d) の吸光値の変化を Fig. 3 に

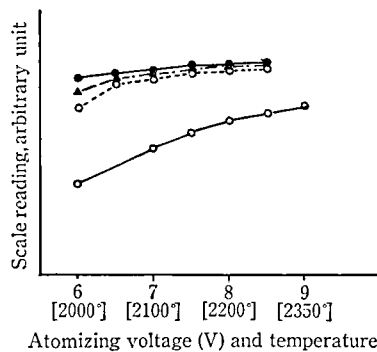


Fig. 3. Effect of atomizing voltage on Cd determination

Cd standard (3 ppb in 0.5 N HNO₃): ○—○, extracted with MIBK; ●—●, extracted with MIBK (0.4 g milk eq. ash added); ▲—▲, extracted with MIBK [0.4 g milk eq. ash (treated with MIBK-6 N HCl) added]; ○—○, untreated; Drying: 15°C, 20 sec; Ashing: 90°C, 25 sec. Atomizing: 5 sec

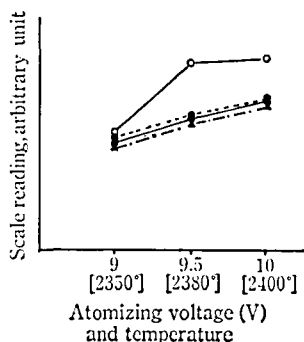


Fig. 4. Effect of Atomizing voltage on Cu determination

Cu standard (50 ppb in 0.5 N HNO_3): ●—●, extracted with MIBK; ▲—▲, extracted with MIBK (0.4 g milk eq. ash added); ●—●, extracted with MIBK [0.1 g milk eq. ash (treated with MIBK-6 N HCl) added]; ○—○, untreated; Drying: 150°, 20 sec; Ashing: 500°, 20 sec Atomizing: 12 sec

示した。これからすると、いずれの試験溶液においても原子化電圧（温度）の高いほうが大きな吸光値を示したが、試験溶液(b), (c)及び(d)は7.5 V (2100°) から8.5 V (2300°) で最高・一定・同程度の吸光値が得られた。一方、富永²⁾は吸光値は原子化電圧の増加とともに一旦増大し、ある特定電圧で最高値に達した後、減少すると報告している。このことは著者らの得た結果と一致しないが、その理由の一つはアトマイザーの機構的相異に基づくものと推定される。

またカドミウムは原子化が比較的容易な元素であり、一般に炭素管アトマイザーでは1500°前後で原子化されている。しかし本実験結果と安定した吸光値及び高い感度を得る目的から原子化電圧は7.5 V (2100°) とした。また著者らの条件下でレコーダーのペンがもとの位置に復帰するのに要する時間は約4秒であった。炭素管の消耗、次回の注入迄の待時間などを考えれば、原子化時間の短い方が有利であることは言を待たないが、炭素管のクリーニングの時間も考慮に入れて原子化時間は6秒とした。

銅：前項Iで設定した灰化時間及び灰化温度で、原子化電圧（温度）を9 V (2350°) から10 V (2400°) まで変化させた場合の吸光値の変化を試験溶液(a), (b), (c)及び(d)の各々について検討し、その結果をFig. 4に示した。これによると吸光値の増加は原子化電圧の増加にほぼ比例しているが、試験溶液(b), (c)及び(d)では同一原子化電圧（温度）では同一の吸光値を与えた。したがって以後の実験では、本装置で上げる

Table 1. Operating condition

Condition	Metal	
	Cd	Cu
Wave length (nm)	228.8	342.8
Lamp current (mA)	8	10
Drying temp.	150°	150°
Drying time (sec)	20	20
Asing time (sec)	25	20
Atomizing Vol(V)[temp.]	7.5[2100°]	10[2400°]
Atomizing time (sec)	6	12

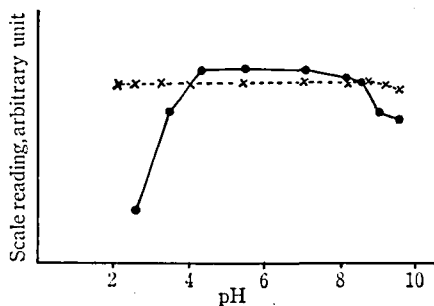


Fig. 5. Effect of pH on extraction efficiency of Cd and Cu

●—●, Cd standard (3 ppb)
×—×, Cu standard (50 ppb)

最高の電圧10 V (2400°) に設定して行うこととした。またこの条件下ではレコーダーのペンがもとの位置に復帰するのに約8秒を要した。よって以後原子化時間を12秒と設定した。

以上の結果から得られた原子吸光測定之最適条件をTable 1に示す。

3. 抽出条件の検討

カドミウム抽出時のキレート剤として菅野³⁾は、DDTCとピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(APDC)を詳細に比較検討し、いずれの面においてもDDTCがすぐれていると報告している。このこととDDTCが有機溶媒にほとんど不溶であることをも考慮に入れて、炭素管フレームレス原子吸光法のための抽出用キレート剤としてDDTC、また抽出溶媒としてはMIBKを用いることとした。またカドミウム及び銅のDDTC抽出には、一般に硫酸アンモニウムの添加が望ましいとされている⁴⁾ことから塩析剤としてこれを添加した。

またDDTC-MIBK溶媒抽出の際のpHの影響については既に詳細に検討されているが⁵⁻⁷⁾、フレーム

Table 2. Interference of other elements

Metal	Added compound	Interference (%)					
		Cd ^{a)}			Cu ^{b)}		
		100-fold	1000-fold	5000-fold	100-fold	1000-fold	5000-fold
Fe	FeSO ₄	0 ^{c)}	0	0	0	-13	-24
Zn	ZnCl ₂	0	0	0	0	0	0
Cu	CuSO ₄	0	-8	-9	—	—	—
Ni	NiSO ₄	0	0	-6	0	-7	-15
Co	CoCl ₂	0	0	-6	0	-28	-53
Mn	MnSO ₄	0	0	0	0	0	-6
Pb	Pb(NO ₃) ₂	0	0	0	0	0	0
Ca	CaCl ₂	0	0	0	0	0	0
Al	Al ₂ (SO ₄) ₃	0	0	0	0	0	0
PO ₄ ³⁻	H ₃ PO ₄	0	0	0	0	0	0
Mg	MgCl ₂	0	0	0	0	0	0
SiO ₃ ²⁻	Na ₂ SiO ₃	0	0	0	0	0	0
Cr ⁶⁺	K ₂ Cr ₂ O ₇	0	0	0	0	0	0

a) Cd: 3 ppb, b) Cu: 50 ppb, c) The values less than 4% were defined as zero.

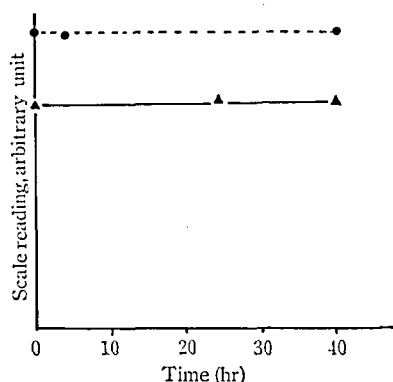


Fig. 6. Time stability of extracted metal complex

●---●, Cd standard (3 ppb)
▲---▲, Cu standard (50 ppb)

ス原子吸光法が超微量を対象とすることから新たに検討を行った。Fig. 5 にその結果を示した。これからカドミウムでは pH5 から 8 付近まで、銅では pH2 から 9 付近まで、ほぼ一定して吸光値が得られた。したがって前報¹⁾での鉛、ビスマスなどの場合と同様 pH 8 付近に変色域を持つメタクレゾールパープルを指示薬として使用することとした。なお抽出の際に振り混ぜる時間は前報¹⁾と同様 5 分とした。

一方、DDTC-MIBK 抽出したキレート化合物の安定性を Fig. 6 に示した。カドミウム及び銅のいずれも、直射日光を避けて日陰で 2 液相を分離せずに 40 時

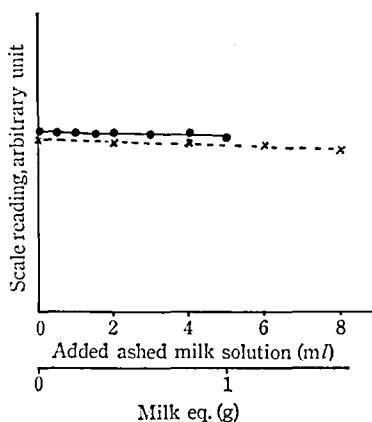


Fig. 7. Effect of milk ash content on determination of Cd and Cu

×---×, Cd standard (3 ppb in 0.5 N HNO₃)
●---●, Cu standard (50 ppb in 0.5 N HNO₃)

間、室温で放置しても、吸光値にほとんど変化は見られなかった。これは菅野ら³⁾のフレイム原子吸光法の場合の試料溶液の安定性に関する結果と良く一致する。

4. 検量線、感度並びに検出限界

以上の結果をもとにして検量線を作成した。この結果 20 μl 注入でカドミウムでは 4 ppb、銅では 80 ppb まで、各々良好な直線性を示した。本法の感度 (1% 吸収) はカドミウムが 0.2 ppb、銅が 5 ppb であった。検出限界 (S/N=2) はカドミウムが 0.4 ppb、銅

Table 3. Recovery of cadmium and copper from the modified powdered milk

Metal	Residue (ppm)	Added (ppm)	Found (ppm)	Recovery ^{a)} (%)
Cd	0.002	0.02	0.021	96
Cu	0.18	0.50	0.67	97

a) Means of 5 experiments

Table 4. Content of cadmium and copper in the modified powdered milk products

Sample No.	Cd (ppm)	Cu (ppm)
1	<0.01	0.30
2	<0.01	0.30
3	<0.01	0.28
4	<0.01	0.19
5	<0.01	0.33
6	<0.01	0.24
7	<0.01	0.66
8	<0.01	0.72
9	<0.01	0.58
10	<0.01	0.23

a) All products were made in 1976 and all values indicate the means of 3 experiments.

が 18 ppb であった。抽出操作を含めた10回の繰り返し実験によって精度を求めた結果、変動係数 (C. V.) として各々カドミウムで 1.8%、銅で 2.2% が得られた。

5. 共存塩の影響

抽出操作及び実験方法にしたがってカドミウム及び銅を抽出定量する場合問題となる通常食品中に含有される種々の金属塩類の影響について検討した。Table 2にカドミウム 3 ppb 及び銅 50 ppb の場合について種々の金属が100倍量、1000倍量及び5000倍量共存した場合の吸光値の増加(+)又は減少(-)を百分率(%)で示した。カドミウム及び銅の吸光値の変化が本実験で得られた変動係数を考慮して、4%以下の場合には0%とした。銅及びビスマスの場合と同様、アルカリ土類金属塩は大量に共存しても妨害しないが、DDTCとキレート生成能の大きな金属イオンの共存により各々の吸光値は減少した。なおこれが抽出率の低下によるものか、原子化の抑制によるものであるかは明らかでないが、今迄抽出を抑制する⁸⁾と言われていた鉄、マンガン、亜鉛、銅のうち、カドミウムに関しては少なくとも鉄、亜鉛、マンガン及び銅については亜鉛及びマンガンによる抽出率の低下は問題にならないもの

と考えられる。

6. 実試料への応用

- 1) 試料の採取：前報¹⁾に準じて行った。
- 2) 試料の灰化：前報¹⁾に準じて行った。
- 3) 灰分含量の影響：粉乳 5.0 g を前法¹⁾に従い灰化した後、25 ml 定容とした(0.5 N HNO₃ 溶液)。次にこの灰分をカドミウム及び銅の標準液に添加し、実験操作で述べた方法により抽出、原子吸光法を行った場合の吸光値の変化を調べた (Fig. 7)。この結果灰分添加量を増加しても吸光値の変化はほとんど認められなかった。このことは本法が粉乳中の ppb レベルのカドミウム並びに数10 ppb レベルの銅の分析に耐えうることを示すものである。
- 4) 添加回収実験：粉乳 5.0 g を硬質ピーカーに採取し、これにカドミウムを 0.02 ppm、銅を 0.5 ppm の濃度に標準液を添加した後、前述の抽出操作及び原子吸光測定操作にしたがって定量した。結果は Table 3 のとおりで、カドミウムが96%、銅が97%と、共に満足すべき回収率が得られた。
- 5) 実試料の分析：市販粉乳の分析結果を Table 4 に示した。カドミウムはいずれも 10 ppb 以下、銅は 0.1 ppm から 0.8 ppm の間にあった。

結 語

- (1) ppb レベルのカドミウム並びに数10 ppb レベルの銅の分析が容易に行い得る。
- (2) 炭素管アトマイザーの灰化条件を選択することにより、共存イオンの影響をある程度抑えることができる。また DDTC-MIBK でキレート抽出可能な金属の共存は、その存在量に応じて吸光値の減少をもたらす。
- (3) キレート抽出時の pH はカドミウムでは5から8、銅では2から9まで、ほぼ一定した吸光値を与えた。またいずれも直射日光を避け、室温で40時間放置しても一定であった。
- (4) 本法を粉乳中のカドミウム及び銅の分析に応用した場合、標準添加法を用いる必要がなく、検量線法で十分精度よく定量が可能であった。
- (5) 市販粉乳の実態調査の結果は、カドミウムはいずれも 10 ppb 以下、銅は 0.1 ppm から 0.8 ppm の間にあった。

文 献

- 1) 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 20, 198 (1979)
- 2) 富永 衛, 木村 明, 宮崎 章, 梅崎芳美: 分

- 析化学, 24, 61 (1975)
- 3) 菅野三郎, 福井昭三, 節田節子, 内藤昭治, 金子幹宏, 松崎淳三: 衛生化学, 17, 24 (1971)
- 4) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, p.294 (1973) 金原出版
- 5) E.A. Childs, J.N. Gaffke: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 57, 360 (1974)
- 6) R.J. Everson, H. E. Parker: *Anal. Chem.*, 46, 1966 (1974)
- 7) 見城尚義, 野田勝彦, 高橋 勉: 食衛誌, 15, 481 (1974)
- 8) 提 忠一, 油化学, 25, 629 (1976)

プラスチックに関する衛生化学的研究 (第4報)

2,4-トルエンジアミンのボルタンメトリー・高速液体クロマトグラフィー及び窒素・リン検出器付ガスクロマトグラフィーによる分析法の検討

辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄

Hygienic Chemical Studies on Plastics (IV)

Analysis of 2,4-Toluene Diamine by High Performance Liquid Chromatography with Voltammetry Detector and Gas-Liquid Chromatography with Nitrogen-phosphorous Detector

Takashi TATSUNO, Takiko INOUE and Akio TANIMURA

2,4-Toluene diamine (TDA) is converted to toluene diisocyanate (TDI) in the synthesis of polyurethanes. And this substance is also an intermediate of some synthetic dyes used for pigments, textiles and spirit varnished.

Recently, National Cancer Institute in U.S.A. reported that 2,4-TDA induced tumors in hepatocellular or neoplastic nodules of rat and mice.

Analysis of 2,4-TDA migrated from packaging materials of retort-pouch into water was attempted by high performance liquid chromatography with voltammetric detector (VMD-HPLC) and by gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorous detector (NPD-GLC).

By these methods, 2,4- and 2,6-TDA could be separated and minimum detectable amounts for 2,4-TDA were 0.5 ng and 1 ng by VMD-HPLC and by NPD-GLC, respectively.

Results of determination of 2,4-TDA migrated from marketing samples into water were not detectable (less than 1 ppb).

(Received May 31, 1980)

まえがき

2,4-トルエンジアミン (2,4-TDA) に発ガン性のあることが報告¹⁾されている。この化合物はポリウレタンの原料であるトルエンジイソシアネート (TDI) の合成の中間生成物であり、また TDI は加水分解によって TDA にもどる。

さて、高温・高圧殺菌食品 (レトルト食品) 用包装材料である積層フィルムの接着剤にはポリウレタン系接着剤が多く用いられており、殺菌工程での苛酷な条件によって内層フィルムを通過して、接着剤に由来する TDA が食品中へ移行することも考えられる。

一般に用いられる TDA は 2,4- と 2,6- の異性体があり、従来の TDA の分析は両者をジアゾカップリン

グによる比色法²⁾を用いて分離することなく定量していた。また TDA はパルスポーラログラフによる分析も可能であるが、両異性体の半波電位が接近しているために同時定量はできない³⁾。

著者らは TDA がパルスポーラログラフ法で分析できることから、ボルタンメトリー検出器 (VMD) を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いることにより TDA の 2つの異性体を分離・定量できることを推定し、検討したところ、十分に満足のいく結果が得られた。

また C-N 結合に有効な窒素・リン検出器 (NPD) を具備したガスクロマトグラフ (GLC) を用いて、TDA の分離・定量を行い、VMD-HPLC 法と同様に有効な手法であることを確認したので併せて報告する。

実験の部

1. 使用機器

VMD-HPLC: 柳本製高速液体クロマトグラフ L-2000 に同社製 VMD-101 を接続したもの。

NPD-GLC: Hewlett-Packard 社 GC 7510 A に同社製 NPD を接続したもの。

2. 試薬

TDA 標準溶液: 2,4-及び 2,6-TDA 各 100 mg を水に溶かして 1 l とした。

溶出液: リン酸 2 水素ナトリウム (2 水化物) (特級) 15.6 g を水に溶かして 1 l とし, リン酸 (特級) を滴加して pH 3.0 に調整した。

3. 試料

市販されているレトルト食品用包装材を用いた。積層材料は次の組合せであり, 同容積 200 ml, 内表面積 162 cm² のものである。

Sample A, B: PET*1/Al foil/PE*2

Sample C, D: PET/PE

*1 PET: Polyethyleneterephthalate

*2 PE: Polyethylene

4. VMD-HPLC 法の検討

Table 1 の条件に設定した HPLC に 20 μ l の TDA 混合液 (各 TDA 約 10 ng を含む) を注入し, VMD の加電圧を +0.2 ~ +1.0 V まで変化させて, 加電圧を設定するための検討を行った。

5. NPD-GLC 法の検討

Table 1. Conditions of HPLC method

Detector: VMD
Column: YANACO ODS(10 μ) 25 cm, 4 mm I.D.
elute solution: 0.1 M NaH ₂ PO ₄ solution (pH 3.0) 0.8 ml/min
set potential: +0.2 ~ +1.0 V (vs S.C.E.)

Table 2 に示す条件で, TDA の分離, 定量を検討した。

6. 試験溶液の調製

試験品に一定量の水を入れて, 密封したのち, 121° で 2 時間, 又は 132° で 30 分間, 殺菌処理を行った。

冷後, 内容液 (900 ~ 1000 ml) をクデルナ・ダニッシュ装置に移し, 塩酸 1 ml を加えて, ゆっくりと濃縮した (このときのキャピラリーは極く細いものとして, 減圧蒸留と同様に行った)。液量が 10 ml 程度になるまで濃縮し, HPLC の場合はこの液を試験溶液とした。

GLC 用試験溶液は, 濃縮液をアンモニア水で中和し, 分液ロートに移し, ジクロルメタン 50 ml を加えて, 3 回抽出した。ついでジクロルメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水した。この液をロータリーエバポレーターでほとんど液のなくなるまで濃縮し, その後窒素ガスを吹きつけて, ほとんど乾固し, メタノールで 1 ml とした。

試験検査及び考察

1. VMD-HPLC 法について

VMD の加電圧は Table 3 に示すように, 一定の電解電流値が得られる電圧は +0.800 V (対極・銀電極) 以上であり, その後の実験には +1.000 V を用いた。

また Fig. 1 に示したように 2,6-TDA 10 ng のピーク高さは約 190 mm, 2,4-TDA 10 ng は 80 mm である。今 1 ppb の TDA 標準溶液を 100 倍濃縮して得られる 0.1 ppm 溶液 20 μ l を注入した場合 2,6-TDA では 40 mm, 2,4-TDA では 16 mm のピーク高さを表わすこととなる。

2. NPD-GLC について

カラムについての条件の検討で, A の場合は B の場合に比べて分離が好適であった。しかし HPLC 法よりは分離が悪かった。またカラム・オープン温度はカ

Table 2. Conditions of NPD-GLC

Condition	Column	temp.	Gas
A) 5% Benton 34 15% SP-80 3% KOH	Chromosorb W-AW (60-80 mesh) 0.9 m x 4 mm I.D.	oven; 200° inj. port; 250° detector; 250°	N ₂ 10 ml/min H ₂ 3 ml/min air 60 ml/min
B) 5% Thermone 1000 3% KOH	Chromosorb W-AW (DMCS) (60-80 mesh) 1.8 x 4 mm I.D.	oven; 200° inj. port; 250° detector; 250°	N ₂ 10 ml/min H ₂ 3 ml/min air 60 ml/min

Table 3. Relation between peak height (electrolyte current) and set potential (vs Ag. AgCl Electrolyte)

Set potential (V)	Peak height (mm)	
	2,4-TDA	2,6-TDA
0.200	—	—
0.300	—	—
0.400	—	—
0.500	34	—
0.600	70	34
0.700	80	71
0.800	88	88
0.900	90	94
1.000	92	95

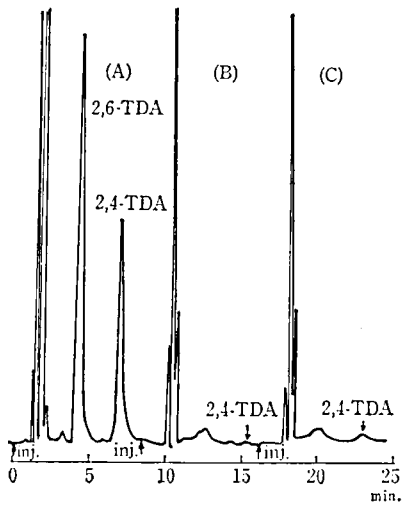


Fig. 1. VMD-HPLC Chromatograms of TDA
Column: YANACO ODS 10 μ 25 cm, 4 mm I.D.

elute soln.: 0.1 M NaH_2PO_4 soln. (pH 3.0) 80 ml/min

(A) Std. soln. (2,4-TDA 12.5 ng, 2,6-TDA 10.6 ng)

(B) Sample A (132°-30 min)

(C) Sample B (121°-120 min)

ラム充填剤の限界温度ギリギリであることから、劣化が早く、実用には不向きと見られた。

Fig. 2 は NPD-G クロマトグラムであり、TDA の検出限界は 2,4-TDA で 2.5 ng, 2,6-TDA で 2.6 ng 程度である。したがって 1000 倍濃縮を行う NPD-GLC 法の場合は 1 ppb の試験溶液でも十分に検知可能である。

3. 回収率について

以上の 2 方法による試験溶液の調製操作における回

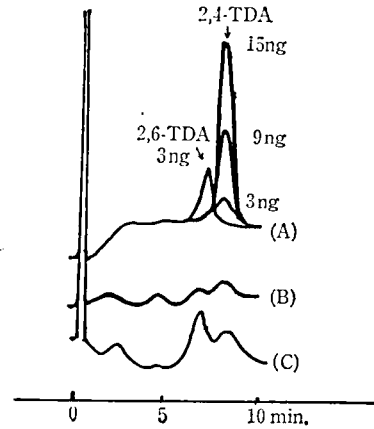


Fig. 2. NPD-Gaschromatograms of 2,4 and 2,6-TDA of (A), (B) and (C)

(A) Standard soln.

(B) Sample soln. (121°-2 hr)

(C) Sample soln. (132°-30 min)

Table 4. Comparison of recovery of 2,4-TDA by two methods

Method	Added (μg)	Found (μg)	Recovery (%)
VMD-HPLC	10	9.5	95
	20	19.2	96
NPD-GLC	10	8.9	89
	20	18.1	90.5

Table 5. Results of migration test of 2,4-TDA from marketing samples

Sample	Condition of Retort	Peak height of test soln.	2,4-TDA in extract soln.
A	121°-2 hr	4.5 mm	<1 ppb
B	"	4.2	<1
C	"	6.0	<1
D	"	5.2	<1
A	132°-30 min	3.0	<1
B	"	4.0	<1
C	"	5.0	<1
D	"	5.4	<1
Std. soln.	121°-2 hr	16.0	1

収率は Table 4 に示すとおりであった。

以上の結果から、VMD-HPLC は NPD-GLC より分析時間、回収率の両面ですぐれているといえる。

4. 市販包装材からの溶出について

市場にある高温・高圧殺菌用包装材について 2,4-TDA の内容への移行を VMD-HPLC と法により検

討した結果を Table 5 に示す。試験溶液中に検出された 2,4-TDA 量は 0.03~0.06 $\mu\text{g}/1\text{ ml}$ であり、結果として市販包装材からの内容液への移行は 1 ppb 以下であった。

ま と め

TDA の分析には、VMD-HPLC 及び NPD-GLC の両方法とも有効な手段であり、前者は 1 ng、後者は 2.5 ng まで検知できた。しかし試験溶液の調製などの操作を考えると、前者は後者より容易な手段であ

る。また 2,4- 及び 2,6- の 2 つの異性体の分離も HPLC 法の方が良好であった。

VMD-HPLC 法で、市場にある高温・高圧殺菌食品用包装材から溶出する 2,4-TDA を分析した結果、内容液への移行は 1 ppb 以下であった。

文 献

- 1) CAS No. 95-80-7, NCI-CG-TR162 (1979)
- ✓ 2) K. Marcali: *Anal. Chem.*, **29**, 552 (1957)
- 3) *Food Chemical News*, **21**, 23, Aug. 20 (1979)

プラスチックに関する衛生化学的研究 (第5報) ABS 樹脂と AS 樹脂からのアクリロニトリルの長期溶出試験

辰濃 隆・井上たき子・谷村顕雄

Hygienic Chemical Studies on Plastics (V)

Migration of Acrylonitrile from Acrylonitrile-Butadiene-Styrene Copolymer and Acrylonitrile-Styrene Copolymer into Various Food Simulating Solvents in Long Period

Takashi TATSUNO, Takiko INOUE and Akio TANIURA

This paper described the migration of acrylonitrile (AN) from acrylonitrile-butadiene-styrene copolymer (ABS) and acrylonitrile-styrene copolymer (PAS) into various food simulating solvents in long period.

The test conditions were as follows: food simulating solvent, water, 4% acetic acid, 20% ethanol, n-heptane and olive oil; temperature, room temperature and 40°; duration, 10 days to 6 months. The migrated AN was determined by gasliquid chromatography with nitrogen-phosphorous detector.

From the results of the test, it was suggested that a content of AN in ABS and PAS wares for long storage of food should be controlled to be less than 10 ppm, and these wares should not be used for alcoholic foods.

(Received May 31, 1980)

ま え が き

アクリロニトリル (AN) を原料とする樹脂のうち、わが国ではアクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体である ABS 樹脂とアクリロニトリル・スチレン共重合体の AS 樹脂があり、それらの食品関係での用途は主に食品と短時間の接触が考えられるコップやケース類、電気製品の一部品などである。このような食品と短時間接触する材料と材質中の AN 含量との関連は前報¹⁾で報告した。

しかし、時代の歩みとともに ABS, AS 両樹脂が液体食品の長期保存容器として用いられる場合、アクリロニトリルを原料の 70% 以上使用するハイアクリロニトリル樹脂と同じように AN の移行問題が考えられ、既に Brown らによって 1~2 例が報告²⁾されている。

本報では、長期保存を目的とする液体食品容器としての適否を材質中の残存 AN とその溶出について検討し、判断を行うための資料とするために実施した。

実 験 の 部

1. 使用機器及び試薬

窒素・リン検出器付ガスクロマトグラフ (NPD-GLC): Hewlett-Parkard 社製 GC 5710 A に NPD を付属させたもの。

食品擬似溶媒: 蒸留水, 4%酢酸, 20%エタノール及び n-ヘプタン

オリーブ油: 日本薬局方品

AN 標準溶液: AN(含量 98%以上, 東京化成製)をアセトン又は水でうすめて 0.05~10 ppm の範囲としたもの。

2. 試料及び試験溶液の調製

AN を約 10, 50, 100 ppm 含有するように ABS, AS

Table 1. Contents of AN in the samples used for the migration test

Kind of plastics	Contents of AN(ppm)
ABS-1	7
2	51
3	83
PAS-1	10
2	57
3	108

Table 2. Migrated AN into food simulating solvents 180 days

Sample	Temp.	migrated AN(ppm)		
		water	4% acetic acid	20% ethanol
ABS-1	r. t. *1	ND*2	ND	0.09
2		0.11	0.25	0.43
3		0.55	0.74	1.02
PAS-1		0.07	0.07	0.09
2		0.11	0.18	0.32
3		0.12	0.34	0.48
ABS-1	40°	0.07	0.12	0.17
2		0.55	0.72	1.08
3		1.57	1.65	2.03
PAS-1		0.15	0.15	0.22
2		0.14	0.18	0.64
3		0.82	0.85	1.14

*1 room temperature, *2 ND: <0.05 ppm

両樹脂の試料を調製し、厚さ 0.6 mm のシートを製作した。これらのシート中に含まれる AN 量を Table 1 に示す。

これらのシートを 100 ml の共栓試験管に入るように切断し、その中に入れ、ついで試料の表面積 1 cm² 当たり 2 ml の割合で食品擬似溶媒を加えた。密栓して、室温及び 40° で一定時間放置した。試料溶液採取日は 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180 日とした。

3. AN の測定

前報で用いた方法¹⁾で、NPD-GLC の条件は次のとおりである。

検出器：NPD

カラム：クロモソルブ 101 (80~100 mesh) 長さ 180 cm, 内径 4 mm, ガラスカラム

温度：カラムオープン 160°, 注入口部 250°, 検出器部 250°

ガス：キャリアーガス；窒素 10 ml/min, 燃料ガス；水素 3 ml/min, 空気 60 ml/min

注入量：3 μl

感度：range 1, attenuation 4~128

検量線は上記の条件で、絶体検量線法で作製した。直線性は 0.05~5.0 ppm 溶液間で認められ、検出限界は 0.05 ppm であった。

試験結果及び考察

1. 樹脂と AN の溶出について

Fig. 1~5 に見られるように ABS 樹脂は AS 樹脂より AN を溶出しやすい傾向があるが、AN 残留量の少ない場合は逆転している。Table 2 に 6 箇月目の溶出量を示す。

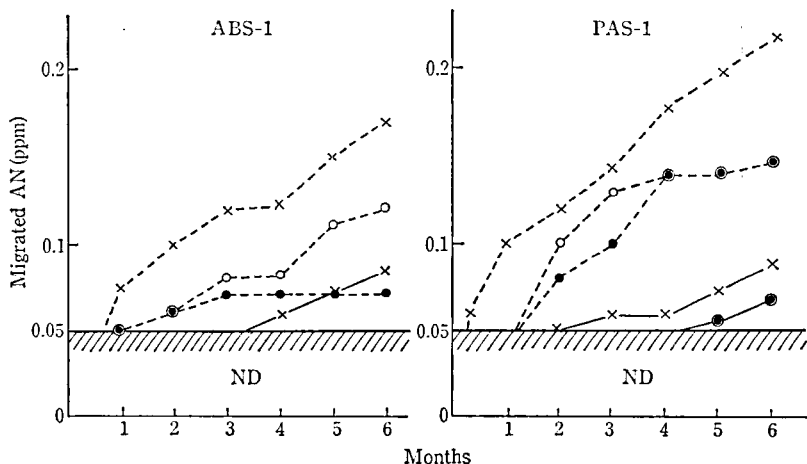


Fig. 1. Migration of AN from Samples at Room temp. (—) and 40° (---) into Water (●), 4% HOAc (○) and 20% EtOH (x)

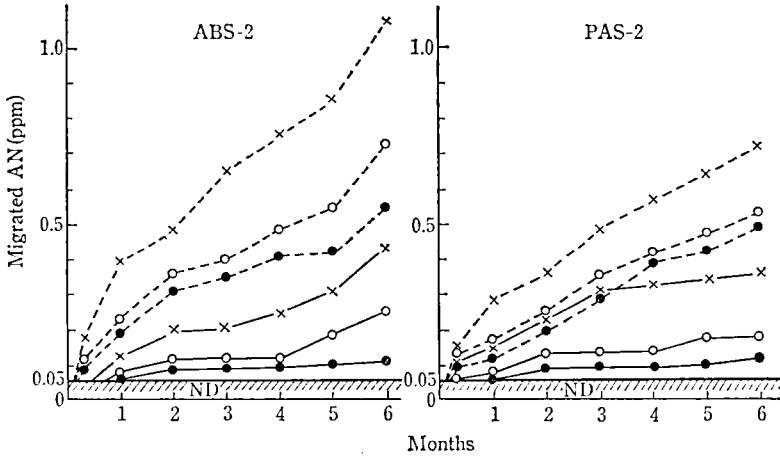


Fig. 2. Migration of AN from Samples at Room temp. (—) and 40° (---) into Water (●), 4% HOAc (○) and 20% EtOH (×)

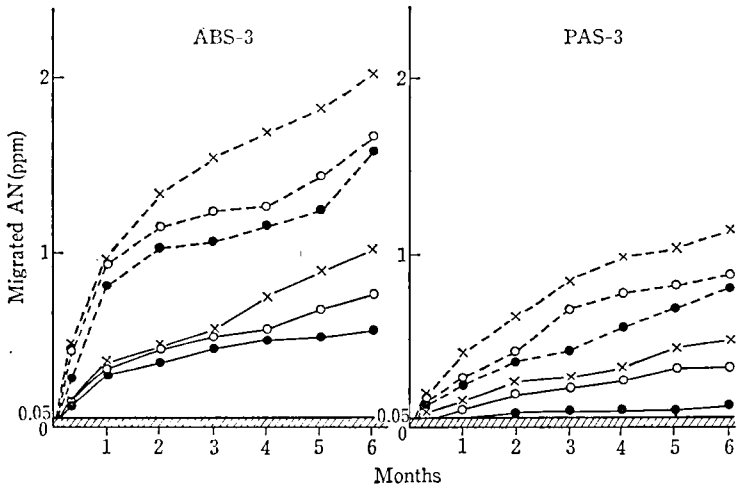


Fig. 3. Migration of AN from Samples at Room temp. (—) and 40° (---) into Water (●), 4% HOAc (○) and 20% EtOH (×)

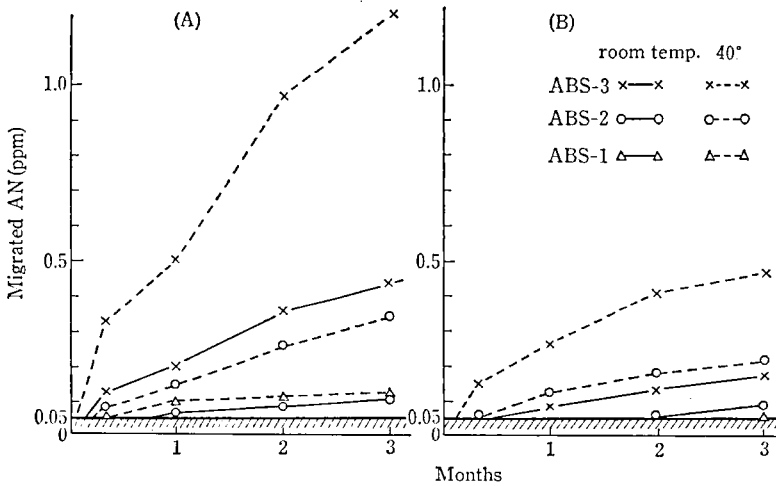


Fig. 4. Migration of AN from ABS resin into *n*-heptane (A) and Olive oil (B)

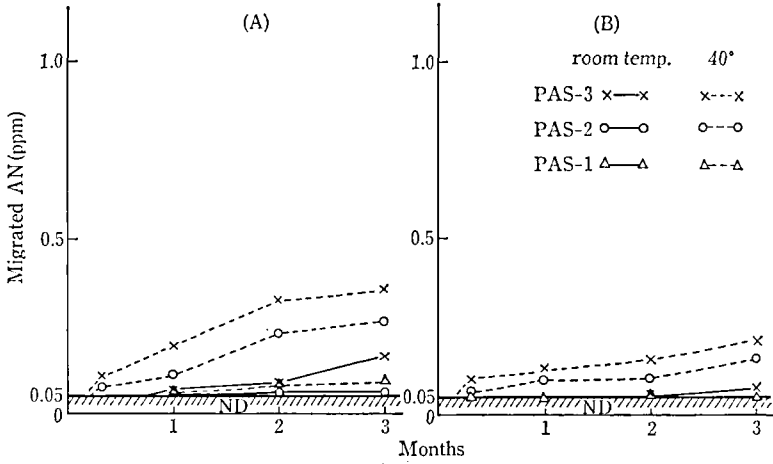


Fig. 5. Migration of AN from PAS resin into *n*-heptane (A) and olive oil (B)

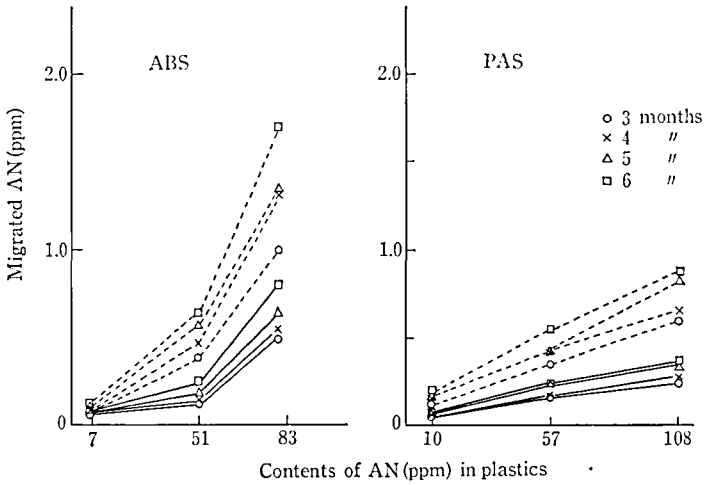


Fig. 6. Migration of AN from Samples at room temp. (—) and 40° (---) into Water

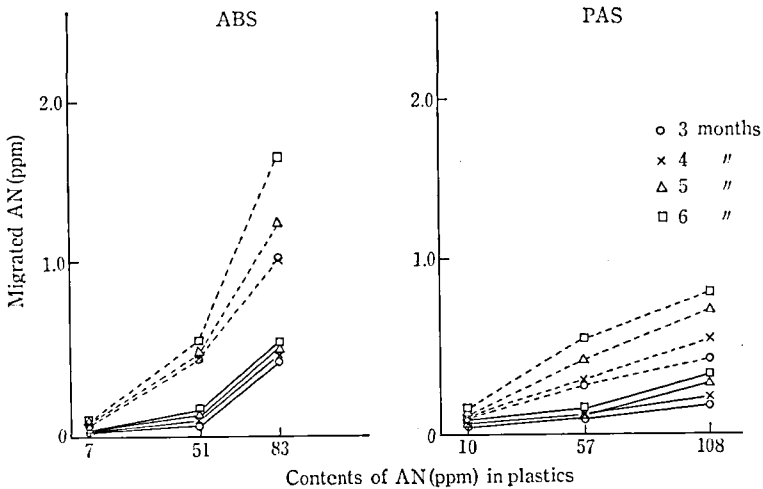


Fig. 7. Migration of AN from Sample at room temp. (—) and 40° (---) into 4% acetic acid

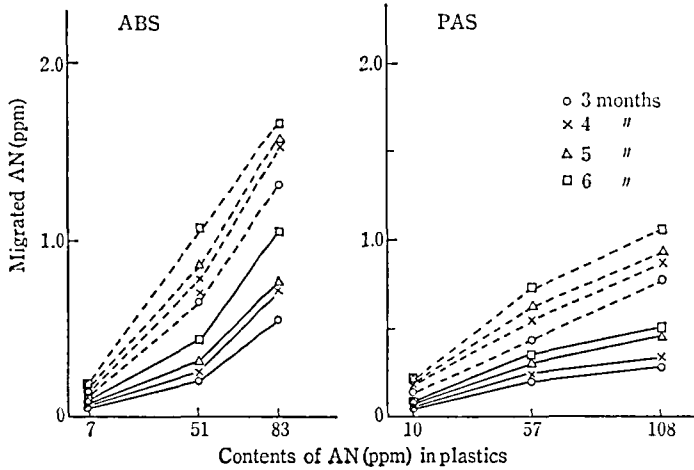


Fig. 8. Migration of AN from Samples at room temp. (—) and 40°(---) into 20% ethanol

Table 3. Migrated AN into food simulating solvent from ABS on two storage conditions

Sample	content of AN in sample (ppm)	solvent	migrated AN(ppm)	
			3 months at room temp.	10 days at 40°
ABS-1	7	water	ND	ND
		4% HOAc	ND	ND
		20% EtOH	ND	ND
		n-Heptane	ND	ND
		olive oil	ND	ND
ABS-2	51	water	(0.07-0.11)	(0.06-0.11)
		4% HOAc	(0.09-0.14)	(0.10-0.12)
		20% EtOH	(0.16-0.25)	(0.17-0.18)
		n-Heptane	(0.10-0.11)	(0.06-0.08)
		olive oil	(0.05-0.09)	(0.05)
ABS-3	83	water	(0.33-0.58)	(0.37-0.53)
		4% HOAc	(0.44-0.58)	(0.42-0.48)
		20% EtOH	(0.46-0.64)	(0.27-0.45)
		n-Heptane	(0.45-0.48)	(0.19-0.47)
		olive oil	(0.15-0.21)	(0.05-0.27)

Fig. 6~8 に見られるように、ABS 樹脂と AS 樹脂では AN の溶出量と残存量との比が異なっており、ABS 樹脂は残存量が大きいと溶出量も大きくなるが、AS 樹脂は残存量が大きくなっても、溶出する AN 量は ABS 樹脂のそれにくらべてはるかに小さい。

2. 溶出条件から見た AN の溶出について

溶出条件から AN の溶出傾向を見ると、温度が高い方が溶出量が多い。

溶出時間の場合は、室温では3箇月までが溶出が多く以後少なくなってくる。40°では1箇月までが溶出量が多い。

溶出溶媒では20%エタノール>4%酢酸, n-ヘプタン>水, オリーブ油の順に AN の溶出能力は減少している。

このことは、ABS, AS 両樹脂製容器にはアルコールを含む食品を入れることは好ましくないが、中性食品 (pH 5 以上) や脂肪性食品の容器としては使用できる。しかしその時の AN 残留量は 10 ppm 以下が望ましく、それ以上では 0.05 ppm 以上の AN の溶出が起これと考えられる。

しかし食品を6箇月以上保存する場合は冷凍または冷蔵することが多いことから、このような条件では

Table 4. Migrated AN into food simulating solvents from PAS on two storage conditions

Sample	content of AN in sample	solvent	migrated AN(ppm)	
			3 months at room temp.	10 days at 40°
PAS-1	10	water	ND	(0.06)
		4% HOAc	(0.06)	ND
		20% EtOH	(0.07)	(0.09)
		<i>n</i> -Heptane	ND	ND
		olive oil	ND	ND
PAS-2	57	wates	(0.05-0.15)	(0.09-0.13)
		4% HOAc	(0.15-0.18)	(0.08-0.11)
		20% EtOH	(0.19-0.21)	(0.15)
		<i>n</i> -Heptane	(0.06-0.13)	(0.07-0.08)
		olive oil	(0.06)	(0.06-0.08)
PAS-3	108	water	(0.13-0.21)	(0.14-0.18)
		4% HOAc	(0.19-0.27)	(0.12-0.16)
		20% EtOH	(0.26-0.31)	(0.20-0.25)
		<i>n</i> -Heptane	(0.15-0.17)	(0.09-0.11)
		olive oil	(0.06-0.07)	(0.08-0.09)

AN 残留量は 10 ppm 以上になっても溶出は小さいと推定される。

また試験条件で、40° で10日間は室温3箇月に相当すると考えられており、AN の溶出試験でもその傾向が認められた (Table 3, 4)。

ま と め

材質中に残留する AN 量と長期保存により溶出する量との関連を食品擬似溶媒で検討した結果、3～6箇月程度保存する容器では ABS, AS 両樹脂とも残留 AN 量を 10 ppm 以下にすることが望ましく、アルコール含有食品には使用しないなどの所見が得られた。

保存する場合の温度は室温の方が 40° より AN の溶

出が少ないということから、冷凍、冷蔵の場合は残留 AN 量は 10 ppm 以下でなくとも使用できると見られる。

謝 辞

この実験を行うに当たり、試料の調製に協力戴きましたポリオレフィン等衛生協議会 ABS, AS 部会の皆様に御礼申しあげます。

文 献

- 1) 辰濃 隆, 井上たき子, 谷村頭雄: 衛生試験, 97, 93 (1979)
- ✓2) M. E. Brown, C.V. Breder, T. R. McNel: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 61, 1383 (1978)

実験動物の血清生化学値 IV 前処置による血清生化学値の変動

鈴木幸子・斎藤 実・中路幸男

Biochemical Values in Serum of Laboratory Animals IV. Variation of the Biochemical Values of Rat Serum due to the Differences of the Pretreatments

Sachiko SUZUKI, Minoru SAITO and Yukio NAKAJI

Biochemical values of twenty three components in sera obtained from decapitation, abdominal aorta, vena cava inferior, orbital venous plexus and jugular vein as blood sampling sites were compared on fasting rats, feeding rats and ether anesthetized rats after fasting.

As the effect in feeding, increases of glucose, phospholipides, triglycerides, total cholesterol and alkaline phosphatase, and decrease of creatinine, were found. On the other hand, increases of glucose, α -hydroxybutyrate dehydrogenase, and lactate dehydrogenase, and decreases of glutamate-pyruvate transaminase, inorganic phosphorous and potassium, were characteristic as the effect of anesthesia.

In the feeding rats and the anesthetized rats, the values of uric acid and glucose were higher in orbital venous plexus site, and that of creatinine in jugular vein site was lower, than those in abdominal aorta site.

The amounts of some serum components were found to be significantly different in the sera obtained from different sites without reference to feeding or anesthesia, though the difference was not so large on the whole except for the case of the decapitation which may be contaminated with some heterogenous components from the tissues.

(Received May 31, 1980)

マウスあるいはラットから一般的でしかも比較的多量の血液を採取しうる部位として断頭、腹大動脈、後大静脈、眼窩静脈叢及び頸静脈があげられる。前報¹⁾において、ラットの眼窩静脈から採血した血清を用い、摂餌状態に従う経時的な血清生化学値の変動を調べ、除餌による血糖の低減を明らかにした。血糖値は静脈血より動脈血の方が高く、毛細管血では動脈血のそれに近いとされている²⁾。著者らが常用している眼窩静脈からの血液は毛細管血とみなすことができることから血糖以外の血清生化学値が、例へば後大静脈のそれと異なるものもあるかも知れないという懸念がある。そこでラットを用い、常法通り採血の前処置として食餌及び麻酔の有無を加味させて、前記五つの部位から得た血液の前処置と採血部位の二つの要因による血清生化学値の変動を調べたので報告する。

実験材料及び方法

- 1) 実験動物：4週令の SPF^{*} Wistar 系雄ラット^{**} 309匹を9回に分け購入した。
- 2) 飼育条件：ラットは購入の都度1ケージにつき

4匹の集団とし、barrier system で8週間飼育した。飼料は固型飼料^{**3)}を与え水とともに自由に摂取させた。環境温度は $24 \pm 1^\circ$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ で、点燈時間は午前5時～午後5時の12時間である。

3) 前処置：採血前日の午後6時に除餌し、採血当日の午前10時までの16時間にわたって除餌したものを絶食群、採血直前まで自由に摂取させたものを飽食群、絶食群の一部を採血直前にエーテルで軽度麻酔させたものを麻酔群とする。ただし、絶食群は飽食群及び麻酔群に対する共通の対照であり、飽食群の対照とするときは絶食群、また麻酔群のそれに対しては無麻酔群と呼ぶことにする。

4) 採血部位：それぞれ前処置をしたラットについて5つの採血部位、すなわち断頭、腹大動脈、後大静脈、眼窩静脈叢及び頸静脈から採血した。

5) 検液の調整：各採血部位から3ml以上を採血し、氷冷し、採血から1時間以内に3000rpmで10分

*¹⁾ Specific Pathogen Free

**²⁾ 静岡実験動物

**³⁾ 船橋農場、飼育用 MM-1

間遠心分離し、上清を検液とした。

6) 血清成分の定量：検液につき、前報³⁾の Table 1 に記載したもののなかから24の試験項目についてそれぞれ試薬キットを用いて定量した。ただし、酵素の活性は 30° で測定し、ミリ国際単位で表した。

測定機器は、電解質 (Na, K, Cl) に対して日立製作所製 702 型電解質オートアナライザー及び蛋白その他の項目は米国 Electro Nucleonics 社製 Gemsac IV 型オートアナライザーを使用した。

実験結果及び考察

断頭(頭)、腹大動脈(動)、後大静脈(静)、眼窩静脈叢(眼)及び(頸)静脈頸を採血部位とし、前処置を絶食、飽食及び麻酔とした血清生化学値を Table 1 に示す。

1) 食餌による影響

Table 1 のすべての部位の測定値が食餌することにより影響を受けているかを明確にするために、一つの部位における絶食と飽食、及び部位間における絶食あるいは飽食のそれぞれの測定値の有意差の有無について一元配置による分散分析を行った(Table 2)。

T-PRO についてみると、頭を部位とした絶食-飽食間の測定値には有意の差を認めないが動では有意水準 0.01 で差のあることがわかる。このようにして絶食-飽食間、すなわち食餌によってどの部位でも過半数の項目に有意な差を認め、その中で特に PL, T-CHO, ALP 次いで ALB, CRN, GLU, α -HBDH, Ca 及び Cl が多くの部位で絶食とは異なるものであることがわかる。また逆に食餌による影響の少ないものは CHE があげられる。頭及び動を部位とするそれぞれの絶食群間あるいは飽食群間について検定すると大部分の項目で有意の差があり、更に頭と他の部位との検定でも絶食であれ、飽食であれ同様の結果であった。しかしながら、その他の部位間の比較では飽食で動-頸が比較的類似している。

項目別にみると頭との比較を除いた部位間では、GPT, GOT 及び LDH が絶食で、T-GLY, CHE, GOT, GPT が飽食でそれぞれ類似の値を示している。

食餌の影響がどの部位に出やすいかを見るために Table 1 から各測定項目ごとに全部位の絶食及び飽食のそれぞれの平均値を算出し、各部位ごとに和を求めると (CRN, Mg, Pi を除く)、総体的に高い測定値を得る順位は次のようである。

絶食：頭>動>頸・静・眼

飽食：頭>眼>静・頸・動

絶食、飽食ともに特に高い値を示す頭以外は部位間に大きな差が見られなかった。

断頭採血は組織を切断するために、動脈血、静脈血及びその他の体液が混合するので、他の部位に比べ異質なものと考えられる。各測定項目において絶食の値を 100 とした飽食の比を Fig. 1 に表した。

飽食の特徴として GLU, PL, T-GLY, T-CHO, ALP の上昇及び CRN の減少が見られる。

頭は他の最も低い測定値を示す部位に対してそれぞれ絶食及び飽食で CK (4.8 及び 4.3 倍), GOT (2.8 及び 2.1 倍), α -HBDH (2.8 及び 5.6 倍), LDH (3.0 及び 6.3 倍) の値が高い。頭以外の 4 つの部位間でこの最大最少値の比の大きいものは絶食及び飽食で UA (3.3 及び 2.0 倍), GLU (1.6 及び 1.7 倍), CK (1.5 及び 2.6 倍), α -HBDH (1.4 及び 4.1 倍), また絶食で CHE (1.5 倍) であり、他の項目では 1.5 倍を超えるものはないが、絶食及び飽食ともに眼では UA 及び GLU が動より高く、また頸では CK が動より低い値を示した。これらの中で UA, CK, α -HBDH 及び LDH はその測定値が極めて大きな変動係数を有していることから部位の違いによって明らかな差があるとはいきれない。

2) 麻酔による影響

麻酔することによってどのような血清成分が変動するのか、あるいは麻酔の影響に部位による差があるかどうかを明らかにするために無麻酔と麻酔間及び麻酔時における部位間の差の有無を1)と同様にして検定した (Table 3)。ただし、食餌による影響を避けるために無麻酔及び麻酔はともに絶食ラットを用いている。

麻酔によって頭と動はそれぞれ無麻酔に対して有意な差を示す項目が非常に多い。それに対して静、眼及び頸では有意な差を示さない項目が過半数である。動脈よりも静脈系の方がエーテル麻酔の影響が弱いようである。そしてこれら三者の ALB, T-GLY, T-CHO, CK, GOT, GPT, Na 及び Cl は麻酔の影響を受けないようである。部位間では頭-動、頭-静、動-静、静-眼、静-頸及び眼-頸で有意の差を認める項目が比較的少ない。項目別では部位間の各組合せで有意差の比較的少ないものは CHE, GPT, α -HBDH, Na 及び Cl であった。

麻酔によって測定値が総体的に高くなる順位を1)と同様に計算すると次のようである。

麻酔：頭・眼・静・頸>動

頭と動の間の差は極めて少ない。項目別にみても頭以外の 4 つの部位間の最大最少値の比の大きいものは UA (1.7 倍), GLU (1.7 倍), CK (1.9 倍) 及び LDH (1.8 倍) であり、眼では UA 及び GLU が動よりも高く、また頸では CK が動より低い値を示した。こ

Table 1. Biochemical values in serum obtained from different

Test	Unit	*1 Decapitation			Abdominal aorta		
		*2Fasting	Feeding	Anesthesia	Fasting	Feeding	Anesthesia
		*337	12	15	40	13	27
T-PRO	g/dl	7.5±0.4 (5.3)	7.8±0.5 (6.4)	7.2±0.2 (2.8)	7.3±0.5 (0.8)	6.7±0.3 (4.4)	7.1±0.3 (4.2)
ALB	g/dl	4.5±0.2 (4.4)	4.4±0.2 (4.5)	4.4±0.1 (2.3)	4.6±0.2 (4.3)	4.3±0.1 (2.3)	4.4±0.2 (4.5)
A/G	—	1.53±0.16 (10.4)	1.29±0.1 (7.8)	1.60±0.08 (5.0)	1.69±0.12 (7.1)	1.77±0.1 (5.6)	1.60±0.11 (6.9)
BUN	mg/dl	21±5 (23.8)	17±1 (5.9)	22±3 (13.6)	19±3 (15.8)	20±2 (10.0)	22±2 (9.1)
UA	mg/dl	1.9±0.33 (17.4)	1.50±0.29 (19.3)	1.75±0.18 (10.3)	3.1±0.91 (29.4)	3.3±0.75 (22.7)	2.7±1.2 (43.5)
CRN	mg/dl	0.64±0.05 (7.8)	—	0.59±0.03 (5.1)	0.72±0.07 (9.7)	0.61±0.04 (6.6)	0.72±0.12 (16.7)
GLU	mg/dl	143±12 (8.4)	145±5 (3.4)	168±14.5 (8.6)	163±26 (20.0)	201±53 (26.4)	190±42 (22.1)
PL	mg/dl	143±13 (9.1)	183±10 (5.4)	132±5.9 (4.4)	160±20 (12.5)	201±9 (4.4)	129±10 (7.8)
T-GLY	mg/dl	125±42 (33.6)	185±37 (20.0)	102±14 (13.7)	156±43 (27.6)	159±23 (14.4)	100±25 (25)
T-CHO	mg/dl	47±8 (17.0)	65±9 (13.8)	41±4.5 (11.0)	47±7 (14.9)	61±5.1 (8.4)	45±6 (13.3)
ALP	mU/ml	451±36 (8.0)	620±104 (16.8)	413±27 (6.5)	439±58 (13.2)	524±34 (6.4)	416±28 (6.7)
CHE	mU/ml	656±166 (25.3)	723±143 (19.8)	577±99 (17.2)	686±145 (21.1)	648±65 (10.0)	503±146 (29)
CK	mU/ml	1996±1158 (58.0)	1073±731 (68.1)	—	455±367 (80.7)	249±122 (49.0)	385±137 (35.6)
GOT	mU/ml	189±39 (20.6)	156±30 (19.2)	149±36 (24.2)	77±18 (23.4)	78±40 (51.3)	71±11 (15.4)
GPT	mU/ml	48±7 (14.6)	58±9 (15.5)	35±6.2 (17.7)	43±9 (20.9)	57±27 (47.4)	34±9 (26.4)
α-HBDH	mU/ml	453±108 (23.8)	420±77 (18.3)	319±94 (29.4)	206±20 (9.7)	77±65 (84.4)	236±108 (45.6)
LAP	mU/ml	55±3 (5.4)	56±4 (7.1)	52±16 (3.1)	55±3 (5.4)	55±5 (9.1)	50±3 (6.0)
LDH-P	mU/ml	1850±483 (26.1)	1743±370 (21.2)	1424±1417 (99.5)	752±764 (101.6)	330±330 (100)	921±434 (47.1)
CA	mg/dl	14.8±1.2 (8.1)	17.2±1.3 (7.6)	13.9±1.4 (10.1)	11.0±0.8 (7.3)	10.3±0.5 (4.9)	11.6±0.9 (7.8)
Mg	mg/dl	2.5±0.1 (4.0)	—	2.2±0.2 (6.8)	2.3±0.7 (30.4)	2.4±0.2 (8.3)	2.6±0.3 (6.4)
Pi	mg/dl	8.9±0.4 (4.4)	—	7.9±0.5 (6.2)	10.0±1.7 (17.0)	9.0±0.9 (10.0)	7.7±0.5 (6.4)
Na	mEq/l	153±4 (2.6)	153±3.2 (2.1)	147±1.3 (0.9)	145±4 (2.8)	136±1 (0.7)	144±1 (0.7)
K	mEq/l	8.9±1.0 (11.2)	8.3±0.9 (10.3)	6.4±0.5 (8.3)	6.6±1.6 (24.2)	5.1±0.5 (9.8)	5.3±0.4 (7.5)
Cl	mEq/l	107±4 (8.7)	105±2 (1.8)	105±1.0 (1.0)	110±3 (2.7)	102±1 (1.0)	107±10 (9.9)

*1 Blood sampling site

*2 Pretreatment

*3 Number of rats

blood sampling sites of fasting, feeding and anesthetized rats

Vena cava inferior			Orbital venous plexus			Jugular vein		
Fasting	Feeding	Anesthesia	Fasting	Feeding	Anesthesia	Fasting	Feeding	Anesthesia
28	13	27	13	12	23	25	13	11
7.2±0.7 (9.7)	6.5±0.2 (3.1)	7.1±0.2 (2.8)	7.8±0.3 (3.8)	7.8±0.3 (3.8)	7.5±0.4 (5.3)	7.4±0.5 (6.8)	7.0±0.3 (4.3)	7.5±0.4 (5.3)
4.5±0.3 (6.7)	4.1±0.1 (2.4)	4.4±0.2 (4.5)	4.4±0.3 (0.8)	4.6±0.1 (2.2)	4.4±0.2 (4.5)	4.6±0.3 (6.5)	4.3±0.2 (4.7)	4.6±0.2 (4.3)
1.72±0.15 (8.7)	1.74±0.06 (3.4)	1.63±0.1 (6.1)	1.33±0.19 (14.2)	1.37±0.08 (5.8)	1.46±0.07 (4.8)	1.63±0.1 (6.1)	1.66±0.06 (3.6)	1.6±0.09 (5.6)
23±3 (13.0)	22±3 (13.6)	25±2 (8.0)	24±1 (4.2)	19±0.7 (3.7)	21±2 (9.5)	21±2 (9.5)	21±1 (4.8)	20±2 (10.0)
2.99±0.74 (24.7)	3.36±0.55 (17.8)	2.48±0.95 (38.3)	0.93±0.16 (17.2)	1.64±0.39 (23.8)	1.64±0.94 (57.3)	2.55±0.75 (29.4)	2.32±0.97 (41.8)	1.94±0.7 (36.1)
0.79±0.04 (5.1)	0.70±0.05 (7.1)	0.71±0.1 (14.1)	0.69±0.04 (5.8)	0.62±0.05 (8.1)	0.69±0.13 (18.8)	0.74±0.04 (5.4)	0.67±0.04 (6.0)	0.65±0.06 (9.2)
147±4.3 (29.3)	197±29 (14.7)	175±31 (17.7)	102±6 (5.9)	117±17 (14.5)	111±30 (27.0)	150±32 (21.3)	187±24 (12.8)	154±10 (6.4)
145±9 (6.2)	197±9 (4.6)	131±9 (0.9)	166±12 (7.2)	200±9 (4.5)	159±11 (6.9)	158±17 (10.8)	213±15 (7.0)	142±13 (9.2)
118±22 (18.6)	182±35 (19.2)	123±27 (22.0)	139±32 (23.0)	180±36 (20.0)	143±37 (25.8)	153±46 (30.1)	186±33 (17.7)	126±43 (34.1)
44±5 (11.4)	53±8 (15.1)	45±4 (8.9)	51±4.3 (8.4)	65±7 (10.8)	51±5 (9.8)	46±5 (10.9)	62±7 (4.3)	45±5 (11.1)
424±61 (14.4)	538±36 (6.7)	431±40 (9.3)	488±45 (9.2)	640±27 (4.2)	455±33 (7.3)	472±70 (14.8)	529±54 (10.2)	492±40 (3.1)
559±99 (17.7)	661±156 (23.6)	559±115 (20.6)	684±124 (18.1)	650±114 (17.5)	650±125 (19.2)	700±166 (23.7)	618±151 (24.4)	561±135 (24.1)
413±165 (40.0)	305±71 (23.3)	473±163 (34.4)	433±186 (43.0)	601±124 (20.6)	614±299 (48.7)	622±265 (42.6)	642±285 (44.4)	734±227 (30.9)
74±18 (24.3)	86±27 (31.4)	78±9 (11.5)	72±15 (20.8)	97±12 (12.4)	84±23 (27.4)	76±16 (21.1)	75±16 (21.1)	86±8.0 (9.3)
48±11 (22.9)	55±14 (24.5)	37±9 (24.3)	44±5 (11.4)	48±10 (20.8)	41±6 (14.6)	48±8 (16.7)	52±6 (11.5)	38±5.7 (15.0)
173±92 (53.2)	101±32 (31.7)	285±104 (36.4)	229±76 (33.2)	306±29.4 (9.4)	333±189 (56.8)	160±103 (64.4)	75±19 (25.3)	341±73 (21.4)
53±3 (5.7)	50±2 (4.0)	53±3 (5.7)	55±2 (3.6)	57±3 (5.3)	52±4 (7.7)	55±4 (7.0)	54±3 (5.6)	54±2 (3.7)
684±392 (57.6)	440±148 (33.6)	1264±518 (50.0)	851±303 (35.6)	1365±133 (9.7)	1333±814 (61.1)	625±477 (76.3)	287±75 (26.1)	1673±381 (22.8)
12.1±1.9 (15.7)	11.2±0.8 (7.1)	12.1±1.7 (14.0)	12.0±0.7 (6.1)	11.5±0.4 (3.4)	11.5±0.7 (6.1)	11.4±1.2 (10.5)	11.9±1.3 (10.9)	10.4±0.8 (8.1)
3.1±0.5 (16.1)	2.9±0.2 (6.9)	2.9±0.5 (17.2)	—	—	—	2.5±0.3 (12.0)	2.5±0.3 (12.0)	2.2±0.3 (14.1)
9.5±1.7 (17.9)	8.5±0.5 (5.9)	8.0±1.3 (16.3)	—	—	—	9.3±1.4 (15.1)	8.2±1.5 (18.3)	7.7±1.1 (13.9)
146±11 (7.5)	137±1 (0.7)	147±4 (2.7)	155±5 (3.2)	160±1.3 (8.1)	152±13 (8.6)	148±7 (4.7)	141±3 (2.1)	134±32 (23.9)
5.9±1.1 (18.6)	5.3±0.3 (5.7)	5.3±1.4 (26.4)	0.8±0.4 (6.0)	6.6±0.8 (11.8)	5.7±0.7 (12.2)	5.6±0.8 (14.3)	5.1±0.6 (11.8)	4.6±0.4 (8.7)
109±9 (8.3)	100±1 (1.0)	107±2 (1.9)	108±5 (4.6)	115±9 (7.8)	108±11 (7.8)	106±5 (4.7)	100±2 (2.0)	104±12 (11.5)

Each value in parentheses is coefficient of variation ($\pm\%$) of determined values.

Table 2. Analysis of variance by one-way layout of biochemical values in serum obtained from different blood sampling sites of fasting and feeding rats

T _{test}	D		A		V		O		J		D-A		D-V		D-O		D-J		A-V		A-O		A-J		V-O		V-J		O-J	
	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe	Fa	Fe		
T-PRO	**	**	**	**	**	**	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
ALB	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
A/G	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
BUN	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
UA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	
CRN	—	**	**	**	**	**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**	**	—	—	**	**	**	**	**	**	**		
GLU	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
PL	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	
T-GLY	**	**	**	**	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	
T-CHO	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
ALP	**	**	**	**	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	
CHE	—	*	*	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
CK	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
GOT	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
GPT	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
α-HBDH	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	*	**	*	**	**	**	
LAP	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	*	**	*	
LDH-P	*	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
Ca	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
Mg	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Pi	—	—	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Na	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
K	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
Cl	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	

Significant difference—*: P<0.05, **: P<0.01

Blood sampling site—D: Decapitation, A: Abdominal aorta, V: Vena cava inferior, O: Orbital venous plexus, J: Jugular vein

Pretreatment—Fa: Fasting, Fe: Feeding

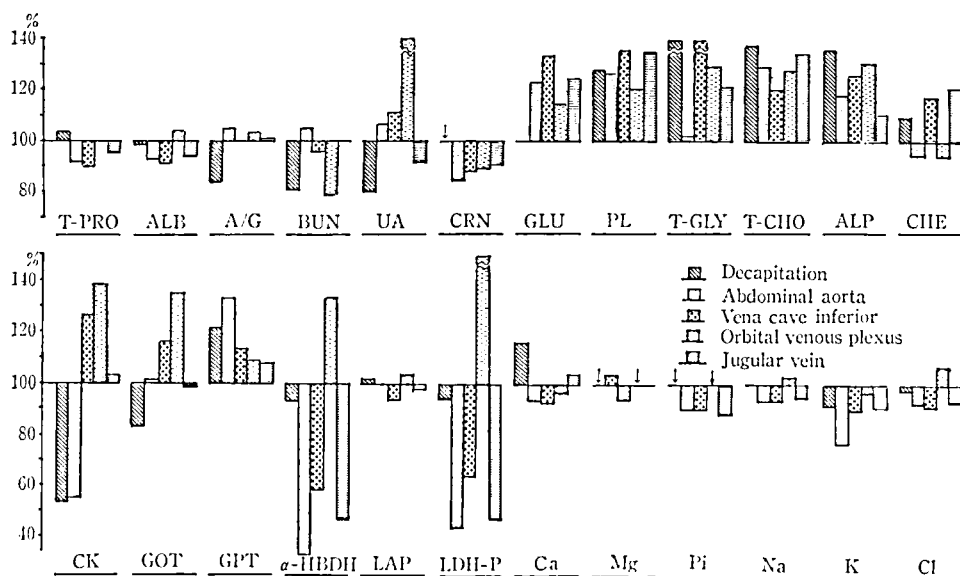


Fig. 1. Comparison between biochemical values in serum obtained from different blood sampling sites of feeding and fasting rats

Vertical bars indicate ratio-percentage (values obtained from feeding rats × 100/values obtained from fasting rats), * P<0.05, ** P<0.01: significant difference from fasting rats. †: no data

Table 3. Analysis of variance by one-way layout of biochemical values in serum obtained from different blood sampling sites of unanesthetized and anesthetized rats

Test	D A V O J		D-A		D-V		D-O		D-J		A-V		A-O		A-J		V-O		V-J		O-J		
	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	Ua	Ea	
T-PRO	*	*		**			*		*	*			**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
ALB		**							*	**					**	**				**	**	*	**
A/G	*	**	*		**		**	**	**	**	*	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
BUN	**	**	**	**	**		**	*				**	**	**	*		**	**	**	**	**	**	**
UA	**	*	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**			**	**
CRN	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**					**	**	**	**	**	**	**
GLU	**	**	**	**	**		**	**	*	*	*	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	**	**
PL	**	**	**	*	**		**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
T-GLY	*	**		**		**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*
T-CHO	**	*		*		*	**	**	**	*	*	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
ALP	**	*	*				**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	**	**	**
CHE		**		*		**			*	*	*	*	*	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*
CK	—				—	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GOT	**	**		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GPT	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
α -HBDH	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
LAP	**	**	*		*	**			*	*	*	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*
LDH-P	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Ca	**	**	*	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Mg	**	*	—	*	**	**	**	—	—	—	—	**	*	—	—	**	—	—	**	**	—	—	—
Pi	**	**	**	—	**	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Na	**	*	*	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Cl	**	*			**	*			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Significant difference—*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

Blood sampling site—D: Decapitation, A: Abdominal aorta, V: Vena cava inferior, O: Orbital venous plexus, J: Juglar vein

Pretreatment—Ua: Unanesthesia, Ea: Ether anesthesia

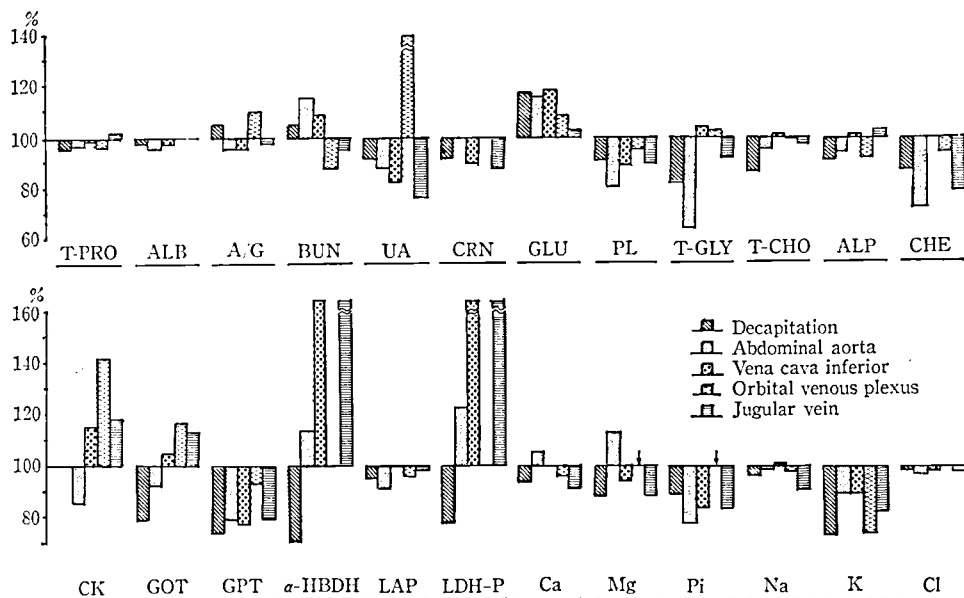


Fig. 2. Comparison between biochemical values in serum of different blood sampling sites of anesthetized and unanesthetized rats

Vertical bars indicate ratio-percent (values obtained from anesthetized rats $\times 100$ / values obtained from unanesthetized rats). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: significant difference from unanesthetized rats. †: no data.

これらの項目の中で UA, α -HBDH 及び LDH はその変動係数が極めて大きい。このことは飽食の場合にも共通しているが、UA が微量なために測定精度の問題であるかもしれない。CK, α -HBDH 及び LDH は個体差が大であるが、これには採血後の血清分離に至るまでの放置時間の微妙な差が影響していることも考えられる⁴⁾。

また頭が総体的に高いのは先に述べたように組織の切断由来すると考えられるが、その程度が飽食群よりはるかに少ないのは無麻酔採血にかかるストレスが軽減されたためではないだろうか。各測定項目において無麻酔の値を 100 とした麻酔の比を Fig. 2 に表した。

麻酔の特徴として GLU, α -HBDH 及び LDH の上昇と GPT, Pi 及び K の減少があげられる。

結 論

ラットの断頭、腹大動脈、後大静脈、眼窩静脈叢及び頸静脈を採血部位とし、飽食あるいは、絶食後エーテル麻酔を前処置とし、それぞれ絶食ラットを対照として採血部位別に 24 項目の血清生化学値の変動を調べた。

食餌による影響は GLU, PL, T-GLY, T-CHO 及

び ALP の上昇、及び CRN の減少を特徴とし、またエーテル麻酔による影響は GLU, α -HBDH 及び LDH 上昇及び GPT, Pi 及び K の減少を特徴とする。

飽食群及び麻酔群で眼窩静脈叢では UA 及び GLU が腹大動脈より高く、また頸静脈では CK が腹大動脈より低い値を示した。

前処置の有無にかかわらず、採血部位間に多くの血清成分の量に有意の差があることは明らかであるが、採血した血清成分の異質な断頭を除けば部位間の違いはさほど大きなものではない。

終りに臨み、惜しみなく協力された毒性部第一室、第二室、第三室、第四室の諸氏及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) 中路幸男, 鈴木幸子, 斎藤 実, 鈴木康雄, 金子豊蔵, 池田康和: 衛生試験, 97, 150 (1979)
- 2) 佐野隆志: 日本臨床, 406, 106 (1976)
- 3) 中路幸男, 鈴木幸子, 斎藤 実: 衛生試験, 97, 141 (1979)
- 4) 中路幸男, 鈴木幸子, 斎藤 実: 衛生試験, 97, 147 (1979)

合成化学研究部で合成した化合物の抗腫瘍効果 (IV)

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・(故)小田嶋成和

Antitumor Effect of Compounds Synthesized in the Division of Synthetic Chemistry (IV)

Michiko MIYAHARA, Shozo KAMIYA, Masahiro NAKADATE, Shoko SUEYOSHI
Masayuki TANNO, Makoto MIYAHARA, Akihiko MAEKAWA and the late Shigeyoshi ODASHIMA

As an extension of this series the antitumor activity of 230 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. Thirty compounds of these were divided into five groups of triazenes, 2-oxazolidones, pyridines, quinolines, anthraquinones, adenines, and miscellaneous compounds.

Some of the triazenes and 2-oxazolidone N-nitroso derivatives were slightly effective against AH-13 and L-1210 cells.

(Received May 31, 1980)

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、現在までに230種の化合物について終了した。200種の化合物については既に報告した¹⁻³⁾。今回は新しく合成された29種 (E-201~E-230) 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 個の AH-13 細胞をドンリュウ・ラットの腹腔内に移植し、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	60日生存率
—	0/6
±*	0/6~1/6
+	2/6~3/6
++	4/6~6/6

* 但し、60日生存動物がないものでも、60日以内での生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 個の L-1210 細胞を CDF₁ マウスの腹腔内に移植し、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系統に分類した。その分類、化学名及び融点又は分解点は次のとおりである。

(1) トリアゼン誘導体

E-203 : 2-(3-Cyano-1-triazeno)pyridine 1-oxide potassium salt, dp 224°

E-204 : 3-(3-Cyano-1-triazeno)pyridine 1-oxide potassium salt, dp 240°

E-206 : 1-(4-Chlorophenyl)-3-cyano-3-methyltriazene, mp 76-77°

E-220 : 1-(4-Nitrobenzyl)-3-(4-tolyl) triazene, dp 113°

E-221 : 1-Allyl-3-(4-tolyl) triazene, mp 34°

E-228 : 1-Methyl-3-*p*-tolyltriazene, mp 81-82°

(2) 2-オキサゾリドン誘導体

E-202 : 2-Oxazolidinone, mp 89°

E-223 : 5-Phenyl-2-oxazolidone, mp 76-78°

E-224 : 3-Nitro-5-phenyl-2-oxazolidone, mp 76-79°

E-225 : 4-Phenyl-2-oxazolidone, mp 105-107°
 E-227 : 3-Nitroso-4-phenyl-2-oxazolidone, mp 30-32°
 E-229 : 3-Nitroso-5-methyl-2-oxazolidone, mp 30-32°
 E-230 : 5-Chloromethyl-2-oxazolidone, mp 99-100°
 (3) ピリジン, キノリン及びアントラキノン誘導体
 E-215 : 1-Isobutyl-3-(3-pyridyl)methyl-1-nitroso-
 urea, dp 94-95°
 E-216 : 1-Isopropyl-3-(2-pyridyl)methyl-3-nitroso-
 urea N-oxide *m*-chlorobenzoate, mp 122°
 E-217 : 1-Isopropyl-3-(2-pyridyl)ethyl-3-nitrosourea,
 dp 62-63°
 E-226 : 1-Isopropyl-3-(4-pyridyl)methyl-3-nitroso-
 urea, dp 76°
 E-207 : 4-Amino-3-chloroquinoline 1-oxide hydro-
 chloride, dp 270°
 E-218 : 3,6-Dimethyl-1-azaanthraquinone, mp >260°
 (4) アデニン誘導体
 E-209 : N⁹-(N-Methylcarbamoyl)adenine, mp >300°
 E-210 : N⁹-(N-Ethylcarbamoyl)adenine, mp >300°
 E-211 : N⁹-(N-*n*-Butylcarbamoyl)adenine, mp
 228-232°
 E-212 : N⁹-(N-Phenylcarbamoyl)adenine, mp >300°
 E-213 : N⁹-[N-(2-Chloroethyl)carbamoyl]adenine,
 mp >300°
 (5) その他
 E-201 : 2-Hydroxy-3-piperidinomethyl-1,4-naphtho-
 quinone, dp 198°
 E-205 : 3-Azidopyridine 1-oxide, dp 99-100°
 E-208 : 1-Dimethylamino-2-imidazolidone hydro-
 chloride, dp 141°
 E-214 : 1,5-Dimethyl-2-phenyl-4-(3'-methyl-3'-
 nitrosoureido)-3-pyrazolone, dp 106°
 E-222 : 1,3-Diphenyl-1-nitrosourea, dp 105°

Results

Compound number	AH-130 screening	L-1210 screening Max. T/C
(1) Triazene Derivatives		
E-203	—*	
E-204	—*	
E-206	±	98
E-220	±	141
E-221	—*	
E-228	—	133

Compound number	AH-130 screening	L-1210 screening Max. T/C
(2) 2-Oxazolidone Derivatives		
E-202	—	101
E-223	—	109
E-224	—	115
E-225	—	109
E-227	—	125
E-229	±	139
E-230	—	100
(3) Pyridine, Quinoline and Anthraquinone Derivatives		
E-215	—	107
E-216	—	
E-217	—	155
E-226	—	106
E-207	—*	
E-218	+	125
(4) Adenine Derivatives		
E-209	—	114
E-210	—	100
E-211	—	
E-212	—	
E-213	—	117
(5) Others		
E-201	—	
E-205	—	
E-208	—	
E-214	±	182
E-222	+	102

* Anti-AH-13 effect was evaluated by MED (minimum effective dose) test.⁴⁾

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 ≧±	L-1210 Max. T/C ≧125
(1) トリアツェン誘導体	2/6	2/3
(2) 2-オキサゾリドン誘導体	1/7	2/7
(3) ピリジン, キノリン及びアントラキノン誘導体	1/6	2/4
(4) アデニン誘導体	0/5	0/3
(5) その他の化合物	2/5	1/2

今回スクリーニングを終了した29種の中で AH-13 に対して効果を示したものは9種であった。次の化合物については更に L-1210 のスクリーニングを行った。(1) AH-13 に対して効果を示したもの、(2) L-1210 に効果があると構造上から推測されるもの。その結果、19種の化合物について L-1210 のスクリーニングを行い、7種が効果を示した。しかし、今回スクリーニングを行った化合物の中には、両腫瘍に対して著効を示すような化合物はなかった。

トリアツェン誘導体は今までピリジンのシアノトリアツェン系統であったが、トルエンのトリアツェンやトリアツェンヘメチル基の導入などにより効力が出てくるようになった。

新シリーズの化合物としては、一連のオキサゾリド

ンやアデニン誘導体のスクリーニングを行った。2-オキサゾリドン誘導体では N-ニトロソ基を導入した化合物のみ抗腫瘍効果を示した。アデニン誘導体には効力を示すものはみられなかった。

現在まで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ることにより、また、今までに抗腫瘍効果の確立した化合物の構造修飾をすることにより、より良い抗腫瘍剤の開発をめざして更に実験を重ねている。

文 献

- 1) 安齋美知子ら：衛生試報，94，148 (1976)
- 2) 宮原美知子ら：衛生試報，96，91 (1978)
- 3) 宮原美知子ら：衛生試報，97，107 (1979)
- 4) Michiko Miyahara *et al.*: *Gann*, 70, 731 (1979)

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“酢酸コルチゾン標準品（Control 741）”について

太田美矢子・木村俊夫・川村次良

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (Japanese Pharmacopoeia Standard) “Cortisone Acetate Reference Standard (Control 741)”

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA

A material of “Cortisone Acetate Reference Standard” for Japanese Pharmacopoeia was tested. Following analytical data were obtained; melting point: 238° (decomposition), optical rotation: $[\alpha]_D^{20} = +212^\circ$ (1% in dioxane), loss on drying: 0.65% (105°, 3h), infrared spectrum: same as International Chemical Reference Substance (ICRS) and former JP Reference Standard, absorptivity: 395 at maximum wavelength of 238 nm, thin-layer chromatography: two contaminants, assay: 100.3% by UV, 101.4 by BT and 99.4% by HPLC method against ICRS, respectively. From these results this material was authorized as new JP Reference Standard (Control 741).

(Received May 31, 1980)

第9改正日本薬局方 (JPIX) の酢酸コルチゾン、同水性懸濁注射液の確認試験及び純度試験に用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）酢酸コルチゾン標準品 (Control 741) を製造したので報告する。なお、この標準品が種々の定量法の標準品としても用いられる場合を考慮して、酢酸コルチゾンの国際化学参照物質 (ICRS)、アメリカ薬局方参照標準品 (USPRS)、前回日本薬局方標準品 (JPRS 591) 及び日本薬局方品 (Bulk) を対照として定量し、定量値の相互比較を行った。定量法には、最進禁用されている高速液体クロマトグラフ法 (HPLC 法)、アメリカ薬局方で用いら

れているブルーテトラゾリウム法 (BT 法)¹⁾ 及び JP で用いられている UV 法²⁾ を用いた。また HPLC 法において大量注入を行い、各標準品の純度の推定を行ったので併せて報告する。

1. 原料 日本薬局方品を購入し、メタノールから2回再結晶した (JPRS-M)。

2. 試薬 ICRS (Control 167006)、USPRS (Control F)、JPRS 591 及び Bulk を酢酸コルチゾンの対照として用いた。その他の試薬は特級品を用いた。

3. 装置 分光光度計：島津 QV-50 型、島津 Double-40R 型及びユニオン技研 SM 401 型)、自動旋光

計：応用電気研究所 MP-1T 型，赤外分光光度計：日本分光 DS-403G 型，高速液体クロマトグラフ：日立 635 型に LDC 紫外吸収モニター (254 nm 用) 及び理化電気 R-22 型記録計を接続したものをを用いた。

4. 試験方法

1) 融点，乾燥減量，赤外吸収スペクトルは JP IX 酢酸コルチゾン及び一般試験法にしたがって試験を行った。

2) 薄層クロマトグラフ法：メルク製シリカゲル薄層板 (GF₂₅₄) を 110° で 1 時間活性化後，JPRS-M，JPRS 591，USPRS，ICRS 及び Bulk のクロロホルム溶液 (20 mg/ml) のそれぞれ 15 μ l を 1 cm の幅にスポットする。クロロホルム・アセトン (9:1) を展開溶媒として約 15 cm 展開したのち薄層板を風乾し，短波長紫外線下で観察する。

3) 定量法

(i) 試料原液の調製：試料各 10 mg を精密に量り，メタノールに溶かし，正確に 50 ml とした。いずれの定量法においても，この原液を適宜希釈して用い，秤量による変動を避けた。

(ii) HPLC 法：リクロソルブ RP 18 (メルク製，5 μ m) を充てんした 4 × 250 mm のステンレスカラムを用いた。溶媒はアセトニトリル・水混液 (4:6) を用い，流量は 1 ml/min (圧力 170~180 kg/cm²)，感度はフルスケール 0.32，カラム温度は 30°，記録紙速度は 2.5 mm/min とした。試料原液 9 ml に内部標準物質としてメチルブレドニゾロン約 28 mg にメタノールを加えて溶かし 25 ml とした液 1 ml を加え，良く混合して試料溶液とし，その 5 μ l を試料バルブより注入した。定量は内部標準物質のピーク高さに対する試料のピークの高さの比を用いて行った。

(iii) UV 法：試料原液 5 ml を正確にとり，メタノールを加えて溶かし，正確に 100 ml とし，この液

につきメタノールを対照液として 238 nm における吸光度を測定した。

(iv) BT 法：USP の Steroid assay²⁾ を若干修正して行った。すなわち試料原液 3 ml を正確にとり，エタノールを加えて正確に 100 ml とする。この液 10 ml を共せん試験管にとり，これにブルーテトラゾリウム 50 mg をメタノール 10 ml に溶かした液 1 ml を加えて混合し，次いで 10% テトラメチルアンモニウムヒドロキシド・エタノール混液 (1:9) 1 ml を加えて良く混合し，暗所に 90 分間放置したのち 525 nm の吸光度を測定した。対照液には空試験液を用いた。

(v) HPLC による純度試験：各試料 2.0 mg を正確に量り，メタノール 1 ml を加えて溶かした液を試料溶液とした。その他の実験条件は同じである。

5. 試験結果

- 1) 性状 白色結晶性粉末ではない。
- 2) 融点 238° (分解点)。
- 3) 旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +212.7° ($n=3$, 乾燥後, 0.1 g, ジオキサン, 10 ml, 100 mm)。
- 4) 乾燥減量 0.65% (105°, 3 時間)。
- 5) 赤外吸収スペクトル Fig. 1 に示す。ICRS 及び JPRS 591 と同一のスペクトルを示した。
- 6) 紫外吸収スペクトル Fig. 2 に示す，吸収の極大は 238 nm であった。
- 7) 吸光度 395 ($n=5$, メタノール, 10 μ g/ml)。
- 8) 薄層クロマトグラフ法 クロマトグラムを Fig. 3 に示す。JPRS-M では主スポット以外にごくわずかの 2 個のスポットを認め，USPRS 及び JPRS 591 にも同程度のスポットを認めた。ICRS における不純物のスポットは 1 個のみを認めた。

8) 定量

(i) HPLC 法による検量線について
ICRS を用いて種々の濃度の試料溶液を作り，検量

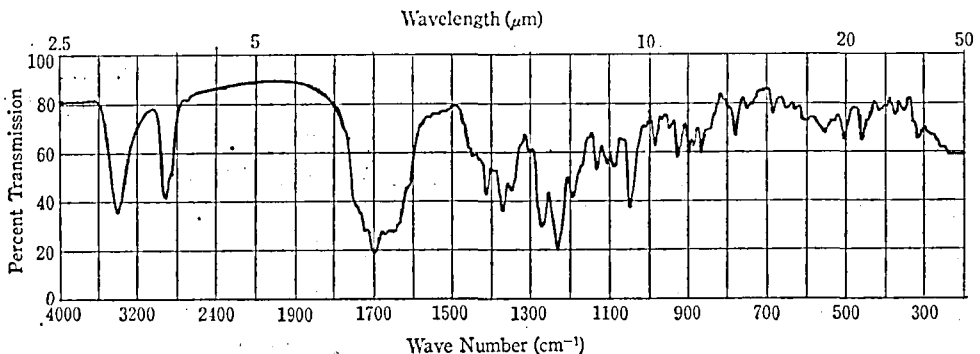


Fig. 1. Infrared spectrum of new "Cortisone Acetate Reference Standard"

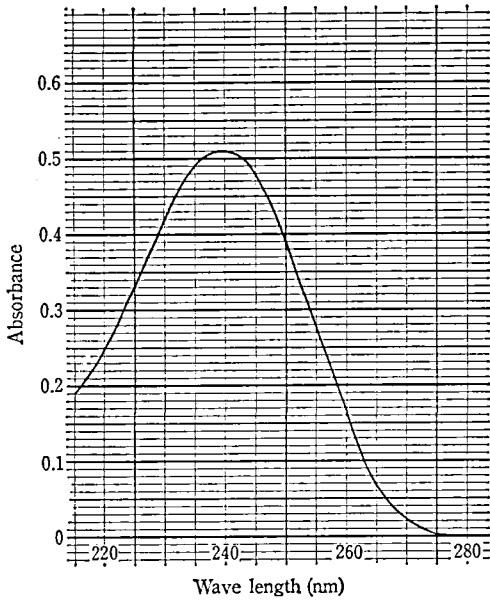


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectrum of new "JP Cortisone Acetate Reference Standard" (12.75 µg/ml methanol)

線を作成した。その結果を Fig. 4 に示す。

酢酸コルチゾン量 0.3~2.4 µg と、内部標準物質に対するピーク高さ比との間に良好な直線関係を示した。各点における3回の繰り返し測定における変動係数は 0.35~0.81であった。

(ii) 定量値の比較

Table 1 に HPLC, UV 及び BT の各法により得られた定量値を示す。いずれも ICRS を 100 としたときの値である。HPLC 法については各 4 回の測定の平均値、UV 法では 2 機種分光光度計によるそれぞれ 3 回の平均値、BT 法では 8~9 回の測定の平均値である。

UV 法及び BT 法では、すべての試料が ICRS に対して 100±1% の範囲内であったけれども、HPLC 法では Bulk のみが 97.6% と若干低い値を示した。

2 機種分光光度計による結果を総合し、この値を 100 とし、これに対する HPLC 法又は BT 法による結果の比をまとめたのが Table 2 である。

Table 2 から明らかなように、JPRS-M, JPRS 591 及び USPRS は、HPLC 法又は BT 法のいずれの方法でも UV 法に対しほぼ 1 に近い比が得られたので、これら 3 種の定量法の標準品として用いることができる。

更に、不純物の量を調べるために大量注入による HPLC を行った結果を Fig. 5 に示す。

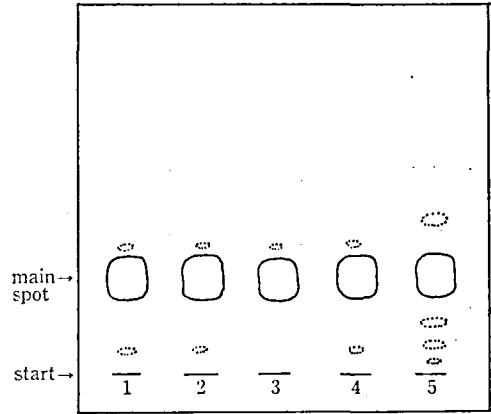


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of cortisone acetate

Silica gel GF₂₅₄, 250 µ thickness, 300 µg applied, chloroform-acetone (9:1) detected under UV light (254 nm)
1. JPRS591 2. Material 3. ICRS
4. USPRS 5. Bulk

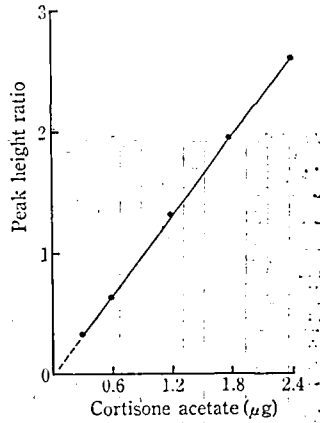


Fig. 4. Analytical curve for cortisone acetate by HPLC

Bulk には 9 個の不純物ピークが検出され、peak 1 及び 6 は比較的多かった。標準品及び今回の原料にはピークの数及び量が少ない。各ピークの保持時間及び 6 酢酸コルチゾンに含まれることが予想される物質について測定した保持時間を Table 3 に示す。

peak 1, 3, 5, 6 については、コルチゾン、コルチコステロン、酢酸プレドニゾロン、酢酸ヒドロコルチゾンと保持時間が等しかった。コルチゾン及び酢酸ヒドロコルチゾンを標準として Bulk 中のピーク 1 及び 6 の含量を計算すると、それぞれ 0.38% 及び 0.39% であった。JPRS-M 中のピーク 1 及び 3 はいずれも 0.1%

Table 1. Assay results of each preparation when ICRS was used as the reference substance

	JPRS-M			JPRS 591			USPRS			Bulk		
	%	n	S.D.	%	n	S.D.	%	n	S.D.	%	n	S.D.
HPLC*1	99.4	4	0.65	101.3	4	0.54	99.9	4	0.25	97.6	4	0.65
UV-1*2	100.9	3	0.78	100.9	3	0.51	100.8	3	0.68	99.9	3	1.27
UV-2*3	99.8	3	0.68	101.0	3	0.76	100.5	3	1.00	99.5	3	0.41
BT*4	101.1	8	0.89	100.2	9	0.87	100.1	9	1.31	98.9	8	1.14

*1 High pressure liquid chromatography

*2 Absorptivity by Shimadzu QV-50 spectrophotometer

*3 Absorptivity by Union Giken SM-501 spectrophotometer

*4 Blue tetrazolium/tetramethylammonium hydroxide

n: number of assays

S.D.: standard deviation

Table 2. Ratio of the results by HPLC and BT method to that by UV* method

	JPRS-M	JPRS 591	USPRS	Bulk
HPLC/UV	0.990	1.003	0.992	0.979
BT/UV	1.007	0.992	0.994	0.992

* Combined results of UV-1 and UV-2 in Table 1

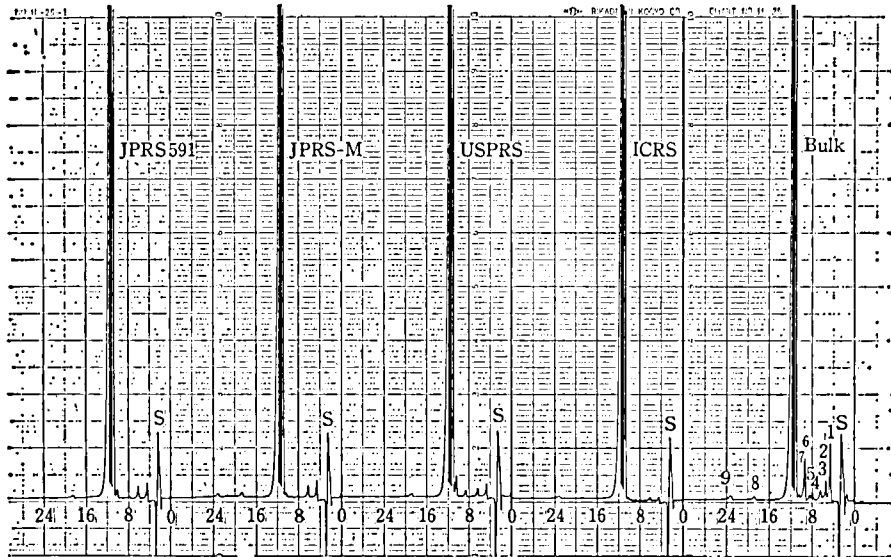


Fig. 5. High pressure liquid chromatogram of cortisone acetate

Instrument: Hitachi 635 liquid chromatograph with LDC UV monitor (254 nm),
 Column: Lichrosorb RP18 (5 μ m, prepacked) 4 \times 250 mm, Solvent: acetonitrile
 water (4 : 6), Flow rate: 1 ml/min (180 kg/cm²), Sensitivity: 0.32 AUFS, Column
 temperature: 30°, Chart speed: 2.5 cm/min, Applied amount: 40 μ g in methanol

Table 3. Impurities in cortisone acetate

	Retention time (min)								
Bulk (peak no.)	4.48 (1)	5.32 (2)	6.32 (3)	7.84 (4)	8.40 (5)	9.28 (6)	10.27 (7)	18.68 (8)	23.32 (9)
ICRS	4.52		6.32						23.48
USPRS	4.68		6.36		8.68		10.40	18.88	
JPRS-M	4.68		6.36				10.44	18.80	23.32
JPRS 591	4.56		6.24				10.32	18.68	
Prednisolone		4.16			11-Dehydrocorticosterone			7.08	
Hydrocortisone		4.36			Prednisolone acetate			8.64	
Cortisone		4.64			Hydrocortisone acetate			9.24	
Methylprednisolone		5.44			11-Hydroxyprogesterone			15.92	
Corticosterone		6.44			17-Hydroxyprogesterone			19.32	

Condition of HPLC: see legend of Fig. 5

以下で JPRS 591 と同程度であった。HPLC の結果では最も純度が高いと考えられる ICRS は、phase solubility test³⁾ により 0.5% の不純物を含むことが報告されているので³⁾、JPRS-M、JPRS 591 及び USPRS は 0.5% に 0.2~0.3% 程度を加えた量の不純物があると考えねばならないが、Bulk 製品に比べればかなり高い純度を持っていることがわかった。

終わりに、標準品製造に当たり御協力いただいた日

本メルク万有株式会社及び WHO 化学参照物質センターに感謝いたします。

文 献

- 1) USP XX, p. 916
- 2) 第九改正日本薬局方, p. 291 (1976) 厚生省版
- 3) WHO: unpublished document

国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“マレイン酸エルゴメトリン標準品（Control 751）”について

太田美矢子

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia Standard) “Ergometrine Maleate Reference Standard (Control 751)”

Miyako OHTA

The “Ergometrine Maleate Reference Standard” (Control 751) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained; melting point: 184.3° (decomposition), optical rotation: $[\alpha]_D^{20} = +52.6$, loss on drying 1.2%, assay: 99.9% by JP method (*p*-aminobenzaldehyde-ferric chloride method), 100.9% by UV method against former JP Standard (Control 711), and 99.8% by non-aqueous titration. Four contaminants were detected by thin-layer chromatography. On the basis of the results, the material of ergometrine maleate was authorised as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 751).

(Received May 31, 1980)

第九改正日本薬局方 (JP IX) のマレイン酸エルゴメトリンの純度試験、定量法及び同錠、同注射液、並びにマレイン酸メチルエルゴメトリン、同錠の定量法に

用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）を製造したので報告する。

1. 標準品原料：サンド薬品株式会社より購入した。

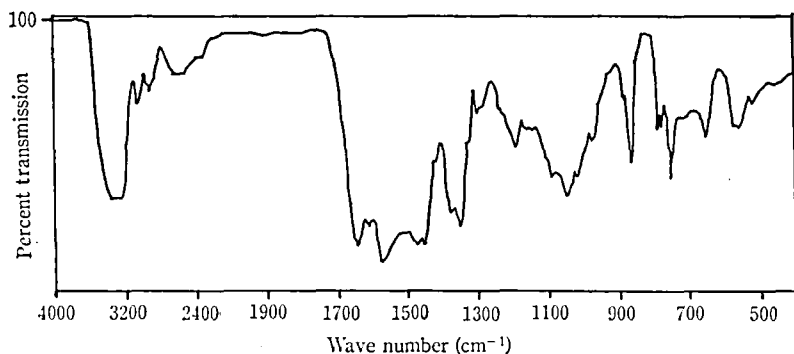


Fig. 1. Infrared spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard"

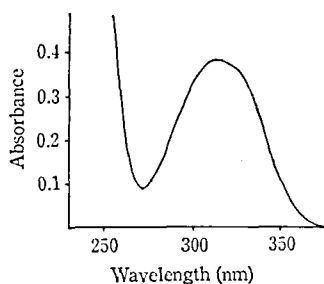


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 µg/ml)

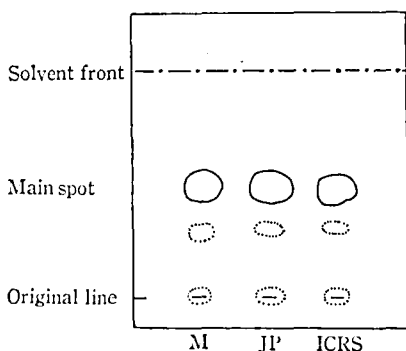


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of ergometrine maleate

M: material for ergometrine maleate reference standard

JP: Japanese pharmacopoeia standard (Control 711)

ICRS: international chemical reference substance

Conditions: thin-layer chromatographic plates was prepared with Wakogel B-10 and dilute sodium hydroxide TS. Layer thickness: 300 µ, solvent system: chloroform-methanol (4:1), detection: ultraviolet light 366 nm (blue fluorescent spots), developing distance: 15 cm, applied amount of sample: 200 µg

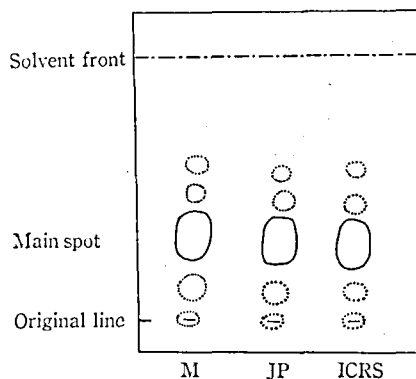


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of ergometrine maleate

Samples are identical to those described in Fig. 3.

Conditions; adsorbent: Wakogel B-10, layer thickness: 300 µ, solvent system: ethylacetate-N, N-dimethylformamide-methanol (130:19:1), detection: ultraviolet light 366 nm (blue fluorescent spots), developing distance: 15 cm, applied amounts of sample: 150 µg

2. 試料及び試薬: 国際化学参照物質 (Control No. 167012), 日本薬局方標準品 (Control 711), 他の試薬は試薬特級品を用いた。

3. 装置: 分光光度計 (島津 QV-50 型), 自記分光光度計 (島津 Double-40R 型), 赤外分光光度計 (日本分光製 DS-403G 型), 自動旋光計 (応用電気研究所製 MP-1T 型), pH スタット (東亜電波製)。

4. 試験方法: 特に記すものほかは, JP IX の一般試験法及び医薬品各条“マレイン酸エルゴメトリン”の試験方法を準用した。

5. 試験成績

- 1) 性状: 白色結晶性粉末でにおいはない。
- 2) 融点 (分解点): 184.3° (n=4)

Table 1. The percent contents of ergometrine maleate by three assay methods

Sample	JP method ¹⁾	UV method ²⁾	Non-aqueous ³⁾ titration
JP	100.0% (n=12)	100.0% (n=8)	100.0% (n=3)
M	99.9% (n=12)	100.9% (n=8)	99.8% (n=5)

Samples are identical to those described in Fig. 3.

1) Absorbances of standard and sample solution are measured at a wavelength of 550 nm after developing color with *p*-aminobenzaldehyde-ferric chloride TS.

2) Absorbances of aqueous solution of standard and sample solution are measured at a wavelength of 312 nm.

3) Sample is dissolved in acetic acid and potentiometrically titrated with 0.01 N-perchloric acid.

In 1) and 2), Japanese pharmacopoeia standard (control 711) is used as the standard.

n: number of tested samples

3) 赤外吸収スペクトル：KBr錠剤法で測定した標準品原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

4) 紫外吸収スペクトル：標準品原料の水溶液における紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。

5) 旋光度： $[\alpha]_D^{20} + 52.6^\circ$ (n=4, 乾燥後, 0.1 mg, 水, 10 ml, 100 mm)

6) 乾燥減量：1.2% (0.2 g, シリカゲル, 4時間)

7) 薄層クロマトグラフ法²⁾：標準品原料, 日本薬局方標準品及び国際化学参照物質のそれぞれ 5mg を 1 ml のメタノールに溶かし, 直ちにその 30~40 μ l を

スポットし, 展開した結果を Fig. 3 と Fig. 4 に示す。紫外線照射 (366 nm) により検出したところ, Fig. 3 では 2 個, Fig. 4 では 4 個の青色蛍光物質を認めた。しかし, JP IX で用いられている *o*-ジメチルアミノペンズアルデヒド試薬を噴霧する方法では, 各サンプルとも主スポット以外のスポットを認めなかった。

8) 定量：日本薬局方標準品と比較した定量値を Table 1 に示す。JP 法と UV 法は日本薬局方標準品を 100% としたときの値である。標準品原料は JP 法, UV 法及び非水滴定法で, それぞれ 99.9%, 100.9%, 99.8% であった。

結 論

標準品原料として入手したマレイン酸エルゴメトリンを, 日本薬局方標準品及び国際化学参照物質と比較検討した。その結果, 各種試験方法での値は良好であり, 特に定量値は日本薬局方標準品と一致した。また, 薄層クロマトグラフ法による不純物の検索では, 日本薬局方標準品及び国際化学参照物質と同一位置に同数の不純物スポットを認めた。これらの試験結果より, 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, Control No. 751 として配布した。

終わりに, 標準品を製造するに当たり, 協力していただいたサンド薬品株式会社, WHO 化学参照物質センターに感謝いたします。

文 献

- 1) 第九改正日本薬局方, p. 537 (1976) 厚生省版
- 2) J. L. McLaughlin, J. E. Goyan, A. G. Paul: *J. Pharm. Sci.*, 53, 306 (1964)

国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “レセルピン
標準品 (Control 761)” について

太田美矢子

On the National Institute of Hygienic Sciences Standard (the Japanese Pharmacopoeia
Standard) “Reserpine Reference Standard (Control 761)”

Miyako OHTA

The “Reserpine Reference Standard” (Control 761) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained; melting point: 265° (decomposition), optical rotation: $[\alpha]_D^{20} = -121.3^\circ$, loss on drying: 0.0%, nitrogen: 4.74%, assay: 100.5% by JP method (UV; λ_{268}) against former JP Standard (Control 711), and 100.7% by non-aqueous titration. Five contaminants were detected by thin-layer chromatography. On the basis of the results, the material of reserpine was authorised as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 761).

(Received May 31, 1980)

第九改正日本薬局方 (JP IX) のレセルピン, 同散, 同錠, 同注射液の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) を製造したので報告する。

1. 原料: 日本チバガイキョー株式会社より購入した。
2. 試料及び試薬: 日本薬局方標準品 (Control 711), 他の試薬は試薬特級品を用いた。
3. 装置: 分光光度計 (島津 QV-50 型), 高感度自記分光光度計 (ユニオン技研製 SM-401 型), 赤外分光光度計 (日本分光製 DS-403G 型), 自動旋光計 (応用電気研究所製 MP-IT 型), 滴定制御式記録装置 (平沼産業製 RAT-1), 窒素自動分析装置 (コールマン社製 29 型)
4. 試験方法: 特に記すもののほかは, JP IX の一般試験法及び医薬品各条 “レセルピン” の試験方法を準用した¹⁾。

5. 試験成績

- 1) 性状: 淡黄色の結晶性粉末でにおいはない。
- 2) 融点 (分解点): 265°
- 3) 赤外吸収スペクトル: KBr錠剤法で測定した標準品原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これは日本薬局方標準品の赤外吸収スペクトルと同一であった。
- 4) 紫外吸収スペクトル: 標準品原料をクロロホルム及び 5N 酢酸に溶かしたときの紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。
- また, 5N 酢酸に溶かしたときの波長 268 nm 及び 290 nm における標準品原料の $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ の値は, それぞれ 284 と 192 であった。
- 5) 旋光度: $[\alpha]_D^{20} = -121.3^\circ$ (乾燥後, 0.25 g, クロロホルム, 25 ml, 100 mm)

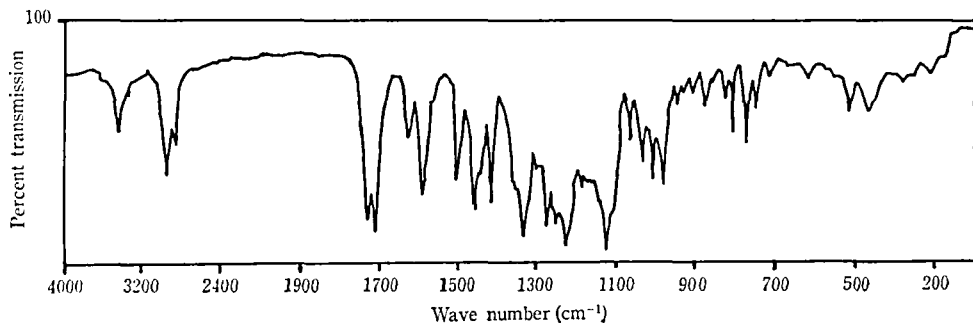


Fig. 1. Infrared spectrum of material for “Reserpine Reference Standard”

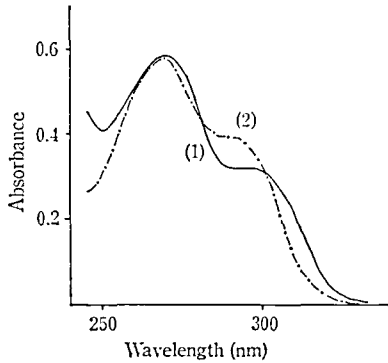


Fig. 2. Ultraviolet spectra of material for "Reserpine Reference Standard"

- (1) 9.95 mg per 500 ml of chloroform
- (2) 10.35 mg per 500 ml of 5N acetic acid

6) 他のアルデヒド：クロロホルム溶液中での波長 268 nm 及び 295 nm における吸光度比 (A_{268}/A_{295}) を測定するとき、標準品原料及び日本薬局方標準品は 1.84 と同一の値を示し、両者ともに 380 nm に分解物の吸収を認めなかった。

7) 乾燥減量：0.00% (0.2 g, 減圧, 60°, 3時間)

8) 窒素：4.74% (理論値 4.60%)

9) 薄層クロマトグラフ法：標準品原料及び日本薬局方標準品の 5 mg をクロロホルム 0.5 ml に溶かし、その 20~40 μ l をスポットし、展開した結果を Fig. 3 に示す。薄層板はシリカゲル GF₂₅₄ を用いた。254nm の紫外線照射では、レセルピンのみ黒色スポットとして検出され、不純物スポットは認められなかった。366 nm の紫外線照射ではレセルピン自身は検出されないが、標準品原料及び日本薬局方標準品ともに、400 μ g の塗布では 5 個の蛍光物質を認めた。

10) 定量：標準品原料を JP IX の定量法により、日本薬局方標準品 (Control 711) を標準として定量するとき、100.5% ($n=4$) を与えた。また、0.01 N 過塩素酸を用いた非水滴定法では、標準品原料は 100.7% ($n=4$) であった。

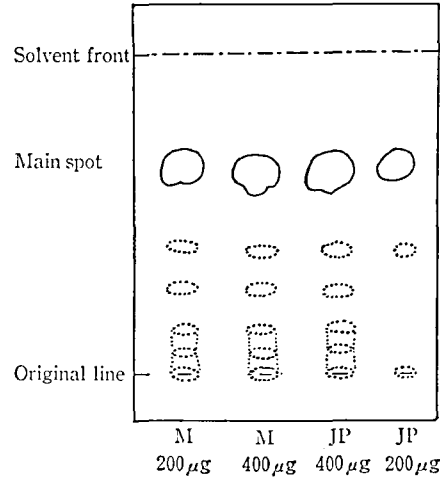


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of reserpine
M: Material for reserpine reference standard
JP: Japanese pharmacopoeia standard (Control 711)

Conditions: adsorbent: silica gel GF₂₅₄, layer thickness: 250 μ , solvent system: chloroform-acetone-diethylamine (5 : 4 : 1), detection: ultraviolet light (254 nm and 366 nm), developing distance: 10 cm

結 論

標準品原料として入手したレセルピンを、日本薬局方標準品と比較検討した。その結果、各種試験方法での値は良好であり、特に定量値は日本薬局方標準品と一致した。薄層クロマトグラフ法による不純物については、日本薬局方標準品と一致した。これらの試験結果により、今回入手した標準品原料は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、Control No. 751 として配布した。終わりに、標準品を製造するに当たり、協力していただいた日本チバガイギー株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 第九改正日本薬局方, p. 632 (1976) 厚生省版

輸入バーボンウィスキー中のフタル酸エステル類

斎藤行生・武田明治・内山 充

Phthalic Acid Esters in the Imported Bourbon Whisky

Yukio SAITO, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The imported Bourbon whisky was contaminated with 0.06 ppm of dibutyl phthalate and 1.2 ppm of butylphthalylbutyl glycolate, the latter originated from the packing in the cap of the glass vessel.

(Received May 31, 1980)

昭和46年、東京多摩川の水の中にフタル酸エステルが検出されたことが契機となってフタル酸エステル類による環境汚染が明るみに出るにいたり、“第二のPCB”による広域汚染として新聞紙上をにぎわした。

また、昭和49年、50年にはフタル酸エステル類による食品の汚染が大きく報道された。

その後、分析法の確立、毒性試験、バックグラウンド調査が精力的に行われ、フタル酸エステルの性質、汚染の実態等が明らかになるにつれて、いわゆる“第二のPCB”事件は沈静に向った。

今回、輸入ウィスキー中のフタル酸エステル類を分析した結果、butylphthalylbutyl glycolate (BPBG) 及び dibutyl phthalate (DBP) が検出された。以下に分析データ及びその汚染源について報告する。

実験方法

1. 材料

BEAM BOURBON (KENTUCKY STRAIGHT BOURBON WHISKY), Bottled for Export from USA, 4/5 Quart (約 757 ml), pH 4~4.5

2. 分析法

2-1. バーボンウィスキー中のフタレート分析

試薬の精製は前報¹⁾にしたがった。試料 50 ml に 5% 硫酸ナトリウム溶液 20 ml を加え、*n*-ヘキサン 30 ml で 3 回抽出し、*n*-ヘキサン層を 5% 硫酸ナトリウム溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下 1 ml に濃縮し、ガスクロマトグラフにより分析した。同定にはガスクロマトグラフ・質量分析計を用いた。

2-2. バーボンウィスキー容器の蓋のパッキング中のフタレートの分析

試料容器の蓋のパッキング (重量 0.3 g, 直径 2.5 cm) を 50 ml の *n*-ヘキサンに浸し、時々振り混ぜながら、3 週間後に *n*-ヘキサン溶液 1 μ l をガスクロ

マトグラフに注入し、フタル酸エステル類を定量した。

2-3. ガスクロマトグラフィーの条件

ガスクロマトグラフ：島津 GC-4BM (電子捕獲型 ⁶³Ni 検出器付き)

カラム：3 mm id × 1.5 m, 5% OV-17/Gas Chrom Q (60~80メッシュ)

試料注入口及び検出器温度：280°

カラム温度：210°

キャリアガス：高純度窒素, 0.8~1.0 kg/cm²

感度：10² M Ω , 8 × 10⁻² V

2-4. ガスクロマトグラフ・質量分析計による測定条件

ガスクロマトグラフ・質量分析計：Dimaspec Model 321 (Model 320 Data System 付き)

カラム：3 mm id × 1.0 m, 2% OV-17/Gas Chrom Q (60~80メッシュ)

注入口温度：220°

イオン源温度：170°

キャリアガス：He, 3.6 kg/cm²

結果及び考察

検体のバーボンウィスキーから BPBG 及び DBP がそれぞれ 1.2 ppm, 0.06 ppm 検出された。BPBG はわが国ではチューインガム、食品包装材料に使用されていたとされているが、昭和50年初頭より3箇年にわたって行われた食品中のフタル酸エステル類の実態に関する研究では、約1500件の試料の中に BPBG が検出された試料は一例もなかった。

チューインガムへの使用は業界の自主規制により使用されなくなったといわれている。

一方 DBP は前述の実態調査でもかなりの数の食品に含まれていることが判明している。

今回のバーボンウィスキー中のフタレートとしては

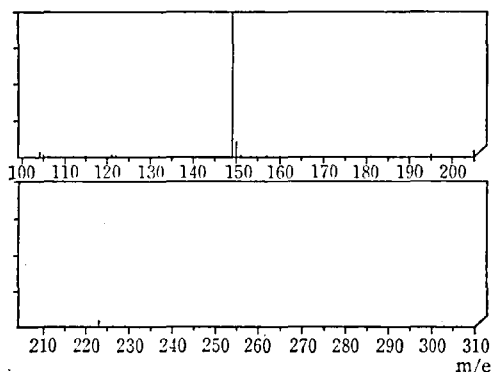


Fig. 1. Mass spectrum of DBP in the imported Bourbon whisky

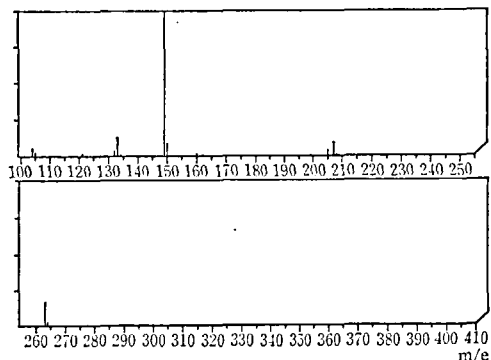


Fig. 2. Mass spectrum of BPBG in the imported Bourbon whisky

BPBG が 1.2 ppm, DBP が極く微量の 0.06 ppm であり, BPBG より少なかったという事実は, わが国のフタル酸エステル汚染の傾向とはまったく異なっており, この汚染の原因が, ウィスキー製造過程にあるとするよりも, 容器のガラスビンの蓋に汚染源があると考えの方が自然であったので, 分析を行ったところ, 重さ 0.3 g, 直径 2.5 cm の蓋の中のパッキングから 50 ml の *n*-ヘキサン中に, 3週間に 435 μ g の BPBG

が溶出してきた. それで BPBG の汚染源は蓋の中にあるパッキングであることが判明した. 更に, DBP 及び BPBG をガスクロマトグラフ・質量分析計を用いて確認同定した (Fig. 1, 2).

文 献

- 1) 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 17, 170 (1976)

マヨネーズ、マーガリン及びショートニングの規格基準に関する検討

三原 翠・近藤龍雄・内山 充

Studies on the Valuation of Peroxide Value and Acid Value of Mayonnaise, Margarine and Shortening for Establishing Food Standards

Midori MIHARA, Tatsuo KONDO and Mitsuru UCHIYAMA

As the reference for establishing food standards, peroxide value and acid value of mayonnaise, margarine and shortening was measured.

Both acid value and peroxide value increased with the lapse of time after manufacture. Significantly high peroxide values were recognized in the surface of mayonnaise.

These results suggest that the sampling site should be defined for the evaluation of peroxide value of mayonnaise.

(Received May 31, 1980)

緒 言

油脂は生体内エネルギー源としてばかりでなく生体

膜の構成成分として重要な栄養素であり, しかも他の栄養素とは異なり微生物に由来する成分変化を起こさない代わりに, 酸素による劣化を起こし, 悪臭や有害

成分を生じることが知られている。酸素による劣化・酸敗は油脂の不飽和結合が異性化してフリーラジカルを生じ、そこに酸素を付加し、更にラジカル反応によって連続的に油脂の酸化が進行するもので、過酸化物を蓄積し、そして分解してアルデヒドやケトンなどの低分子化合物を生成したり¹⁾、重合を起こして高分子化合物を形成したりする²⁾。

酸化された油脂中には強い毒性物質の生成することが実験動物を用いて報告されており^{4,5)}、実際の食品によっても昭和39年に変敗油脂によると思われる食中毒事故が起こっている。これは「即席ラーメン中毒事件」と一般に言われているもので、主な症状は下痢、腹痛、嘔吐、倦怠感などであり、ラーメンに約17%含まれていた油脂が流通保存期間中に酸化して生じた有害物質が原因と考えられている^{6,7)}。

このような事実から食品、特に油脂を含有し、しかも大量生産される食品は、油脂の酸化の観点から食品の規格基準を定めることが要望される。

昭和52年には即席めんについて油脂に関する基準が設定された⁸⁾。現在はこのほかに油脂含有菓子についても指導基準が示されている⁹⁾。更に油脂含有量の高い食品についてもこのような観点から検討するため、今回はマヨネーズ、マーガリン、ショートニングをとりあげ、油脂の変敗についての基礎的検討を行った。

方 法

油脂の抽出：マヨネーズ・マーガリンの場合は試料40gをピーカーにとり、無水硫酸ナトリウム40gを

加えてガラス棒でかき混ぜ、10分間放置した。その後精製エチルエーテル（即席めんの項⁸⁾に準じる）60mlを加え、よくかき混ぜ遠心分離後エーテル層を取った。エーテル抽出をもう1回行った後、エーテル層を合わせて無水硫酸ナトリウムで脱水後、窒素気流中で30°以下で濃縮し、試験用油脂とした。ただし、マヨネーズの場合の酸価測定用油脂は合わせたエーテル層を脱水する前に分液ロートに移し、飽和食塩水で6~7回洗浄し、洗液がメチルオレンジで赤変しないことを確認してから脱水濃縮した。なお、ショートニングは油脂のみからできているので、そのままを試料とした。

過酸化物価の測定：上記の方法で抽出した油脂について、即席めんの過酸化物価測定法⁸⁾に準じた。

酸価の測定：同上の酸価の測定法⁸⁾に準じた。

結 果

市販のマヨネーズ、マーガリン及びショートニングを購入し、過酸化物価並びに酸価を測定し、メーカー別あるいは包装形態別の違いを比較したのがTable 1である。各々の値は2回測定した平均値で表してある。

Table 1より明らかなように、酸価はマヨネーズではメーカーによる違いが大きく、経時的変化はあまり認められていない。一方、過酸化物価はマヨネーズでは製造後の時間が経過しているものほど高い値となっている。包装形態の違いはビンとチューブにおいては過酸化物価の上昇に影響を与えていないが、給食用小袋のみが、製造後の時間の経過の割に高い値となっている。

Table 1. Acid value and peroxide value of mayonnaise, margarine and shortening

	Maker	Period after manufacture (month)	Type of packing	Acid value	Peroxide value
Mayonnaise	Q	1	tube	0.26	0.30
	"	2	"	0.34	0.55
	"	2	for the supply food	0.32	2.48
	"	4	bottle	0.45	0.32
	"	4	"	0.36	0.24
	"	7	tube	0.71	3.09
	A	1	"	0.13	1.18
	"	1	"	0.11	0.80
Margarine	F	1	case	0.04	0.62
	Y	2	"	0.08	0.34
	A	4	"	0.07	1.16
Shortening	C	> 4	can	0.19	0.31
	T	3	"	0.14	0.32

Table 2. Comparison of peroxide value at various parts of mayonnaise, margarine and shortening

	Period after manufacture (month)	Type of packing	Peroxide value		
			Upper*	Middle	Lower
Mayonnaise	1	tube	2.20	0.30	—
	2	"	4.04	0.55	0.35
	7	"	54.23	3.08	0.68
	1	"	5.37	1.18	—
	1	"	1.30	0.80	—
	3	bottle	8.35	—	0.32
	3	"	3.97	—	0.24
Margarine	1	case	1.32	—	1.16
	2	"	0.37	—	0.34
	4	"	0.47	—	0.62
Shortening	3	can	0.30	—	0.31
	> 4	"	0.28	—	0.31

* Upper means the surface (1 cm thick) of bottled, packed and canned sample or first 30 g portions of tubed mayonnaise.

マーガリンにおいても過酸化値は製造後の経時の変化が認められるようであるが、マヨネーズほどではない。

以上の結果から同一の製品であっても空気と接触している部分の酸化が特に進んでいる可能性があるため、表面（空気接触部分）と内部を別々に測定し部位による違いを調べた。即ちチューブ入りの場合は絞り出しはじめの 30 g (上) と次の 40 g (中) 場合によっては更に 40 g (下) をとって試料とし、ビンや箱入りの場合は表面 1 cm まで (上) と 1 cm 以下 (下) を試料とした。その結果を Table 2 に示す。

酸価も同様に各部位について測定したが、部位による値の差はほとんど認められなかったので表には示さなかった。Table 2 より明らかなように部位による過酸化値の変化は明らかで、特にマヨネーズでは顕著である。マーガリンは内部と表面部の違いはあまりなく、製品が古くなれば内部も変化していることがわかる。ショートニングは缶詰であるので内部と表面の違いはほとんど認められなかった。

考 察

マヨネーズは油分が60~70%の水油型のミセルを形成しており、マーガリンは70~75%の油分をもつ油中水型のミセルを形成している。そのため「即席めん」の方法のようにエーテルのみの抽出では分離が悪いため、無水硫酸ナトリウムを加えてミセルを破壊するとともに脱水も行い、速やかに分離できる方法を採用し

た。ショートニングは油脂のみで構成されているので、このような処理は必要なく、直接エーテルに溶解して用いた。

酸価の測定はマヨネーズの場合、酢酸を含有しているため除去操作が必要であり、洗浄回数が多いのは難点である。酸価は経時的に増大の傾向であるが、空気による影響は少なく、そしてマーガリンよりマヨネーズのほうが高い傾向があり、同じマヨネーズでもメーカーによって差があることがわかった。マヨネーズ製造時の油脂は酸価0.1以下の自主規格があることを考えると、酸性条件下のために加水分解が進行しやすいと考えられるが、食品衛生上問題となるような高い値は認められていない。

一方、過酸化値はマーガリンでは空気との接触部分と内部で、その値に差はないのに、マヨネーズでは大きく異なっており、マヨネーズでは酸素の存在下で脂質過酸化が進行しやすいことが明らかとなった。即席めんでは過酸化値は30以上が「不適」とされているが、製造から7箇月を経過した商品においては部分的にこれ以上の値を示すことが明らかとなった。油脂の過酸化は誘導期間を過ぎて対数増大期に入ると急激に進行することはよく知られており、過酸化値30-50は、その後の急速な増加を予知する一応の目安となるために定められた数値である。したがってマヨネーズ中の油脂も保存状態によっては必ずしも安定でないことを示唆しており、賞味期間が7箇月であることは問題に思える。しかも部位による差が非常に大きいこと

を考えると、取出口付近は測定値よりはるかに高い値となっているであろうし、7箇月未満の製品でも取出口付近はかなり高くなっていることが推測される。

空気部分を窒素置換することでこのような変化を抑制できるであろうが、便宜的に初めの一絞りを捨てる習慣をつけるのも一案であろう。

以上の結果を「即席めんの規格基準」⁸⁾の酸価3、過酸化価30を基にして判断すると、マヨネーズ、マーガリン及びショートニングにおける油脂の酸価及び過酸化価は経時的な変化は認められるものの、マヨネーズを除いては食品衛生上問題となる点は見出されなかった。

マヨネーズにおいてはどのような試料採取をするかによって製品の良否が大きく変わる可能性があり、検査部位をどう定めるかは重大な問題である。

文 献

- ✓ 1) L. K. Dahle, E. C. Kill, R. T. Holman: *Arch. Biochem. Biophys.*, **98**, 253 (1962)
- 2) 松尾 登: 油化学, **18**, 447 (1969)
- 3) 大藤武彦, 金田尚志: 油化学, **19**, 486 (1970)
- 4) 金田尚志: 食衛誌, **11**, 321 (1970)
- 5) 松尾 登: 栄養と食糧, **10**, 41 (1958), **12**, 206, 210 (1959)
- 6) 伊藤善志男, 磯部公明, 関田 寛, 大沢誠喜, 武田明治, 田辺弘也, 長尾重之: 食衛誌, **11**, 268 (1970)
- 7) 関田 寛, 大沢誠喜, 伊藤善志男: 食衛誌, **11**, 275 (1970)
- 8) 食品衛生法, 食品, 添加物の規格基準, 第一, 食品D (昭和52年2月18日厚生省令第3号)
- 9) 菓子指導要領, 環食第248号 (昭和52年11月16日)

食品中の残留農薬の分析に関する研究 (第30報) 食品及び飲料水中に残存するヘキサクロロベンゼン (HCB) の ガスクロマトグラフィー・質量分析法による確認

関田 寛・武田明治・斎藤行生・内山 充

Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods XXX Identification of Hexachlorobenzene (HCB) Residue in Foods and Drinking Water by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Hiroshi SEKITA, Mitsuharu TAKEDA, Yukio SAITO and Mitsuru UCHIYAMA

In the 1979 fiscal year the actual residues of polychloronaphthalene (PCN) and hexachlorobenzene (HCB) in several species of foods (e.g. rice, vegetables, meat, milk, eggs and fish) and drinking water in Japan were investigated by the Ministry of Health and Welfare by the collaboration with eight prefectures. PCN was not detected at all by means of gas chromatography with ECD (ECD-GC) in the all samples collected in this research, while HCB was detected in many food samples and some water samples. This report deals with the investigation for cross-checking of HCB by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As a result HCB was confirmed in the all samples which were preliminarily estimated to contain by ECD-GC except one water sample.

(Received May 31, 1980)

ヘキサクロロベンゼン (HCB) はポリ塩化ナフタレン (PCN) とともに、昨年8月「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(通称「化審法」)第2条第2項に規定する“特定化学物質”に指定された。

両物質ともわが国では既に数年前から製造も輸入も行われておらず、環境汚染の状況は低いと考えられており、现阶段では保健衛生上の問題はないと評価され

てはいるが、厚生省では両物質の環境汚染の現状を把握する目的で、調査対象地域として PCN 又は HCB を製造又は使用していた工場の存在する地域を中心として全国より8都県を選定し、「PCN 及び HCB の食品及び飲料水中における存在状況に関する実態調査」を実施した。

著者らは本プロジェクトの一環として、食品中の

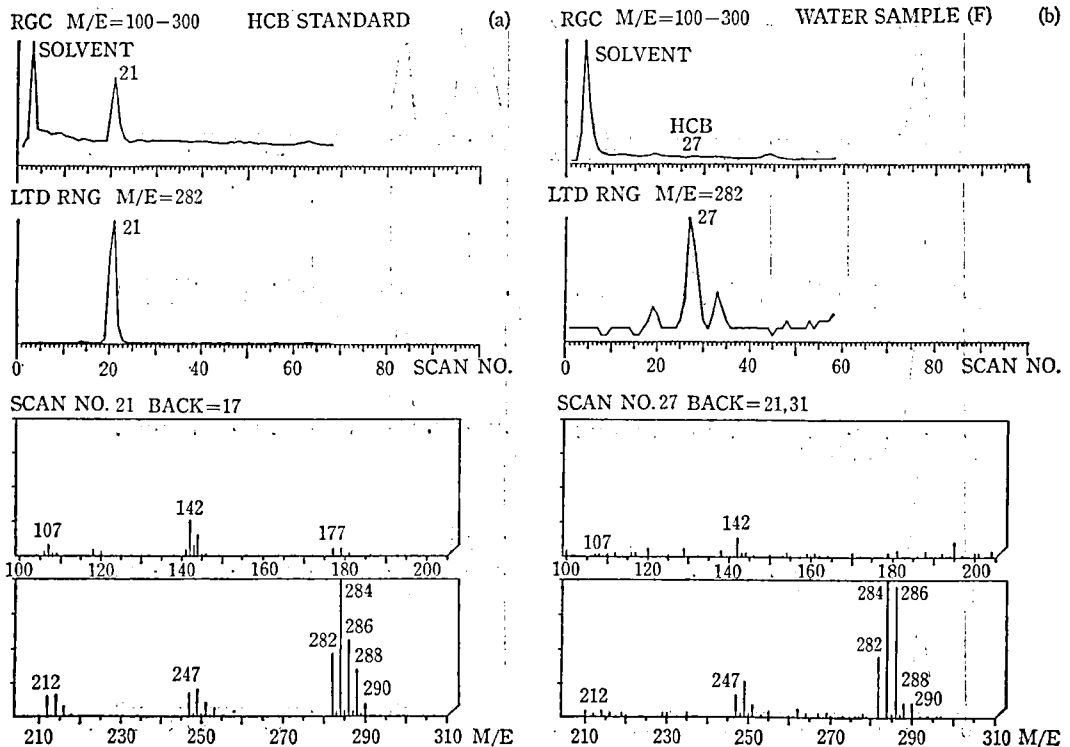


Fig. 1. Total ion chromatograms, mass chromatograms and mass spectra of HCB standard and HCB extracted from drinking water measured under the condition (a)

a: standard

b: water sample (F)

PCN 及び HCB の標準分析法を確立すること、検体から電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (ECD-GC) によって PCN 又は HCB が検出された場合には、必要に応じてガスクロマトグラフィー・質量分析法 (GC-MS) により確認することの両者を分担し、HCB の試験法の一部は前報¹⁾に報告した。

今回の調査研究を通じて PCN が検出された例はまったく無かったが、HCB は多種多様の食品及び少数の飲料水から検出されており、その中で飲料水試料 13 検体及び食品試料の一例としてサトイモ及び牛乳由来のガスクロマトグラフィー用試験溶液 (検液) について、GC-MS による HCB の確認を行ったので、その間の経過並びに結果について報告する。

試験方法

1. GC-MS 用試験溶液

ECD-GC により、HCB の検出された検液を適宜濃縮して GC-MS 用試験溶液とした。

2. 試薬

n-ヘキサン：和光純薬工業 (株) 製残留農薬試験用

HCB 標準品：BDH 社製ガスクロマトグラフィー用
HCB 標準溶液：HCB 標準品 10 mg を正確に秤取し、100 ml のメスフラスコに移し、n-ヘキサンに溶解し、定容としたものを保存溶液 (100 ppm) として冷蔵庫内に保存した。この保存溶液を n-ヘキサンで適宜希釈して 10 ppm、1 ppm 及び 0.1 ppm の GC-MS 用標準溶液を調製した。

3. GC-MS の測定条件

機種：Dupont 社製 Dimaspec 321 型

同社製のデータ処理装置 320 型を連結した
もの

充填剤：a, c) 2% OV-17/Gas chrom Q

b) 2% OV-101/Chromosorb W

カラム：a, c) 3 mm id × 1 m (ガラス製)

b) 3 mm id × 0.5 m (ガラス製)

カラム温度：a) 160° b) 170° c) 180°

注入口温度：200°

セパレーター温度：230°

イオン源温度：a, c) 180° b) 200°

イオン化電圧：70 eV

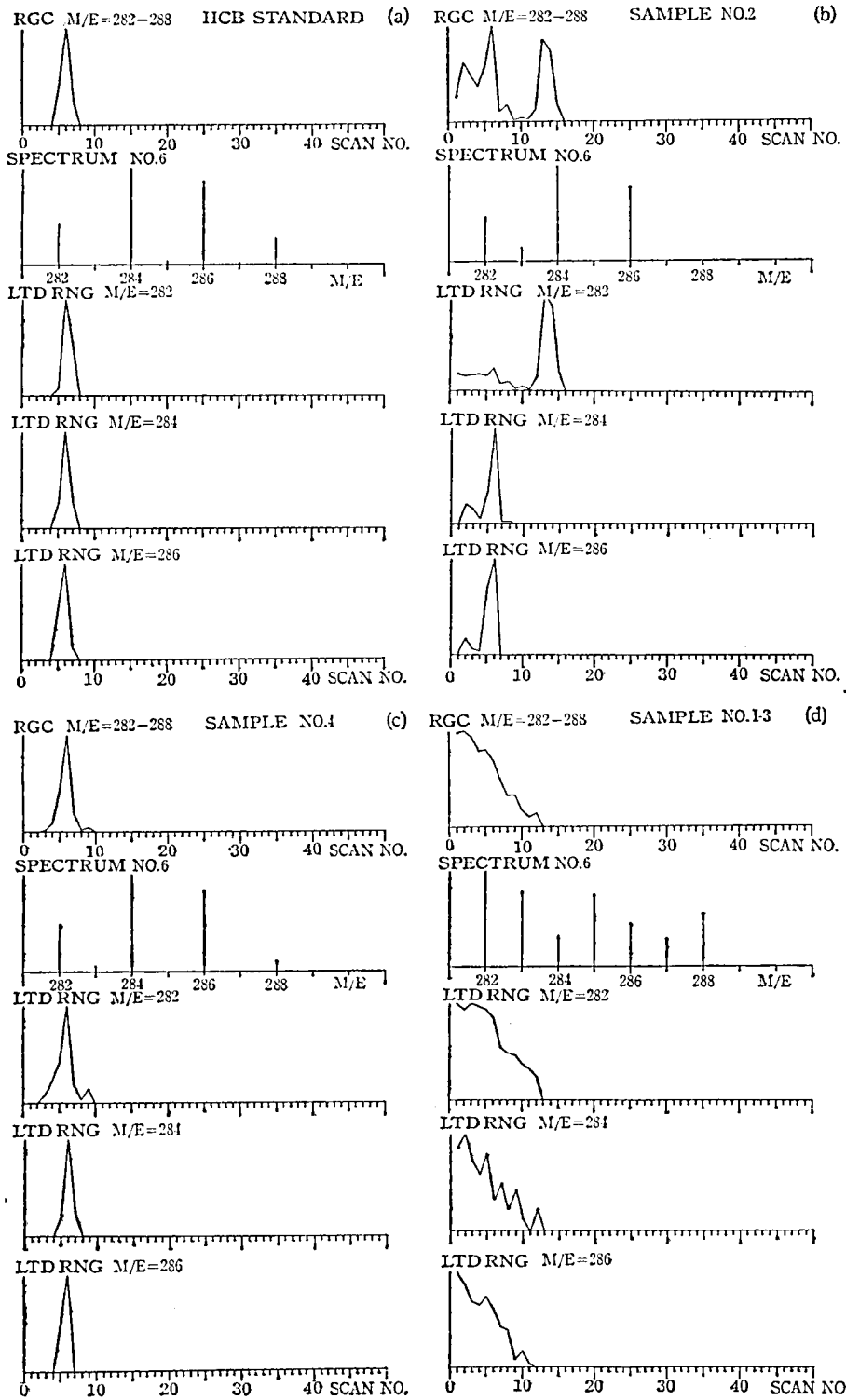


Fig. 2. Total ion chromatograms, mass spectra and mass chromatograms of HCB standard and HCB extracted from drinking water samples measured under the condition (b)
 a: standard b: sample No. 2 c: sample No. 4 d: sample I-3

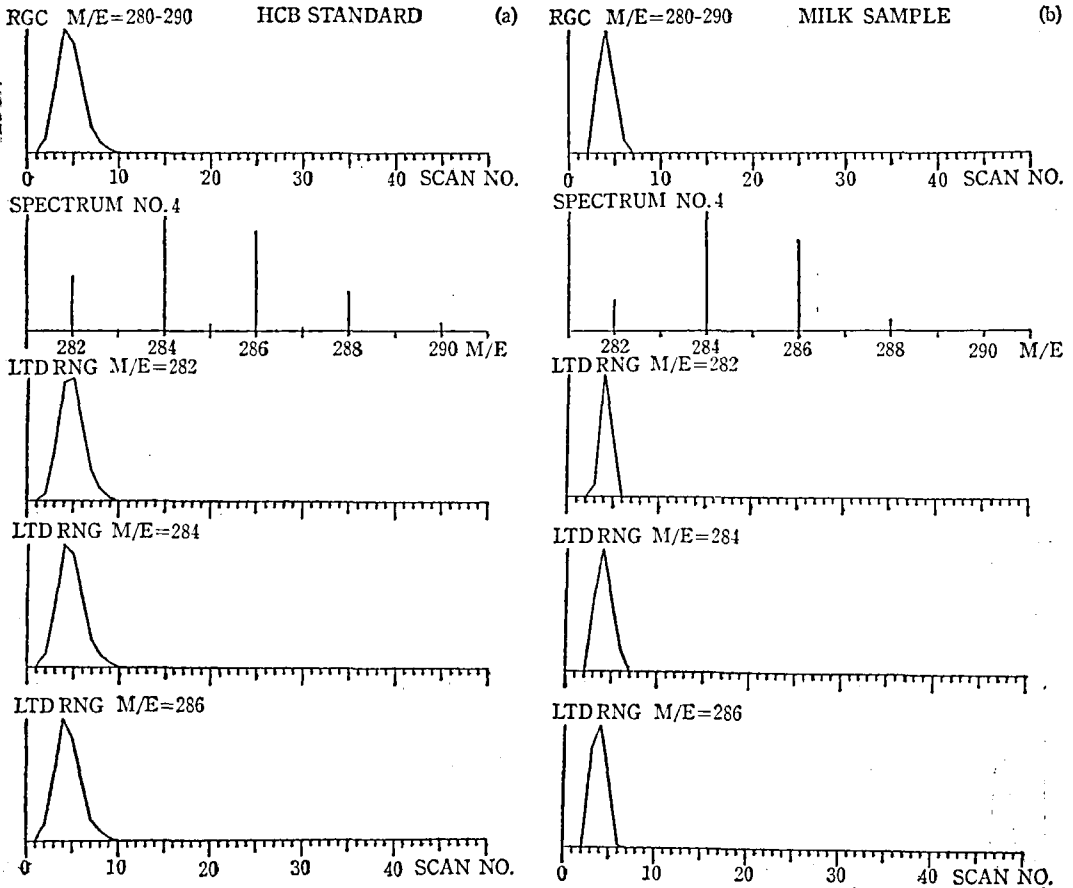


Fig. 3. Total ion chromatograms, mass spectra and mass chromatograms of HCB standard and HCB extracted from food samples measured under the condition (c)
a: standard b: milk sample (No. 6)

イオン化電流：500 μ A

イオン化法：EI 法

キャリアガス：He, 3.6 kg/cm²

試料注入量：1~5 μ l

試料注入からデータ入力までの時間：

a) 直後 b) 45秒後 c) 60秒後

質量範囲：a) 100~300 b) 282~288

c) 280~290

積分時間：a) 3 msec b) 100 msec c) 70 msec

Samples/AMU：a) 3 b) 7 c) 5

(Fig. 中の略号)

RGC=Reconstructed gas chromatogram

データ処理装置によって再現された全イオン
クロマトグラム

LTD RNG=Limited reconstructed gas chromatogram

データ処理装置によって再現された特定の
m/e のマスクロマトグラム

結 果

1. GC-MS による飲料水中の HCB の確認

測定条件 (a) で測定した際の HCB 標準品の全イオンクロマトグラム、マススペクトル及び m/e 282 のマスクロマトグラムを Fig. 1-a に示した。この測定条件下では HCB のマススペクトルは文献²⁾ に示されているものとはほぼ近似したパターンを示しており、m/e 282 に分子イオンピークが認められ、m/e 284, 286, 288 及び 290 に同位体ピークが認められた。また HCB 分子から塩素原子が 1~5 個脱離したとアサインされるフラグメントイオンピークが、分子イオンピークから順次 35 マズつ減じた位置である m/e 247, 212, 177, 142 及び 107 に認められ、またそれらの同位体

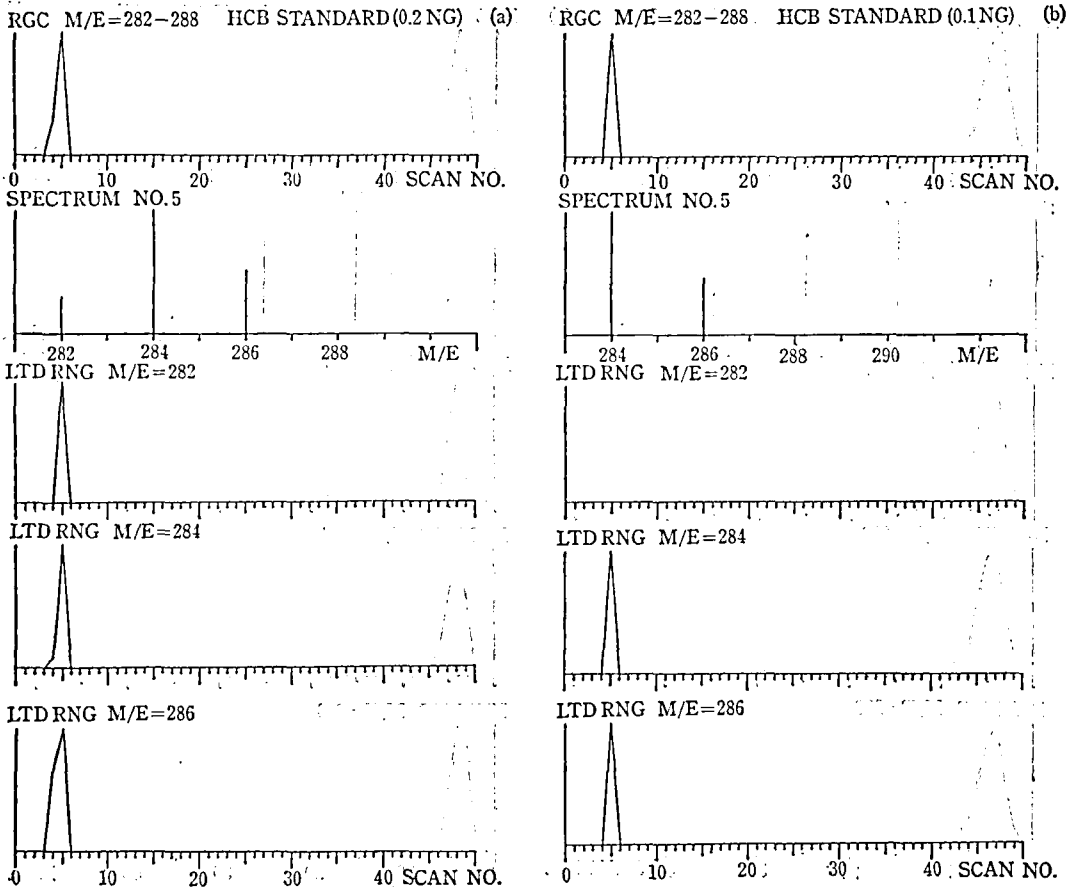


Fig. 4. Total ion chromatograms, mass spectra and mass chromatograms of HCB standards measured under the condition (b) for the minimum detectable limit

a: HCB, 0.2 ng b: HCB, 0.1 ng

ピークも認められた。しかしながら、測定条件 (a) においては HCB 含有量の比較的高い検液 (F) からのみ HCB の存在が確認されたに過ぎなかった (Fig. 1-b)。

そこで、カラムの充填剤の種類、長さ、温度などを変えて種々検討したところ、測定条件 (b) で測定した場合に残りの12検体から最良の結果を得ることができた。測定条件 (b) の質量範囲 m/e 282~288 には HCB の分子イオンピークとその同位体ピークが含まれるだけで、HCB の存在を確認することのできる最も狭い質量範囲である。

測定条件 (b) における HCB 標準品について得られた全イオンクロマトグラム、マススペクトル及びマス chromatogram を Fig. 2-a に、試料 (F) 以外の飲料水 12 検体について得られたもののうちから代表的な検体のパターンを Fig. 2-b~d に示した。試験した 12 検体すべてから m/e 282, 284 及び 286 の 3 個の HCB の

分子イオン及びその同位体に基づくピークが認められた。これら 12 検体について得られたそれぞれの全イオンクロマトグラム及びマス chromatogram を HCB 標準品から得られたものと照合した結果、試料 I-3 以外の 11 検体については、検液中に HCB の存在することが確認できた。しかし検液 I-3 から得られた全イオンクロマトグラム及びマス chromatogram においては、HCB の出現するべきスキャン番号の位置に混在物質によるものと思われる巨大なピークによって妨害されたために、マススペクトルにおいては HCB の分子イオンピーク及びその同位体ピークである m/e 282, 284, 286 及び 288 のイオンピークが認められたにもかかわらず、HCB の存在を明確に断定することができなかった (Fig. 2-d)。

2. GC-MS による食品中の HCB の確認

今回の調査で各種の食品から HCB が検出されてい

るが、その一例としてサトイモ及び牛乳から検出された検液について測定条件 (c) で GC-MS による確認試験を行ったところ、両者に HCB が存在することが確認できた。Fig. 3-b に牛乳由来の検液の GC-MS のパターンを示した。

3. GC-MS による HCB の検出限界

今回の調査研究において、GC-MS による HCB の確認試験における最高感度でしかも最良のクロマトグラムが得られる測定条件 (b) で、HCB の検出限界を検討したところ、Fig. 4 に示したように、質量範囲 282~288 におけるマススペクトルにおいて、HCB の分子イオンピーク及びその同位体ピークである m/e 282, 284 及び 286 の 3 個のイオンがすべて認められることを必須条件とした場合の HCB の最小検出量は 0.2 ng (2×10^{-10} g) であると判断した。なおこの測定条件で検液を 0.1 ml まで濃縮して、その 5 μ l を注入した場合の検液中の HCB の最小必要量は 4 ng (4×10^{-9} g) となり、検液 5 ml 中での HCB の検出限界は 0.8 ppb (約 1 ppb) となる。

ま と め

厚生省が全国より 8 都県の協力を得て昭和54年度に実施した「PCN 及び HCB の食品及び飲料水中における存在状況に関する実態調査」の一環として、各調査機関においてECD-ガスクロマトグラフィーで飲料水から HCB が検出された計13検体のガスクロマトグラフィー用試験溶液について、ガスクロマトグラフ

ィー・質量分析法で HCB の確認試験を行ったところ、1 検体を除いた他の12検体について HCB の存在を確認することができた。残りの 1 検体はマススペクトルにおいては HCB の存在をうかがわせていたが、全イオンクロマトグラム及びマスキロマトグラムにおいて巨大な妨害があったために、HCB の存在を明確に断定することができなかつた。更に食品由来（サトイモ及び牛乳）の検液についても同様の確認試験を行ったところ、HCB の存在を確認することができた。

今回のガスクロマトグラフィー・質量分析法による HCB の確認試験において、最高感度での測定条件における HCB の最小検出量は 0.2 ng であり、検液中の HCB の最小必要量は 4 ng であった。

なお今回の実態調査における各調査機関ごとの分析結果については、厚生省環境衛生局企画課を中心に目下とりまとめ中である。

本調査研究は昭和54年度環境庁環境保全総合調査研究促進調整費により実施した。

文 献

- 1) 関田 寛, 武田明治, 内山 充: 衛生試報, 97, 129 (1979)
- 2) S. I. M. Skinner, R. Greenhalgh: "Reference Guide Mass Spectra of Insecticides, Herbicides and Fungicides and Metabolites", Chemistry and Biology Research Institute, Research Branch, Agriculture, Canada, Ottawa. 1977

輸入食肉由来サルモネラの抗生物質感受性について (その3)
昭和51年~53年度分離株の成績について

河西 勉・鈴木 昭・小沼博隆

On the Antibiotic-Sensitivity *In Vitro* of *Salmonellae* Isolated from Imported Meats (III)
Results of the Isolates in 1976 to 1978

Tsutomu KAWANISHI, Akira SUZUKI and Hiroataka KONUMA

A total of 242 isolates of *Salmonellae* from various meats imported in 1976 to 1978 were identified for serovars and were examined for sensitivity to 8 antibiotics, including tetracycline (TC), streptomycin (SM), chloramphenicol (CP), kanamycin (KM), ampicillin (APC), sulfonamides (SA), nalidixic acid (NA) and colistin (CL), using the agar plate dilution method.

The results obtained were summarized as follows:

1. The 242 isolates were identified to 27 serovars. Among these serovars, *S. anatum*, *S. typhimurium*, *S. heidelberg* and *S. derby* were detected frequently. These serovars dominated in the proportion of approximately 60% in the total isolates. Of 27 serovars, the four serovars of *S. coeln*, *S. virchow*, *S. tanana rive* and *S. litchfield* were newly isolated from imported meats in our examination.

2. Of 242 isolates examined, 24 strains (9.9%) were resistance to at least any one drug used. The drugs resistance pattern detected were divided to six pattern i.e., [SM], [SM·CP], [SM·SA], [KM·SA], [TC·SM·SA]. The highest frequency pattern was [SM·SA] pattern (58.3%), followed by [SM·CP] pattern. It was found that approximately 83% of the resistant strains possessed the transferable R plasmids.

(Received May 31, 1980)

まえがき

近年、サルモネラ (サ菌) の薬剤耐性菌の出現はヒト由来物ばかりではなく食肉などから分離される菌株にも次第に増加してきていることは多くの調査研究によって指摘されてきている¹⁻⁴⁾。薬剤耐性菌の出現は疾病の治療、予防を困難にするばかりではなく、伝達性R因子の介在によって起こる耐性菌の拡大汚染という問題から公衆衛生上重要な問題を提起している。この種の問題を解決する対策をたてる場合、基本的に必要なのは耐性菌の分布状態を適格に把握する必要がある。このような観点から各分野においては広く調査研究がなされている。しかしながら、これら調査では国内由来分離株についての成績が多く、国外由来の菌株についての成績は極めて少ない。そこでわれわれは輸入食肉によって搬入されるサ菌の耐性の傾向を知る目的から、1965年以来、輸入肉由来株を対象に調査し、数回にわたり報告してきた^{5,6)}。今回もその調査研究の一環として昭和51年~53年度分離株について調査した成績について報告する。

材料及び方法

供試株：昭和51年~53年度に輸入の各種食肉から分離し実験室に保存中の242株を本実験に供試した。これら菌株の血清型及び由来別の内訳を Table 1 に示す。

供試薬剤、感受性試験及び伝達性試験：供試薬剤は Tetracycline (TC), Streptomycin (SM), Chloramphenicol (CP), Kanamycin (KM), Ampicillin (APC), Sulfonamides (SA), Nalidixic acid (NA), Colistin (CL) の8薬剤である。感受性試験は家畜の耐性菌研究会の方法⁷⁾に準じた寒天平板希釈法を用いた。平板への菌株接種には NI 式連続接種器 (池田理化製) を用いた。伝達性試験は感受性試験で耐性を示した菌株を Donor とし、*E. coli* K12-ML1410 (NA⁺) を Recipient として Brain Heart Infusion Broth (BHI) を用い、L字管で 37°, 3時間振盪混合培養した。そのあと NA 20 μ g/ml と耐性を示した薬剤の 20 μ g/ml (SA の場合は 400 μ g/ml) を添加した寒天平板培地に、1白金耳画線し、1夜培養した。培養後、平板上にコロニーの発育した菌株の原株をR因子保有株として伝

Table 1. Distribution of serovars and resistant strains

Serovars and No. of strains	Chicken meats										Horse meats		Beef
	USA	R. Korea	Thailand	P. R. China	Netherlands	England	Canada	New Zealand	Uncertainty	Brazil	Mexico	USA	
B <i>S. typhimurium</i>	33	1	17	4	2	3	2					4	
<i>S. heidelberg</i>	31(10)*	22(10)	8			1							
<i>S. derby</i>	26(7)		9(7)	6						10	1		
<i>S. java</i>	13			13									
<i>S. agona</i>	5	3		1		1							
<i>S. brandenburg</i>	5	1		1		3							
<i>S. saint-paul</i>	4(1)	1				1		1(1)	1				
<i>S. bredeney</i>	1	1											
<i>S. coeln</i>	1					1							
C ₁ <i>S. thompson</i>	17	14			3								
<i>S. infantis</i>	9	2	6			1							
<i>S. potsdam</i>	8				8								
<i>S. livingstone</i>	7	5			1	1							
<i>S. oranienburg</i>	6	3										3	
<i>S. ohio</i>	6	5			1								
<i>S. montevideo</i>	2	2											
<i>S. virchow</i>	1					1							
<i>S. bareilly</i>	1										1		
C ₂ <i>S. bovis-morbificans</i>	4(4)			4(4)									
<i>S. litchfield</i>	2		2										
<i>S. tananarive</i>	2			2									
<i>S. muenchen</i>	1(1)								1(1)				
<i>S. kentucky</i>	5	5											
D <i>S. enteritidis</i>	2			1		1							
E <i>S. anatum</i>	35	24			1	3						7	
<i>S. give</i>	8	3								5			
G <i>S. worthington</i>	1(1)								1(1)				
Unidentified	6	1		1	4								
Total	242(24)	93(10)	42(7)	33(4)	20	17	2	1(1)	1	2(2)	16	12	3

* Numbers in parentheses indicate numbers of resistant strains

達性陽性と判定した。耐性伝達を受けた *E. coli* の耐性型を更に検討した。

結果及び考察

1. 供試株の血清型

供試242株の血清型は Table 1 に示したように、一部型別不能を除いて27種の血清型に型別され、最も高率に検出されたものは *S. anatum* (35株) で、以下順に *S. typhimurium* (33株)、*S. heidelberg* (31株)、*S. derby*

(26株)、*S. thompson* (17株)、*S. java* (13株) で、これら血清型は全体の約64%を占めており、従来から常に多く検出される一般的な血清型であった^{5,6,8-10}。なお、今回の調査で初めて輸入肉から分離されたものは、*S. coeln* (B群)、*S. virchow* (C₁群)、*S. litchfield* (C₂群)、*S. tananarive* (C₂群) の4血清型であった。

検出血清型の肉種、国別の状況をみると、過去の成績^{5,6}と同様に、鶏肉からは多種類のものが検出されるのに対し、馬肉からは *S. anatum*、*S. derby* と限られた

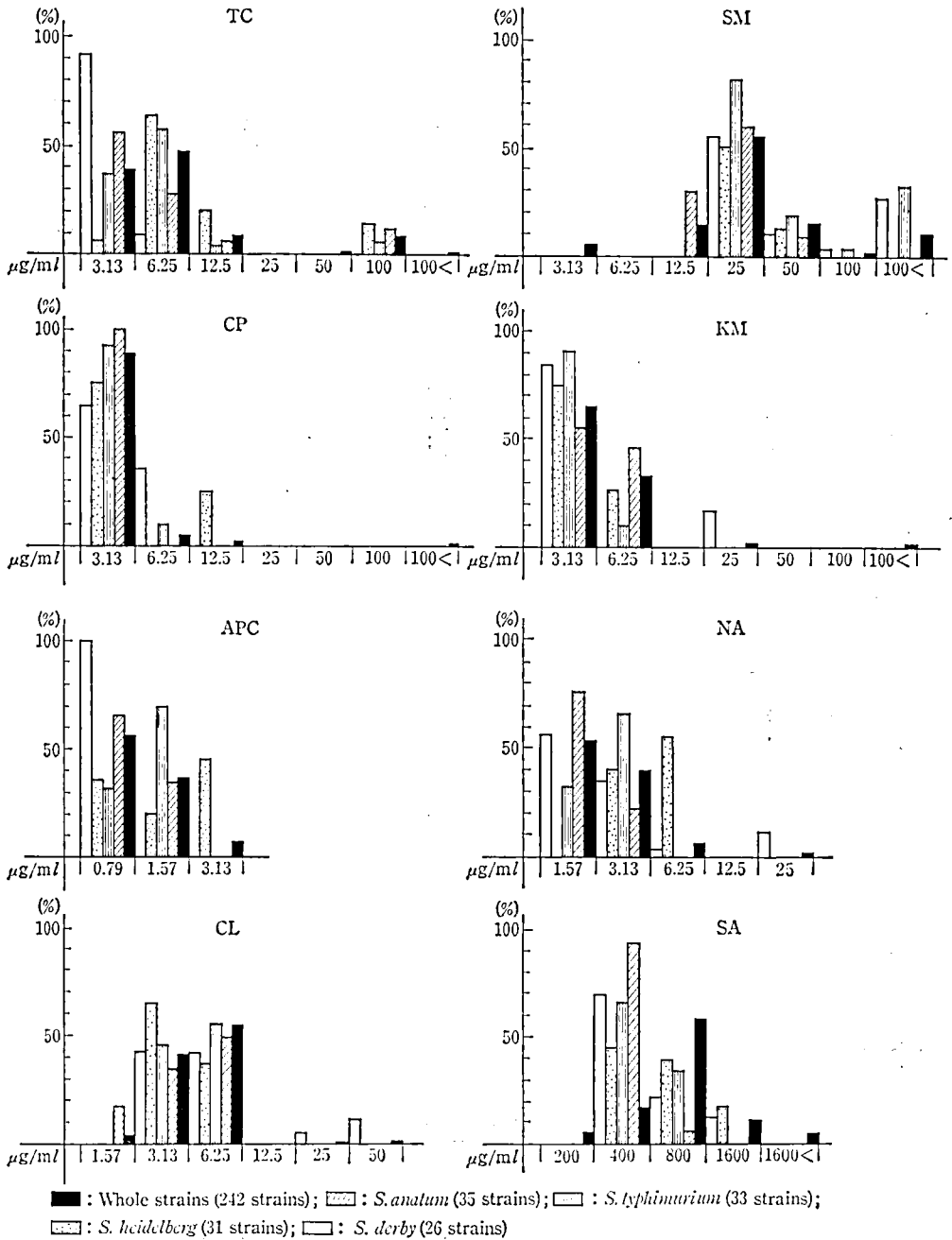


Fig. 1. Distribution of sensitivity to drugs of the isolates examined

血清型のみが検出された。一方、国別からみた分布傾向ではアメリカ、オランダ、タイからはそれぞれ16菌型、11菌型及び9菌型と比較的他の国々に比べて多く検出されたが、特に国別による特徴が認められなかった。なお今回分離された *S. typhimurium* の生物型を検討したところ、馬肉由来の4株を除く鶏肉由来株の全

株は、Brandis の生物型10型、Duguid の生物型26型、Cordano の生物型b型に型別され、先に著者¹²⁾が提案した鳥型タイプに属するものであった。

2. 供試株の薬剤感受性分布

供試株の8薬剤に対する感受性分布を Fig. 1 に示す。Fig. 1 に示したように、TC では 3.13~100 µg に分

Table 2. Isolation frequency of resistant strains

Drugs	No. of Resistant Strains (%)	
	100 µg/ml ≤	50 µg/ml
TC	1 (0.1)	16 (6.6)
SM	23 (9.5)	25 (10.3)
CP	4 (1.7)	4 (1.7)
KM	2 (0.8)	2 (0.8)
SA	16 (6.6)*	26 (10.7)**
APC	—	—
NA	—	—
CL	—	—

* 1600 µg/ml ≤ ** 800 µg/ml

布がみられ、6.25 µg と 100 µg にピークを示す2峯性分布を、SM では 3.13~100<µg に分布し、25 µg と 100<µg にピークを示す2峯性分布を、CP と KM では 3.13~100<µg に分布し、3.13 µg と 100<µg にピークをもつ2峯性分布を示した。したがって分布の幅も広く、耐性株の検出が認められた。また、SA では 200~1600<µg に分布がみられ、800 µg にピークを示す1峯性分布で分布幅が狭かったが、約5%に耐性株が検出された。これに対して APC(0.79~3.13µg に分布)、NA (1.57~25 µg に分布)、CL (1.57~50 µg に分布) では分布幅が狭く、ピークも 0.79 µg、1.57 µg、6.25 µg と上述の薬剤に比べ左方に片寄り、1株の耐性株も検出されなかった。以上のように供試薬剤のいずれか1剤以上に耐性を示したものは24菌株検出された。これら菌株の菌型及び由来別は Table 1 に示したように、*S. heidelberg*, *S. derby*, *S. saint-paul*, *S. bovis-morbificans*, *S. muenchen* 及び *S. worthington* の6菌型で大部分がB群に属するものであった。また、これら菌株の由来はアメリカ、韓国、タイ及びカナダの鶏肉由来のものであった。なお、オランダ、中国由来株からは耐性菌が検出されなかった。特に中国由来株からは過去の成績を含めて、不思議と高度耐性株が検出されていない。このことは、薬剤耐性菌の出現は薬剤の使用頻度と強い相関性があるという過去の報告例¹³⁾から考え合せてみると、中国での薬剤使用頻度が諸外国に比べて少ないのかもしれないことが伺われる。いずれにしても非常に興味のある事実である。

サ菌の耐性株の検出傾向は菌型とかなり相関性が高いことは、ヒト由来株において指摘されている¹³⁾。そこで比較的菌株数の多かった *S. anatum*, *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. derby* の4菌型について感受性分布の面から検討してみたところ Fig. 1 に示したように、

Table 3. Resistance pattern and isolation frequency of R factors

Resistance Pattern	No. of Strains	No. of Strains Carrying R Factors and Their Resistance Pattern
SM	3	3 SM (3)
SM-CP	4	4 { SM (3) SM-CP (1)
SM-KM	1	1 SM-KM(1)
SM-SA	14	11 { SM (4) SM-SA (7)
KM-SA	1	0
TC-SM-SA	1	1 SM-SA (1)
Total	24/242 (9.9%)	20/24 (83.3%)

S. derby 及び *S. typhimurium* が SM, NA 及び CL において他の菌型に比べ多少高い耐性値を示した程度で、ヒト由来株のように明確な傾向が認められなかった。

3. 耐性型分布とR因子保有率

供試242株の耐性株の検出頻度及び耐性型を Table 2 及び Table 3 に示した。

耐性株の検出傾向は 100 µg/ml (SA では 1600 µg/ml) 以上に高度耐性を示したものは24株で、SM に耐性を示したものが最も高率で9.5%であった。

一方、参考として 50 µg/ml での耐性率をみると、最高の SA で10.7%あった。このように高度耐性を示した24株の耐性株の耐性型は、SM を中心に TC, CP, KM 及び SA の組合せからなる6種のタイプに型別され、最も高率に検出されたタイプは [SM-SA] であった。これら耐性株の伝達性を検討した結果は Table 3 に示したように、TC, CP 及び KM の一部脱落を示したのもあったが、約83%の菌株が伝達性R因子の保有していたことが認められた。この結果は前報の成績⁶⁾ とかなり類似した結果であった。

前報⁶⁾ で CL (コリスチン) の濃度を µg/ml で表示し、100 µg/ml 以上耐性株の検出したかのように報告したが、U/ml の誤りに付き訂正する。因みに 100 U/ml を µg/ml で表わすと約 8 µg/ml となる。

要 約

昭和51年～53年度に輸入された各種食肉から分離した242株のサルモネラについて、血清型の同定と同時に薬剤感受性について調査した結果を要約すると以下の通りである。

1. 供試株は27種の血清型に同定され、最も高率に

検出されたものは *S. anatum* で以下, *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. derby* で, 全体の60%以上を占めていた, 今回の調査で初めて検出されたものは *S. coeln*, *S. virchow*, *S. tananarive*, *S. litchfield* であった.

2. 供試薬剤のいずれか1剤以上に耐性を示した菌株は24株(9.9%)で, SMに耐性を示す菌株が最も高率であった.

3. 検出耐性型はSMを中心とした[SM], [SM・CP], [SM・KM], [SM・SA], [KM・SA], [TC・SM・SA]の6パターンであった. 最も高率に検出されたものは[SM・SA]のパターンであった.

4. 耐性株のR因子保有率は83%(20/24)であった.

文 献

1) 篠川 至ら: 総合臨床, 25, 1726 (1976)

- 2) 池村謙吾ら: 日感染学誌, 臨時増刊号, 53, 43 (1979)
- 3) 篠川 至ら: 日感染学誌, 臨時増刊号, 54, 81 (1980)
- 4) 芦田博之ら: 日感染学誌, 臨時増刊号, 54, 81 (1980)
- 5) 河西 勉ら: 衛生試報, 92, 95 (1974)
- 6) 河西 勉ら: 衛生試報, 95, 99 (1976)
- 7) 家畜の耐性菌研究会: 日獣師会誌, 29, 90 (1976)
- 8) 鈴木 昭, 河西 勉ら: 衛生試報, 85, 188 (1967)
- 9) 鈴木 昭, 河西 勉ら: 衛生試報, 89, 125 (1971)
- 10) 鈴木 昭, 河西 勉ら: 食衛誌, 15, 159 (1974)
- 11) 中谷林太郎: 「薬剤耐性」 p. 71~164 (1976) 講談社サイエンティフィック
- 12) 河西 勉: 日本公衛誌, 22, 29 (1975)

医薬品の溶出試験法に関する研究(第4報) 市販シンナリジン製剤の溶出結果について

辻 澄子・伊阪 博・持田研秀

Studies on the Dissolution Test of Drugs IV

Results of the Dissolution on the Commercial Preparations of Cinnarizine

Sumiko TSUJI, Hiroshi ISAKA and Kenshu MOSHIDA

The dissolution rates of the forty-six commercial cinnarizine preparations (tablets and capsules) were determined by the rotating basket method (USP XIX) in pH 2.0 buffer solution. The dissolution ratio for 60 minutes of those preparations showed various values, 9.1 to 104.2 %.

The studies on the effect of revolution number and pH of the dissolution medium on the dissolution rates, showed that the cinnarizine preparations had different pharmaceutical characteristics.

The wetting of the capsules content was determined. The relationship between the initial dissolution ratio and the wetting of the capsules content was also discussed.

(Received May 31, 1980)

シンナリジン (*trans*-1-cinnamyl-4-diphenyl methyl piperazine) は脳血流促進剤として臨床でよく応用されている医薬品で, 水にほとんど溶けない. 吸収されやすいが生体内で代謝されやすく, 投与量に対して血中濃度が低く¹⁾, 製剤からの溶出が吸収に対し律速となり, 溶出試験と bioavailability が良く相関することが報告されている^{2,3)}. そこで赤田ら²⁾の報告した溶出試験方法により, 市販製剤の市場調査を行ったので報告する.

実験方法

1. 試料: 定量用シンナリジンは非水滴定による定量値99.6%のものを用いた. 市販シンナリジン 50mg 錠剤 (T50) 8銘柄, 市販シンナリジン 25mg 錠剤 (T25) 4銘柄, 市販シンナリジン 50mg カプセル剤 (C50) 8銘柄及び市販シンナリジン 25mg カプセル剤 (C25) 26銘柄の合計46の試料を用いた.

2. シンナリジンの溶解度の測定方法: 37±0.5°の水, 0.1N 塩酸及び 0.1N 塩酸-クエン酸ナトリウム

緩衝液 (pH 2.0) に過剰量の定量用シンナリジンを加え、30分間はげしく振りまぜ、更に $37 \pm 0.5^\circ$ で24時間放置したのち、ミリポアフィルター (0.8 μm , ϕ 13 mm) でろ過し、直ちにそれぞれの液で適当に希釈し、253 nm における吸光度を測定して求めた。

3. 溶出試験方法：試験液は 0.1 N 塩酸-クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.0) 及び日局9崩壊試験法の第1液を用いた。製剤1個をとり、脱気した $37 \pm 0.5^\circ$ の試験液 900 ml を用い、USPXIX⁴⁾ の Dissolution の Apparatus 1 の回転バスケット法 (RB 法) に準じた試験装置 (富山産業(株) TR-5S) を用いた。各時間におけるシンナリジン溶出量は、ミリポアフィルター (0.8 μm , ϕ 13 mm) でろ過した採取試験液の 253 nm における吸光度を測定して求めた。採取試験液の補充を行い、補充容量の補正計算後、溶出率は表示量に対する値とした。

4. カプセル内容物への水の浸透速度⁵⁾ の測定方法：内径 7.0 mm, 長さ 100 mm のガラス管の一方をろ紙でふさぎ、カプセル内容物を密に詰め、一定量の水を満たした容器に垂直に立てて浸漬し、20分後の水が湿潤し、上昇した距離 (mm) を測定し、ぬれの比較値とした。

実験結果及び考察

1. 飽和溶解度：水, 0.1 N 塩酸及び 0.1 N 塩酸-クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.0) につき、それぞれ 1.01×10^{-2} , 2.47 及び 0.400 mg/ml の値をえた。

2. 溶出試験成績：結果を Table 1 に示した。赤田ら²⁾ は家兎の実験から、シンナリジンの吸収率を血中濃度曲線下の面積で比較した場合、0.1 N 塩酸-クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.0) を用い、RB 法 25 rpm での溶出率との間に相関を認めた。すなわち70分間溶出率 100.0, 84.4, 42.9, 31.3 及び 25.9% で、吸収率はそれぞれ 100.0, 76.4, 43.3, 17.0 及び 9.1% であり、その溶出率から、血中濃度をある程度予測することが可能であると報告している。Table 1 の T 50-7, 8, C 50-5~8 及び C 25-22~26 の各製剤は60分間溶出率が30%にもみたく、bioavailability が低いものと予測できる。ただし赤田らは concave フラスコを用いているために、われわれの丸底フラスコを用いた溶出率との間には若干の差異が考えられる。

3. 回転数と試験液の pH の影響

初期溶出率が比較的高く、60分間溶出率39.0%を示す T 50-6 及び極めて溶出率の低い T 50-8 について、回転数及び試験液の pH の影響を Fig. 1 に示した。いずれも pH-rpm の条件が、2.0-25, 1.2-25, 2.0-

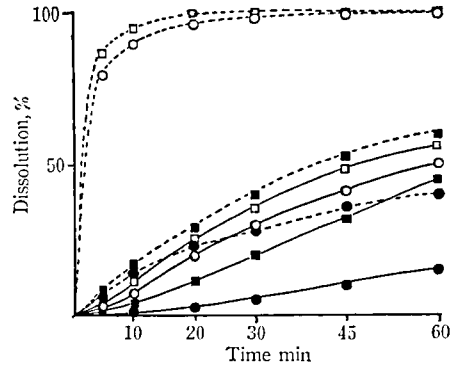


Fig. 1. Effects of dissolution medium and revolution number on the dissolution curves of cinnarizine tablets by the rotating basket method

Key: broken line, T50-6; solid line, T50-8; ●, pH 2.0-25 rpm; ○, pH 2.0-100 rpm; ■, pH 1.2-25 rpm; □, pH 1.2-100 rpm

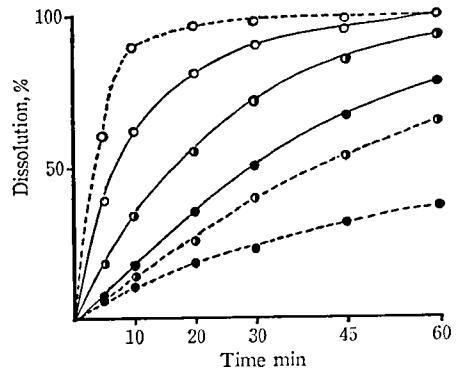


Fig. 2. Effects of revolution number on the dissolution curves of cinnarizine tablets by the rotating basket method in pH 2.0 buffer solution

Key: solid line, T25-3; broken line, T25-4; ●, 25 rpm; ○, 50 rpm; ○, 100 rpm

100, 1.2-100 の順に溶出率は高くなり、pH 1.2 への変化による溶解度の増大が及ぼす溶出速度への影響よりも、回転数増加によるかくはん条件の影響が大きくなり、溶出速度が速くなった。これは 25 rpm では錠剤崩壊後の粒子の分散性が悪く、かくはんが強くなることにより、分散性が非常に良くなり、溶出速度が速くなったと考えられる。T 50-8 は被膜錠で、pH 2.0 よりも pH 1.2 の方が皮膜の溶解に好都合と考えられ、pH-rpm の条件 2.0-25 よりも 1.2-25 の方がより溶出速度が速くなった。しかし回転数増加は飛躍的な溶出速度変化を示さなかった。これは皮膜などへのシンナリジンの吸着などが考えられる。60分間溶出率78.2%

Table 1. Dissolution rate and wetting of commercial cinnarizine preparations

Preparations	No.	% Drug dissolved, ^{a)} /min						W ^{b)}
		5	10	20	30	45	60	
Tablets 50 mg	1	14.6	35.3	59.5	81.0	92.6	97.3	
	2	1.9	5.9	22.6	44.5	69.6	83.3	
	3	6.3	15.4	32.5	46.2	58.8	68.7	
	4	7.8	14.6	25.9	42.8	57.5	65.4	
	5	9.5	19.9	33.6	41.8	48.1	52.5	
	6	8.3	15.0	23.0	28.3	34.4	39.0	
	7	1.7	4.0	8.0	12.4	17.4	21.4	
	8	0.4	1.1	2.5	5.3	9.8	14.7	
Tablets 25 mg	1	10.4	28.0	53.4	70.0	83.2	87.9	
	2	14.9	25.9	48.0	61.1	75.4	86.6	
	3	8.6	17.9	35.6	50.3	66.6	78.2	
	4	6.0	10.7	18.5	23.2	30.9	37.5	
Capsules 50 mg	1	18.6	42.4	71.0	83.3	91.7	94.5	58
	2	5.3	10.7	22.2	35.0	44.8	69.4	34
	3	0.8	1.5	5.8	19.6	40.8	56.6	0
	4	2.2	9.9	22.1	31.3	38.3	45.5	42
	5	1.0	2.5	6.0	9.0	22.2	27.2	34
	6	0.0	2.7	7.8	14.4	19.9	25.5	19
	7	1.3	4.2	9.6	14.7	19.8	25.0	33
	8	0.8	1.1	2.3	4.0	6.3	9.1	7
Capsules 25 mg	1	8.8	32.6	66.0	81.7	94.1	102.5	46
	2	26.5	59.1	84.1	91.2	99.3	104.2	28
	3	22.3	62.5	91.3	96.9	98.9	99.2	68
	4	36.5	60.0	84.1	92.4	94.7	98.1	53
	5	23.5	47.2	75.0	84.1	90.7	93.2	70
	6	23.0	50.7	72.0	82.0	88.5	92.4	50
	7	14.1	43.8	70.2	81.1	87.7	92.3	41
	8	15.5	35.4	60.2	73.9	85.1	92.3	14
	9	2.4	15.0	38.9	62.4	82.5	91.1	12
	10	6.3	22.7	48.9	67.0	81.9	89.8	49
	11	11.5	29.9	51.8	65.4	79.0	89.2	36
	12	12.5	24.3	43.0	55.6	69.5	77.6	38
	13	2.6	9.7	25.8	40.9	56.3	67.8	33
	14	2.8	8.6	24.3	38.8	47.6	63.8	31
	15	5.2	11.3	22.1	33.3	48.0	58.3	20
	16	16.7	18.8	31.4	41.3	52.4	57.6	50
	17	4.6	12.3	25.2	33.4	43.7	51.7	47
	18	1.6	7.7	27.4	38.3	45.9	50.5	16
	19	2.8	9.5	19.7	26.7	36.3	43.3	20
	20	0.6	1.6	11.6	18.9	31.8	41.2	47
	21	2.2	4.5	10.1	18.2	31.2	37.8	12
	22	0.7	2.3	7.6	13.2	21.8	29.6	20
	23	1.7	3.7	7.8	11.1	16.0	20.9	25
	24	1.5	2.3	4.7	7.9	12.7	17.9	2
	25	0.0	0.4	3.6	7.9	13.4	17.8	21
	26	1.0	1.5	3.7	5.7	8.0	10.0	0

a) Dissolution rates were determined by the rotating basket method (25 rpm) in pH 2.0 buffer solution. Each value represents the average of three determinations. All of the preparations dissolved approximately 100% of the labeled amount after the ultrasonic dissolution.

b) Symbol W (wetting) represents the immersional distance (mm) of water for 20 min.

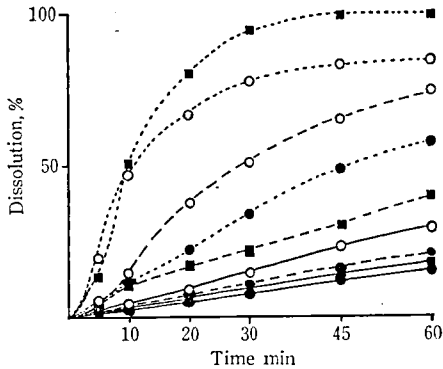


Fig. 3. Effects of dissolution medium and revolution number on the dissolution curves of cinnarizine capsules by the rotating basket method

Key: dotted line, C25-15; broken line, C25-23; solid line C25-24; ●, pH 2.0-25 rpm; ○, pH 2.0-100 rpm; ■, pH 1.2-25 rpm

の T 25-3 は崩壊が速く、かつ分散性もよく Fig. 2 に示すように、かくはん条件が異なっても溶出速度は大きく変化しないが、60分間溶出率37.5%の T 25-4 は回転数 100 rpm で、飛躍的に溶出速度が速くなった。弓岡ら⁶⁾はポリビニルピロリドンやヒドロキシプロピルセルロースなどの水溶性結合剤を添加した錠剤は結合剤無添加錠及びデンプン糊添加錠に比べて、かくはん条件が溶出挙動に大きな変動を及ぼさないと報告している。したがって T 25-3 は溶出曲線から、水溶性結合剤添加錠と考えられる。

C 50-1 及び C 25-1~12 は60分間溶出率75%以上で、良好な崩壊、分散性を示した。Fig. 3 に示した C 25-15 をはじめ60分間溶出率50%前後のカプセル剤は、崩壊、分散性が中等度によいため、pH 1.2-25 rpm の条件では、シンナリジンの塩酸溶液に対する溶解度が影響して、pH 2.0-100 rpm の条件よりも溶出率が高い。しかし60分間溶出率20%前後の C 25-23, 24 などはカプセル外皮が溶けても、回転バスケット中に粉末あるいは塊のまま残留するので、pH 1.2-25 rpm の条件より pH 2.0-100 rpm の条件の方が高い溶出率を示した。特に C 25-23 はかくはん条件の影響が大きくあらわれた。なお C 25-24, 25 及び26の日局9崩壊試験結果は、それぞれ4, 5, 6分を記録した。以上のように回転数や試験液の pH を変化させることにより、製剤特性を検出することができ、また RB 法 25 rpm (pH 2.0) の溶出試験方法は bioavailability の予測のみならず、品質管理的にもシンナリジン製剤の溶出性の識別に有用な方法と考えられる。

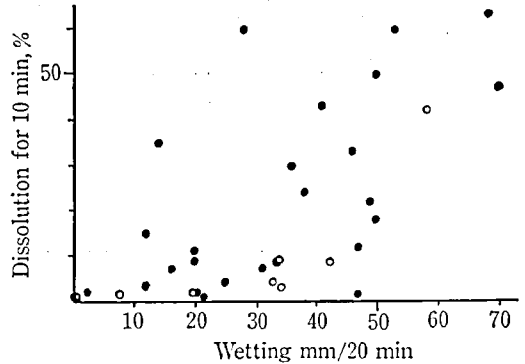


Fig. 4. Relationship between the dissolution ratio for 10 min and the wetting on the commercial cinnarizine capsules

Key: ●, 25 mg/capsules; ○, 50 mg/capsules

4. カプセル内容物のぬれと溶出率の関係

カプセル外皮が溶けても内容物が塊あるいは粉末状に回転バスケット中に残留する現象が認められた。ぬれの大きさは初期溶出速度に影響することから、カプセル内容物への水の浸透速度を測定し、ぬれとして Table 1 に示し、ぬれと10分間溶出率との分散図を Fig. 4 に示したが、よい相関は認められなかった。

カプセル内容物のぬれの遅い試料では初期溶出率が低いものが多く、カプセル外皮の溶解にぬれが影響を及ぼし、崩壊、分散過程で内容物が試験液となじまないで浮上したり、塊状となり、その結果溶出率が低くなると考えられる。特に C 50-8, C 25-24, 25 及び26 は溶出開始60分後においても、カプセル内容物が塊状になって回転バスケット内に残留した。

結 語

- 市販製剤46の試料について、溶出試験をおこない、60分間溶出率が20%以下の溶出性の著しく良くない製剤5試料を検出した。
- 回転数や試験液の pH を変化させることにより、製剤特性を検出することができた。また、RB 法 25 rpm (pH 2.0) の溶出試験方法は個々の製剤の溶出特性を識別するのに有用な方法であると考えられた。
- カプセル内容物のぬれと溶出率との間に良い相関は認められなかった。上記5試料の製剤はぬれも劣り、添加剤の種類、量及び製剤加工の再検討が望まれる。

文 献

- F. T. N. Allewijn: *Life Scic.*, 7, 989 (1968)

- | | |
|--|--|
| <p>2) 赤田節子, 下田通敏, 高橋靖佑, 齋藤嘉章: 衛生化学, 22, 291 (1976)</p> <p>3) 富山道彦, 菊地佳子, 公平恵子, 村田 亮, 佐々木洋明, 引地 登, 丹羽弘司: 東北薬大年報, 24, 137 (1977)</p> | <p>4) USP XIX-NF XIV, 5 th Suppl., p. 221 (1979)</p> <p>5) 日本化学会編: 実験化学講座, 7, p. 81 (1956) 丸善</p> <p>6) 弓岡栄三郎, 塚正康弘, 徳岡清司, 坂口大二: 薬剂学, 38, 151 (1978)</p> |
|--|--|

Detection and Identification of Blue Dye Adsorbed on Frozen Tetrodon (*Fugu rubripes chinensis*)

Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA

A pursuit was carried out on the coloured substance of the skin of *Karasu-fugu* tetrodon. Tetrodons were coloured on their bellies, but the coloured substance could hardly be eluted by organic solvents. Finally, we succeeded in eluting out the dye by warming for 2~3 hrs in strong ammonia test solution. As the results of absorbance spectrum, paper and thin-layer chromatography under three different conditions, detection of copper as its component and confirmatory tests of phthalocyanine dye, the eluted dye was identified to be lionol blue. Phthalocyanine blue is used as a blue pigment in the preparation of paints for fishing boats. The tetrodons might have been contaminated with this pigment after being caught.

(Received May 31, 1980)

It happened in November 1979 that tetrodons landed at Shimonoseki fish market were light-bluish coloured on their bellies. The marine products experts of the port had not experienced such cases and the samples were sent to us for identification of the dye. After dissection, it was found that tetrodons were colored only by the outer skin, and the pursuit of the bluish substance on the skin was carried out.

Experimentals

Samples sent were *Fugu rubripes chinensis*, usually called *Karasu-fugu* tetrodon in Japan, imported from Korea. First of all, elution of the dyestuff from skin was tried, but the dye could hardly be eluted by such solvents as ammonia water, methanol, ethanol, ethyl acetate, ether, n-hexane and N, N-dimethylformamide. After further investigation, we succeeded in eluting out about 60~70% of the dye after warming at 60° for 2~3 hrs in a strong ammonia test solution. The eluted bluish colour dyed woolen yarn by the ordinary method, but it could be eluted out from the wool neither under acidic nor ammonia-alkaline condition. Moreover, it was absorbed to absorbent cotton in the presence of common salt at neutral condition. From the above-mentioned results it was concluded that the eluted dye was

direct cotton dye.

The tone of the eluted colour was very alike to that of copper salt, but as is known from Fig. 1, the absorbance spectrum of the eluted dye was quite different from those of copper salts. Contrary to this, both lionol blue and methylene blue were known to show the analogous absorbance spectra with that of the eluted dye.

In the next place, the eluted dye and the two dye standards were subjected to paper chromatography, the result being indicated in Fig. 2. On the development with acetone-isoamyl alcohol-water mixture (6:5:5), both sample dye and lionol blue remained at the starting points, while methylene blue showed an *R_f* value of 0.4. On the development with *n*-butanol-N,N-dimethylformamide mixture (1:9), both sample dye and lionol blue had the same *R_f* value of 0.94 and, moreover, the mixture of the two showed a single spot on the same paper chromatogram. These results indicate that the sample dye is identical with lionol blue. The identity was further confirmed by carrying out a third development on silica gel thin-layer chromatography (see Fig. 3).

Both sample dye and lionol blue had hues of bluish green on being acidified with hydrochloric acid, while they turned to indigo when made alkaline by

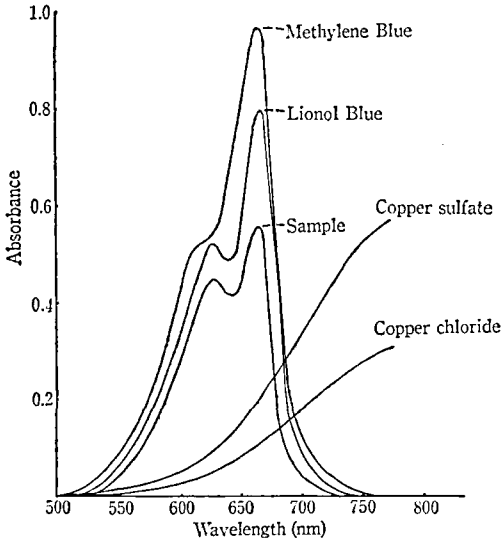
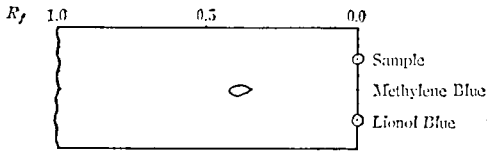
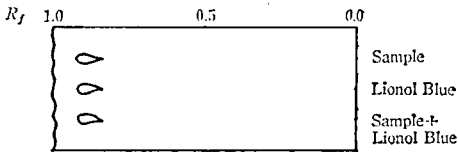


Fig. 1. Absorption spectra of standard and sample



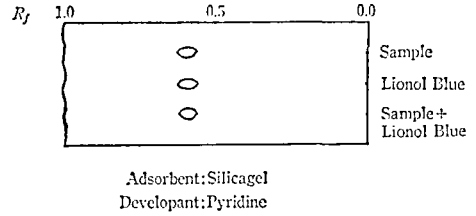
Developant: acetone : isoamyl alcohol : water (6 : 5 : 5)



Developant: n-butanol + N,N-dimethylformamide (1:9)

Fig. 2. Identification of dye in sample by paper chromatography

the addition of sodium hydroxide solution, and yielded blue flocculent precipitates with barium chloride solution. These are, as well known, specific identification tests of phthalocyanine dyes. Besides,



Adsorbent: Silicagel
Developant: Pyridine

Fig. 3. Identification of dye in sample by thin-layer chromatography

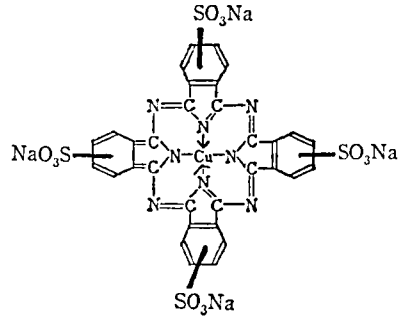


Fig. 4. Chemical structure of Lionol Blue

it was also confirmed by atomic absorption spectrometry that the sample dye contained copper as its ingredient but that copper was not detected from uncoloured skin of the tetrodon.

Finally, we identified the coloured substance on belly of *Karasu-fugu* tetrodon to be lionol blue, a phthalocyanine pigment. Lionol blue is used as a pigment in the preparation of paints for fishing boats. Accordingly, we presume that the tetrodons were coloured on fishing boats after they had been caught.

The Government Food Sanitation Inspection Office at Shimonoseki judged that the tetrodons may be passed after they have got rid of the coloured portions.

種子島自生植物目録

鍋木絃一・高城正勝

Flora of Tanegashima

Koichi KABURAGI and Masakatsu TAKI

Wild plants growing in the Tanegashima are recorded 1156 species by the members of Tanegashima Experiment Station of Medicinal Plants.

Some of the plants are new flora of this island, but only 5 species are the endemic flora of Tanegashima and Yakushima. 68 species are northern limit and 77 species are southern limit of Japanese Flora.

(Received May 31, 1980)

はじめに

種子島は、鹿児島島の南部に位置する島で亜熱帯性の植物の分布の北限で、地質は砂岩及び頁岩からなる第三紀層である。中央の大部分は火山灰土で被われ、周囲150 kmで面積480 km²の南北に長い島で海岸には砂丘が発達し、一部に水成岩が露出している部分も見られる。島の中央部を南北に走る背稜があるが、最高地点は282 mと低く、そのため大きな河川は西之表市の甲女川のみで、他は小さな谷である。種子島の雨量が年間約2500 mmと多いために小さい谷は常に湿っており、ほとんど濡れることはなく、植物の種類も豊富である。なお、1979年の種子島の最高気温33.0°、最低気温は2.5°で年平均気温は18.5°であった。

当場を中心に島内の自生植物の調査を昭和38年より昭和55年までの17年間おこなった。その結果、自生している維管束植物は1156種(亜種、変種及び品種を含む)の多くを記録することが出来た。しかし、種子島の固有種は見られず、屋久島との共通の固有種はヤクダネゴヨウ、ヤクシマヒメミヤマスマシレ、ヤクシマサルスベリ、カンツワブキ及びヤクシマランの5種が見られた。一方、この島を北限とする植物及び南限とする植物はそれぞれ68種と77種も見られた。植物の分布域の境界線を種子島及び屋久島の北側の大隅海峡とするか、南側のトカラ海峡にするかの論議に結論は出せないが、種子島の植物の研究の参考になれば幸いである。

凡 例

1. 本目録は種子島に自生または帰化しているシダ類以上の高等植物について記載した。

2. 科の配列はエングラー式によった。
3. 栽培から逸出したもの、または帰化したものの学名の前に○印を付した。
4. 各文献に種子島における分布が記載されておらず、新しく分布が判明した種(1963年~1980年にかけて当試験場が採集調査により確認)については新記録種として記した。

Pteridophyta シダ植物

Psilotaceae マツバラン科

Psilotum nudum Griseb. マツバラン

Lycopodiaceae ヒカゲノカズラ科

Lycopodium cernuum L. ミズスギ*Lycopodium hamiltonii* Spring ナンカクラン*Lycopodium phlegmaria* L. ヨウラクヒバ

北限, 稀 中種子町大城, 南種子町平山

Lycopodium serratum Thunb.var. *longipetiolatum* Spring オニトウゲシバ*Lycopodium sieboldii* Miq. ヒモラン 南限, 稀

Selaginellaceae イワヒバ科

Selaginella doederleinii Hieron. オニクラマゴケ

北限 南種子町平山

Selaginella heterostachys Baker ヒメタチクラマゴケ*Selaginella involvens* Spring カタヒバ*Selaginella lutchuensis* Koidz. ヒメムカデクラマゴケ*Selaginella nipponica* Fr. & Sav. タチクラマゴケ

Equisetaceae トクサ科

Equisetum arvense L. スギナ

南限

Equisetum ramosissimum Desf.var. *japonicum* Milde イヌトクサ

- Ophioglossaceae** ハナヤスリ科
Ophioglossum pendulum L. コブラン
 北限, 稀 中種子町大城
Ophioglossum petiolatum Hook. コヒロハハナヤスリ
Ophioglossum thermale Komarov ハマハナヤスリ
 var. *bucharicum* Fucks コハナヤスリ
Ophioglossum vulgatum L. ヒロハハナヤスリ 稀
Sceptridium daucifolium Lyon ホウライハナワラビ
 北限 中種子町20番 西之表市千段之峯
Sceptridium ternatum Lyon フユノハナワラビ
- Marattiaceae** リュウビンタイ科
Angiopteris lygodiiifolia Rosenst. リュウビンタイ
- Osmundaceae** ゼンマイ科
Osmunda japonica Thunb. ゼンマイ
Plenasium banksiaefolium Presl シロヤマゼンマイ
- Schizaeaceae** カニクサ科
Lygodium japonicum Sw. カニクサ
- Gleicheniaceae** ウラジロ科
Dicranopteris dichotoma Bernh. コシダ
Gleichenia japonica Spring ウラジロ
- Hymenophyllaceae** コケシノブ科
Crepidomanes insigne Fu アオホラゴケ
Gonocormus minutis v.d. Bosch. ウチワゴケ
Hymenophyllum barbatum Baker コウヤコケシノブ 稀
Selenodesmium obscurum Copel. オニホラゴケ
 北限, 稀
Vandenboschia auriculata Copel. ツルホラゴケ
Vandenboschia radicans Copel.
 var. *orientalis* H. Ito ハイホラゴケ
- Pteridaceae** ワラビ科
Adiantum capillus-veneris L. ホウライシダ
Cheilanthes argentea O.K. ヒメウラジロ
 稀 西之表市小牧
Coniogramme intermedia Hieron. イワガネゼンマイ
 稀 西之表市古田
Coniogramme japonica Diels イワガネソウ
Coniogramme x furusei Hieron. イヌイワガネソウ
 稀 南種子町下中(山神川)
Dennstaedtia hirsuta Mett. イヌシダ 稀
Histiopteris incisa J. Sm. ユノミネシダ
 南種子町平山, 西之表市野木
Hypolepis alte-gracillima Hay. セイタカイヒメワラビ 稀
Hypolepis punctata Mett. イワヒメワラビ
Lindsaea chienii Ching エダウチホングウシダ
- Lindsaea japonica* Diels サイゴクホングウシダ
Lindsaea javanensis Bl. サンカクホングウシダ
 北限 西之表市軍場, 屋久川及び生菱山
Lindsaea orbiculata Mett. var. *commixta*
 Kramer シンエダウチホングウシダ
Microlepia marginata C. Chr. フモトシダ
 var. *bipinnata* Mak. クジャクフモトシダ
Microlepia strigosa Presl イシカグマ
Microlepia substrigosa Tagawa ウスバイシカグマ
Onychium japonicum Kunze タチシノブ
Pteridium aquilinum Kuhn var. *latiusculum*
 Underw. ワラビ
Pteris cretica L. オオバノイノモトソウ 稀
 ssp. *nipponica* Jotani & H. Oba マツザカンダ
Pteris dispar Kunze アマクサンダ
Pteris ensiformis Burm. ホコシダ 稀
Pteris excelsa Gaud. var. *fauriei* Shieh
 オオバノハチジョウシダ 稀
 var. *simplicior* Shieh オオバノアマクサンダ
 稀 西之表市15番
Pteris fauriei Hieron. ハチジョウシダ
Pteris multifida Poir. イノモトソウ
Pteris x namegatae Kurata イブスキイノモトソウ
 南種子町島間
Pteris oshimensis Hieron. ハチジョウシダモドキ
Pteris ryukyensis Tagawa
 リュウキュウイノモトソウ
Pteris semipinnata L. オオアマクサンダ
 北限, 稀 南種子町島間及び西野(新記録種)
Pteris setulosocostulata Hay. トゲハチジョウシダ 稀
Pteris tokioi Masam. ヒカゲアマクサンダ 稀
Pteris wallichiana Agard. ナチンダ
Pteris yakuinsularis Kurata ヤクシマハチジョウシダ 稀
- Sphenomeris biflora* Tagawa ハマホラシノブ
Sphenomeris chinensis Maxon ホラシノブ
- Parkeriaceae** ミズワラビ科
Ceratopteris thalictroides Brongn. ミズワラビ
- Davalliaceae** シノブ科
Nephrolepis auriculata Trimen タマシダ
- Plagiogyriaceae** キジノオシダ科
Plagiogyria adnata Bedd. タカサゴキジノオ
Plagiogyria japonica Nakai キジノオシダ
 稀 西之表市屋久川
Plagiogyria euphlebica Matt. オオキジノオ
 稀 西之表市屋久川

Cyatheaceae ヘゴ科

Cyathea hancockii Copel. クサマルハチ
稀 南種子町平山

Cyathea metteniana C. Chr. & Tard. チャボヘゴ
北限, 稀 南種子町平山

Cyathea spinulosa Wall. ヘゴ

Aspidiaceae オシダ科

Arachniodes amabilis Tindale オオカナワラビ
稀 西之表市屋久川

Arachniodes exilis Ching ホソバカナワラビ

Arachniodes sporadosora Nakaike コバノカナワラビ

Bolbitis subcordata Ching ヘツカシダ

Cornopteris opaca Tagawa f. *glabrescens* Kurata
ナンゴクシケチシダ

Ctenitis subglandulosa Ching カツモウイノデ

Cyrtomium falcatum Presl オニヤブソテツ

Diplazium dilatatum Bl. ヒロハノコギリシダ

Diplazium doederleinii Mak. シマシロヤマシダ 稀

Diplazium donianum Tard.-Blot, var. *aphanoneuron*
Tagawa アツバキノボリシダ

北限 西之表市屋久川, 16番及び生姜山

Diplazium esculentum Sw. クワレシダ 稀

Diplazium hachijoense Nakai シロヤマシダ

Diplazium mettenianum C. Chr. ミヤマノコギリシダ
f. *fauriei* Kurata ホソバノコギリシダ

Diplazium subsinuatum Tagawa ヘラシダ

Diplazium taiwanense Tagawa ニセシロヤマシダ 稀

Diplazium virescens Kunze コクモウクジャク

var. *conterminum* Kurata

ニセコクモウクジャク 稀

var. *okinawense* Kurata

オキナワコクモウクジャク

Diplazium wichurae Diels ノコギリシダ

var. *amabile* Tagawa ヒメノコギリシダ

Dryopteris erythrosora O.K. ベニシダ

Dryopteris sordidipes Tagawa ヨゴレイタチシダ

Dryopteris sparsa O.K. ナカバノイタチシダ

Dryopteris subexaltata C. Chr. イスタマシダ

Dryopteris varia O.K. ナンカイイタチシダ

var. *hikonensis* Kurata オオイタチシダ 南限

var. *setosa* Ohwi ヤマイタチシダ

南限, 稀 中種子町阿高磯

Lunathyrium petersenii H. Ohba ナチンケンシダ

Polystichum lepidocaulon J. Sm. オリズルシダ 稀

Polystichum polyblepharum Presl イノデ
稀 中種子町13番

Stegnogramma pozoi K. Iwatsuki

ssp. *mollissima* K. Iwatsuki ミゾシダ

Thelypteris acuminata Morton ホシダ

Thelypteris angustifrons Ching コハシゴシダ

Thelypteris cystopteroides Ching ヒメハシゴシダ

Thelypteris decursive-pinnata Ching ゲジゲジシダ

Thelypteris esquirolii Ching オオイブキンシダ

Thelypteris glanduligera Ching ハシゴシダ

Thelypteris interrupta K. Iwatsuki テツホシダ

Thelypteris parasitica Fosberg ケホシダ

Thelypteris subpubescens K. Iwatsuki クシノホシダ 稀

Thelypteris torresiana Alston アラゲヒメワラビ

Thelypteris triphylla K. Iwatsuki コウモリシダ
北限, 稀 南種子町平山

Blechnaceae シンガンシラ科

Woodwardia japonica Sm. オオカグマ

Woodwardia orientalis Sm.

var. *formosana* Rosenst. ハチジョウカグマ

Aspleniaceae チャセンシダ科

Asplenium antiquum Mak. オオタニワタリ

Asplenium cheilosorum Kunze ウスパクジャク 稀

Asplenium incisum Thunb. トラノオシダ

Asplenium nidus L. シマオオタニワタリ 北限, 稀

Asplenium normale D. Don スリトラノオ

Asplenium ritoense Hay. コウザキンシダ

Asplenium sarelii Hook. コバノヒノキンシダ

稀 西之表市小牧

Asplenium shikokianum Mak. ハヤマシダ

稀 西之表市野木

Asplenium unilaterale Lamk. ホウビンシダ

Asplenium wilfordii Mett. アオガネシダ

Asplenium wrightii Eaton クルマシダ

Cheiropleuriaceae スジヒトツバ科

Cheiropleuria bicuspis Presl スジヒトツバ

Polypodiaceae ウラボシ科

Colysis hemionitidea Presl タイワンクリハラン

北限 西之表市屋久川, 軍場及び鹿之峯

Colysis pothifolia Presl オオイワヒトデ

Colysis x shintenensis H. Ito シンテンウラボウ

Colysis wrightii Ching ヤリホノクリハラン

Crypsinus hastatus Copel. ミツデウラボシ

Lemmaphyllum microphyllum Presl マメズタ

Loxogramme salicifolia Mak. イワヤナギシダ

Microsorium buergerianum Ching

スカボシクリハラン

Microsorium dilatatum Sledge ホコザキウラボシ

Neocheiropteris ensata Ching クリハラノ
稀 西之表市万波(新記録種)

Pleopeltis thunbergiana Kaulf. ノキシノブ

Pleopeltis uchiyamae Ohwi コウラボシ(新記録種)

Pyrrhosia lingua Farw. ヒトツバ

Vittariaceae シンラン科

Vittaria flexuosa Fee シンラン

Vittaria zosterifolia Willd. アマモンシンラン
稀 西之表市屋久川

Marsileaceae デンジソウ科

Marsilea quadrifolia L. デンジソウ 稀

Azollaceae アカウキクサ科

Azolla imbricata Nakai アカウキクサ

Azolla japonica Fr. & Sav. オオアカウキクサ
(土井氏)

Spermatophyta 種子植物

Gymnospermae 裸子植物

Cycadaceae ソテツ科

Cycas revoluta Thunb. ソテツ

Podocarpaceae イスマキ科

Podocarpus macrophyllus D. Don イスマキ

Podocarpus nagi Zoll. & Moritz ナギ

Pinaceae マツ科

Pinus armandii Franch. var. *amamiana* Hatusima

ヤクタネゴヨウ

種, 屋久特産 中種子町犬城に群生

Pinus thunbergiana Flanco クロマツ

Cupressaceae ヒノキ科

Juniperus conferta Parl. ハイネズ

Angiospermae 被子植物

Dicotyledoneae 双子葉植物

Choripetalae 離弁花類

Saururaceae ドクダミ科

Houttynia cordata Thunb. ドクダミ

Saururus chinensis Baill. ハンゲンショウ

Piperaceae コシユウ科

Peperomia japonica Mak. サダソウ

稀 西之表市野木(海岸林内)

Piper kadsura Ohwi フウトウカズラ

Chloranthaceae センリョウ科

Chloranthus serratus Roem. & Schult.

フタリシズカ

南限

Sarcandra glabra Nakai センリョウ

Salicaceae ヤナギ科

Salix eriocarpa Fr. & Sav. ジャヤナギ

稀

Salix sieboldiana Bl. ヤマヤナギ

南限

Myricaceae ヤマモモ科

Myrica rubra S. & Z. ヤマモモ

Betulaceae カバノキ科

○*Alnus firma* S. & Z. ヤシヤブシ

Fagaceae ブナ科

Castanopsis cuspidata Schottky コジイ

南限 南種子町平山, 西之表市野木

Castanopsis sieboldii Hatusima スタジイ

Lithocarpus edulis Rehd. マテバシイ

Quercus acuta Thunb. アカガン

Quercus acutissima Carr. クスギ

Quercus dentata Thunb. カシワ

Quercus gilva Bl. イチイガン

Quercus glauca Thunb. アラカン

Quercus phillyraeoides A. Gray

f. *wrightii* Kak. ケウバメガン

Quercus salicina Bl. ウラジロガン

Ulmaceae ニレ科

Aphananthe aspera Planch. ムクノキ

稀

Celtis boninensis Koidz. クワノハエノキ

Celtis sinensis Pers. エノキ

南限

Trema orientalis Lour. ウラジロエノキ

北限 中種子町納宮

Moraceae クワ科

Broussonetia kazinoki Sieb. コウゾ

Fatoua villosa Nakai クワクサ

Ficus erecta Thunb. イスビワ

Ficus microcarpa L. f. ガジュマル

北限

Ficus pumila L. オオイタビ

Ficus sarmentosa Roxb. var. *nipponica* Corner

イタビカズラ

Ficus stipulata Thunb. ヒメイタビ

Ficus superba Miq. var. *japonica* Miq. アコウ

Maclura cochinchinensis Corner カカツガユ

Morus australis Poir. シマグワ

北限

- Cannabidaceae** アサ科
Humulus japonicus S. & Z. カナムグラ
- Urticaceae** イラクサ科
Boehmeria formosana Hay. タイワントリアシ 稀
Boehmeria gigantea Satake ニオウヤブマオ
Boehmeria holosericea Bl. オニヤブマオ 南限
Boehmeria kiusiana Satake ツクシヤブマオ 稀
Boehmeria pannosa Satake サイカイヤブマオ 稀
Boehmeria nivea Gaudich. ナンバンカラムシ
 f. *nipponnivea* Hatusima カラムシ 北限, 稀
Boehmeria sieboldiana Bl. ナガバヤブマオ
Boehmeria spicata Thunb. コアカソ 稀
Debregeasia edulis Wedd. ヤナギイチゴ
Gonostegia hirta Miq. ツルマオ
Pellionia radicans Wedd. var. *minima* Hatusima
 サンショウソウ 稀 西之表市岳ノ田(新記録種)
Pellionia scabra Benth. キミズ
Pilea hamaoi Mak. ミズ
Pilea petiolaris Bl. ミヤマミズ 稀
Oreocnide frutescens Bl. イワガネ
Oreocnide pedunculata Masamune ハドノキ
- Proteaceae** ヤマモガン科
Helicia cochinchinensis Lour. ヤマモガン
- Santalaceae** ビャクダン科
Thesium chinense Turez. カナビキシウ 稀
- Loranthaceae** ヤドリギ科
Korthalsella japonica Engl. ヒノキバヤドリギ
Loranthus yadoriki Sieb. オオバヤドリギ
- Rafflesiaceae** ヤッコソウ科
Mitraschemon yamamotoi Mak. ヤッコソウ
- Balanophoraceae** ツチトリモチ科
Balanophora tobiracola Mak. キイレツチトリモチ
Balanophora yakushimensis Hatssima & Masamune
 ヤクシマツチトリモチ 稀 南種子町平山
- Aristolochiaceae** ウマノスズクサ科
Aristolochia kaempferi Willd. オオバウマノスズクサ 南限, 稀
Asarum kumageanum Masamune クワイバカンアオイ
- Polygonaceae** タデ科
Polygonum chinense L. ツルソバ
Polygonum dichotomum Bl. リュウキュウヤノネグサ 北限, 稀
Polygonum hydropiper L. ヤナギタデ 稀
Polygonum japonicum Meissn. シロバナサクラタデ
Polygonum lapathifolium L. var. *salicifolium* Sibth. ウラジロサナエタデ 稀
Polygonum longisetum de Bruyn イスタデ
Polygonum multiflorum Thunb. ツルドクダミ
Polygonum nipponense Mak. ヤノネグサ
Polygonum nodosum Pers. var. *incanum* Ledeb. ウラジロオオイスタデ
Polygonum perfoliatum L. インミカワ 稀
Polygonum persicaria L. ハルタデ 稀
 ○*Polygonum plebeium* R. Br. ヒメミチヤナギ 北限, 稀
Polygonum praetermissum Hook. f. ホソバノウナギツカミ
Polygonum pubescens Bl. ポントクタデ 稀
Polygonum senticosum Fr. & Sav. トゲソバ
Polygonum sieboldii Meissn. アキノウナギツカミ
Polygonum sterile Nakai コサクラタデ 稀
Polygonum tenellum Blume var. *kawagoeanum* Murata シマヒメタデ 稀 中種子町熊野(新記録種)
Polygonum thunbergii S. & Z. ミゾソバ
Polygonum virginianum L. var. *filiforme* Nakai ミズヒキ
Rumex acetosa L. スイバ
Rumex japonicus Houtt. ギンギン
- Chenopodiaceae** アカザ科
Chenopodium album L. シロザ
 ○*Chenopodium ambrosioides* L. ケアリタソウ
Chenopodium virgatum Thunb. マルバアカザ
Salsola komarovii Iljin オカヒジキ 稀
- Amaranthaceae** ヒユ科
Achyranthes bidentata Bl. var. *hachijoensis* Hara ハチジョウイノコズチ 南種子町島間
Achyranthes bidentata Bl. var. *japonica* Miq. イノコズチ
Achyranthes bidentata Bl. var. *tomentosa* Hara ヒナタイノコズチ
Achyranthes aspera L. var. *indica* L. ケイノコズチ 北限, 稀 南種子町島間
Alternanthera sessilis DC. ツルノゲイトウ
Amaranthus gracilis Desf. アオビユ
 ○*Amaranthus lividus* L. イヌビユ
 ○*Amaranthus patulus* Bertoloni ホソアオゲイトウ
Amaranthus retroflexus L. アオゲイトウ
 ○*Amaranthus spinosus* L. ハリビユ 稀
- Aizoaceae** ザクロソウ科
Mollugo stricta L. ザクロソウ

- Tetragonia tetragonoides* O. Kuntze ツルナ
- Portulacaceae** スベリヒコ科
- Portulaca oleracea* L. スベリヒコ
- Caryophyllaceae** ナデシコ科
- Arenaria serpyllifolia* L. ノミノツツリ
- Cerastium glomeratum* Thuill. オランダミミナグサ
- Cerastium holosteoides* Fries var. *hallaisanense* Mizush.
ミミナグサ
- Dianthus japonicus* Thunb. フジナデシコ
- Dianthus kiusianus* Mak. ヒメハマナデシコ
- Sagina japonica* Ohwi ツメクサ
- Sagina maxima* A. Gray ハマツメクサ
- Silene gallica* L. var. *quinquevulnera* Mert. & Koch
マンテマ
- Spergula arvensis* L. var. *sativa* Mert. & Koch
オオツメクサ
- Stellaria aquatica* Scop. ウシハコベ
- Stellaria alsine* Grimm, var. *undulata* Ohwi
ノミノフスマ
- Stellaria media* Villars コハコベ
var. *procera* Klett & Richter ミドリハコベ
- Nymphaeaceae** スイレン科
- Brasenia schreberi* J. F. Gmel. ジュンサイ 稀
- Euryale ferox* Salisb. オニバス
稀 南種子町茎永(室満池)
- Nelumbo nucifera* Gaertn. f. ハス 稀
- Nuphar japonicum* DC. コオホネ
南限 南種子町平山
- Ceratophyllaceae** マツモ科
- Ceratophyllum demersum* L. マツモ
- Ranunculaceae** キンボウゲ科
- Clematis crassifolia* Benth.
ヤマハンショウズル (ヤマセンニンソウ)
- Clematis meyeniana* Walp. ヤンバルセンニンソウ
北限 南種子町平山及び茎永
- Clematis pierotii* Miq. コバノボタンズル
- Clematis terniflora* DC. センニンソウ
- Ranunculus cantoniensis* DC. ケキツネノボタン
- Ranunculus japonicus* Thunb. ウマノアシガタ
- Ranunculus quelpaertensis* Nakai キツネノボタン
- Ranunculus sceleratus* L. タガラシ
- Ranunculus sieboldii* Miq. シマキツネノボタン
- Semiaquilegia adoxoides* Mak. ヒメウズ
- Lardizabalaceae** アケビ科
- Akebia quinata* Decne. アケビ 南限, 稀
- Stauntonia hexaphylla* Decne. ムベ
- Menispermaceae** ツヅラフジ科
- Cocculus laurifolius* DC. コウシュウウヤク
- Cocculus orbiculatus* DC. アオツヅラフジ
- Sinomenium acutum* Rehd. et Wils. オオツヅラフジ
- Stephania japonica* Miers ハスノハカズラ
- Magnoliaceae** モクレン科
- Illicium anisatum* L. シキミ
- Kadsura japonica* Dunal サネカズラ
- Michelia compressa* Sarg. オガタマノキ
- Lauraceae** クスノキ科
- Actinodaphne lancifolia* Meissn. カゴノキ 稀
- Cinnamomum camphora* Presl. クスノキ
- Cinnamomum daphnoides* S. & Z. マルバニッケイ
- Cinnamomum x durifruticola* Hatusima
ヒロハヤブニッケイ 稀
- Cinnamomum japonicum* Sieb. ヤブニッケイ
- Cryptocarya chinensis* Hemsl. シナクスモドキ
稀 南種子町平山, 西之表市野木
- Cassytha filiformis* L. スナズル
北限, 稀 南種子町平山及び下中
- Litsea acuminata* Kurata バリバリノキ
- Litsea citriodora* Hatusima アオモジ
- Litsea japonica* Juss. ハマビワ
- Neolitsea aciculata* Koidz. イヌガシ
- Neolitsea sericea* Koidz. シロダモ
f. *xanthocarpa* Okuyama キミノシロダモ 稀
- Persea japonica* Sieb. ホソバタバ
- Persea thunbergii* Kosterm. タブノキ
- Papaveraceae** ケン科
- Corydalis heterocarpa* S. et Z. var. *japonica* Ohwi
キケマン
- Corydalis incisa* Pers. ムラサキケマン
- Corydalis tashiroi* Mak. シマキケマン
- Macleya cordata* R. Br. タケニグサ 南限
- Capparidaceae** フウチョウソウ科
- Crataeva falcata* DC. ギョウボク
- Cruciferae** アブラナ科
- Capsella bursa-pastoris* Medik ナズナ
- Cardamine flexuosa* With タネツケバナ
- Coronopus didymus* Smith カラクサナズナ 稀
- Lepidium virginicum* L. マメグンバイナズナ
- Rorippa dubia* Hara ミチバタガラシ
- Rorippa islandica* Borbas スカシタゴボウ
- Rorippa indica* Hieron. イヌガラシ
- Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Backer
f. *raphanistroides* Kak. ハマダイコン

Droseraceae モウセンゴケ科*Drosera spatulata* Labillard. コモウセンゴケ**Crassulaceae** ベンケイソウ科○*Kalanchoe pinnata* Pers. セイロンベンケイソウ*Penthorum chinense* Pursh タコノアシ*Sedum bulbiferum* Mak. コモチマンネングサ*Sedum formosanum* N. E. Br. シママンネングサ*Sedum oryzifolium* Mak. タイトゴメ*Sedum uniflorum* Hook. & Arn. ニゴメマンネングサ*Tillaea aquatica* L. アズマツメクサ

南限 中種子町熊野(新記録種)

Saxifragaceae ユキノシタ科*Deutzia scabra* Thunb. マルバウツギ 南限*Hydrangea macrophylla* Ser. ssp. *serrata* Mak.

サワアジサイ

Schizophragma hydrangeoides S. & Z. イワガラミ**Pittosporaceae** トベラ科*Pittosporum tobira* Dryand トベラ**Hamamelidaceae** マンサク科*Distylium racemosum* S. & Z. イスノキ**Rosaceae**バラ科*Agrimonia pilosa* Ledeb. キンミズヒキ*Duchesnea chrysantha* Miq. ヘビイチゴ*Duchesnea indica* Focke var. *major* Mak.

ヤブヘビイチゴ 稀 西之表市古田

Potentilla chinensis Seringe カワラサイコ*Potentilla fragarioides* L. var. *major* Maxim.

キジムシロ 南限

Potentilla freyniana Bornm. ミツバツチグリ*Prunus jamasakura* Sieb. ヤマザクラ*Prunus zippeliana* Miq. パクチノキ*Rhaphiolepis indica* Lindl.f. *umbellata* Hatusima タチシャリンバイ*Rosa luciae* Fr. & Sav. var. *onei* Momiyama

ヤブイバラ 稀

Rosa multiflora Thunb. ノイバラ*Rosa wichuraiana* Crepin テリハノイバラ*Rubus buergeri* Miq. フユイチゴ*Rubus crataegifolius* Bunge クマイイチゴ 稀*Rubus grayanus* Maxim. リュウキュウイチゴ*Rubus parvifolius* L. ナワシロイチゴ*Rubus rosafolius* ssp. *maximowiczii* Focke

リュウキュウバライチゴ

Rubus sieboldii Bl. ホウロクイチゴ*Sanguisorba officinalis* L. var. *carnea* Regel

ワレモコウ 南限 西之表市国上

Leguminosae マメ科*Aeschynomene indica* L. クサネム*Albizia julibrissin* Durazz ネムノキ*Amphicarpaea edgeworthii* Benth. var. *japonica* Oliv.

ヤブマメ

Bauhinia japonica Maxim. ハカマカズラ*Caesalpinia decapetala* Alston ジャケツイバラ*Canavalia lineata* DC. ハマナタマメvar. *albiflora* Kitamura

シロバナハマナタマメ 稀

Cassia mimosoides L. var. *nomame* Honda

カワラケツメイ

Crotalaria sessiliflora L. タスキマメ*Desmodium caudatum* DC. ミソナオン*Desmodium heterocarpum* DC. シバハギ*Desmodium laterale* Schindl.

リュウキュウススビトハギ

Desmodium laxum DC. オオバヌスビトハギ 南限*Desmodium leptopus* A. Gray トキワヤブハギ 北限*Desmodium oxyphyllum* DC. ヌスビトハギ*Dumasia truncata* S. & Z. ノササゲ 南限, 稀*Dunbaria villosa* Mak. ヒメクズ*Galactia tashiroi* Maxim. var. *yaeyamensis* Ohwi

ヨナクニハギカズラ

稀 南種子町島間(海岸)

Glycine soja S. & Z. ツルマメ 南限*Kummerovia striata* Schindl. ヤハズソウ*Lathyrus japonicus* Willd. ハマエンドウ*Lespedeza cuneata* G. Don. メドハギ*Lespedeza cuneata* G. Don. var. *serpens* Ohwi

ハイメドハギ

Lespedeza cyrtobotrya Miq. ミヤマハギ 南限*Lespedeza pilosa* S. & Z. ネコハギ*Lotus corniculata* L. var. *japonica* Regel ミヤコグサ*Maackia tashiroi* Kak. シマエンジュ○*Medicago lupulina* L. コメツブウマゴヤシ*Millettia japonica* A. Gray ナツフジ*Pueraria lobata* Ohwi クズ*Rhynchosia volubilis* Lour. タンキリマメ*Sophora flavescens* Aiton クララ

南限

○*Trifolium repens* L. シロツメクサ○*Vicia angustifolia* L. var. *segetalis* Koch

ヤハズエンドウ

○*Vicia cracca* L. クサフジ○*Vicia hirsuta* S. F. Gray スズメノエンドウ○*Vicia tetrasperma* Schreb. カスマグサ

- Vigna angularis* var. *nipponensis* Ohwi & Ohashi
 ヤブツルアズキ 稀
- Vigna marina* Merr. ハマササゲ (ハマアズキ)
 稀 南種子町島間
- Geraniaceae** フウロソウ科
- Geranium nepalense* Sweet. ssp. *thunbergii* Hara
 ゲンノショウコ
- Oxalidaceae** カタバミ科
- Oxalis corniculata* L. カタバミ
- *Oxalis corymbosa* DC. ムラサキカタバミ
- Rutaceae** ミカン科
- Citrus tachibana* C. Tanaka タチバナ
- Evodia meliifolia* Benth. ハマセンダン
- Skimmia japonica* Thunb. ミヤマシキミ
- Zanthoxylum ailanthoides* S. & Z. カラスザンショウ
- Zanthoxylum* × *fauriei* Ohwi コカラスザンショウ
 稀, 中種子町・下田
- Zanthoxylum piperitum* DC. サンショウ
- Zanthoxylum armatum* DC. フユザンショウ
- Zanthoxylum schinifolium* S. & Z. イヌザンショウ
- Simaroubaceae** ニガキ科
- Picrasma quassioides* Benn. ニガキ
- Meliaceae** センダン科
- Melia azedarach* L. センダン
- Polygalaceae** ヒメハギ科
- Polygala japonica* Houtt. ヒメハギ
- Polygala oblongifolia* DC. ヒナノカンザシ
- Euphorbiaceae** トウダイグサ科
- Acalypha australis* L. エノキグサ
- Antidesma japonicum* S. & Z. ヤマヒハツ
- Daphniphyllum glaucescens* Blume ssp. *teijsmannii*
 Huang ヒメユズリハ
- Euphorbia chamissonis* Boiss. ハマタイゲキ
 北限, 稀 西之表市田之脇(海岸)
- *Euphorbia helioscopia* L. トウタイグサ
- *Euphorbia hirta* L. シマニシキソウ
- Euphorbia jolkinii* Boiss. イワダイゲキ
- *Euphorbia pseudochamaecybe* Fichs., May. & Lallemand
 ニシキソウ
- Euphorbia sieboldiana* Morr. et Decne. var. *ohsumiensis*
 Hatusima オオスミナツトウダイ 稀
- *Euphorbia supina* Rafin. コニキソウ
- *Euphorbia vachellii* Hook. & Arn.
 ミヤコジマニシキソウ
 北限 稀中種子町牧川
- Glochidion obovatum* S. & Z. カンコノキ
- Mallotus japonicus* Muell.-Arg. アカメガンショ
- Mercurialis leiocarpa* S. & Z. ヤマアイ
- Phyllanthus urinaria* L. コミカンソウ
- Phyllanthus ussuriensis* Rupr. & Maxim
 ヒメミカンソウ 稀
- *Ricinus communis* L. ヒマ
- *Vernicia cordata* Airy Shaw アブラギリ
- Callitrichaceae** アワゴケ科
- Callitriche japonica* Engl. アワゴケ
- Callitriche verna* L. ミズハコベ
- Anacardiaceae** ウルシ科
- Rhus javanica* L. スルデ
- Rhus succedanea* L. ハゼノキ
- Aquifoliaceae** モチノキ科
- Ilex goshiensis* Hay. ツゲモチ
- Ilex integra* Thunb.モチノキ
- Ilex liukiensis* Loesn. リュウキュウモチノキ
 北限 西之表市屋久川
- Ilex rotunda* Thunb. クロガネモチ
- Celastraceae** ニシキギ科
- Celastrus orbiculatus* Thunb. ツルウメモドキ 稀
- Celastrus punctatus* Thunb. テリハツルウメモドキ
- Euonymus japonicus* Thunb. マサキ
- Microtropis japonica* Hall. f. モクレイン
 var. *sakaguchiana* Hatusima
 ホソバモクレイン 稀
- Staphyleaceae** ミツバウツギ科
- Euscaphis japonica* Kanitz ゴンズイ
- Turpinia ternata* Nakai ショウベンノキ
- Sapindaceae** ムクロジ科
- Sapindus mukorossi* Gaertn. ムクロジ
- Sabiaceae** アワブキ科
- Meliosma rigida* S. & Z. ヤマビワ
- Rhamnaceae** クロウメモドキ科
- Paliurus ramosissimus* Poir. ハマナツメ 稀
- Vitaceae** ブドウ科
- Ampelopsis brevipedunculata* Trautv.
 var. *hancei* Rehd. テリハノブドウ
- Ampelopsis leoides* Planch. ウドカズラ
- Cayratia japonica* Gagnep. ヤブカラシ
- Parthenocissus tricuspidata* Planch. ツタ 南限
- Vitis ficifolia* Bunge エビズル
- Vitis flexuosa* Thunb. サンカクズル
- Elaeocarpaceae** ホルトノキ科
- Elaeocarpus japonicus* S. & Z. コバンモチ
- Elaeocarpus decipiens* Hemsl. ホルトノキ

- Tiliaceae** シナノキ科
Triumfetta japonica Kak. ラセンソウ 稀
- Malvaceae** アオイ科
Hibiscus hamabo S. & Z. ハマボウ
Hibiscus mutabilis L. フヨウ
Hibiscus tiliaceus L. オオハマボウ
 北限 西之表市伊関及び花里(海岸)
- Sida rhombifolia* L. キンゴシカ
 ssp. *insularis* Hatusima ハイキンゴシカ 北限
- Urena lobata* L. オオパボンテンカ
- Sterculiaceae** アオギリ科
Firmiana simplex W. F. Wight アオギリ
Melochia corchorifolia L. ノジアオイ
- Actinidiaceae** マタタビ科
Actinidia rufa Planch. シマサルナン
- Theaceae** ツバキ科
Camellia japonica L. ヤブツバキ
 f. *macrocarpa* Hatusima リンゴツバキ 稀
Camellia sasanqua S. & Z. サザンカ
Cleyera japonica Thunb. サカキ
Eurya emarginata Nakai ハマヒサカキ
Eurya japonica Thunb. ヒサカキ
 f. *australis* Hatusima ケヒサカキ 稀
Ternstroemia japonica Thunb. モッコク
- Guttiferae** オトギリソウ科
Hypericum laxum Koidz. コケオトギリ
Hypericum erectum Thunb. オトギリソウ
Hypericum japonicum Thunb. ヒメオトギリソウ
Triadenum japonicum Mak. ミズオトギリ
 南限 中種子町長谷(池)
- Elatinaceae** ミゾハコベ科
Elatine triandra Schk. var. *pedicellata* Krylov
 ミゾハコベ
- Violaceae** スミレ科
Viola betonicifolia Sm.
 var. *oblongo-sagittata* F. Maek. & Hashimoto
 リュウキュウシロスミレ
Viola confusa Champ. リュウキュウコスミレ
Viola grypoceras A. Gray タチツボスミレ
Viola japonica Langsd. コスミレ 南限
Viola mandshurica W. Beck.
 var. *triangularis* Mizushima アツバスミレ
Viola maximowicziana Mak. コミヤマスミレ 南限
Viola obtusa Mak. ニオイタチツボスミレ 南限
Viola phalacrocarpa Maxim. アカネスミレ 南限
Viola verecunda A. Gray ツボスミレ 南限
- Viola sieboldii* Maxim. var. *pseudo-selkirkii* F. Maek.
 & Hashimoto ヤクシマヒメミヤマスミレ
 種, 屋久特産, 稀 西之表市野木
- Flacourtiaceae** イイギリ科
Idesia polycarpa Maxim. イイギリ
Xylosma congestum Merr. クスドイゲ
- Stachyuraceae** キブシ科
Stachyurus praecox S. & Z.
 var. *lanceifolius* Hara ナンバンキブシ
- Thymelaeaceae** ジンチョウゲ科
Daphne kiusiana Miq. コショウノキ
Wikstroemia ganpi Maxim. イスガンビ
- Elaeagnaceae** グミ科
Elaeagnus glabra Thunb. ツルグミ
Elaeagnus macrophylla Thunb. マルバグミ 稀
Elaeagnus pungens Thunb. ナワシログミ 南限
Elaeagnus reflexa Morr. ウラギンツルグミ 稀
Elaeagnus x submacrophylla Serv. オオナワシログミ 稀
Elaeagnus umbellata Thunb. アキグミ
 var. *rotundifolia* Mak. マルバアキグミ
- Lythraceae** ミソハギ科
Lagerstroemia subcostata Koehne シマサルスベリ
 北限 中種子町18番
 var. *fauriei* Hatusima ヤクシマサルスベリ
 種, 屋久特産
Rotala indica Koehne var. *uliginosa* Koehne
 キカングサ
- Rotala pusilla* Tulasne ミズマツバ
- Rhizophoraceae** ヒルギ科
Kandelia candel Druce メヒルギ
 中種子町熊野, 南種子町平山, 西之表市湊
- Alangiaceae** ウリノキ科
Alargium premnifolium Ohwi シマウリノキ 稀
- Myrtaceae** フトモモ科
Syzygium buxifolium Hook. & Arn. アデク
 ○*Syzygium jambos* Alston フトモモ
- Melastomataceae** ノボタン科
Osbeckia chinensis L. ヒメノボタン
- Trapaceae** ヒシ科
Trapa bispinosa Roxb. var. *iinumae* Mak. ヒシ
- Onagraceae** アカバナ科
Epilobium pyrrihocolophum Fr. & Sav. アカバナ
 南限, 稀
Ludwigia adscendens Hara var. *stipulacea* Hara
 ミズキンバイ
Ludwigia epilobioides Maxim. チョウジタデ

Ludwigia ovalis Miq. ミズユキノシタ

○ *Oenothera erythrosepala* Borbas オオマツヨイグサ

○ *Oenothera laciniata* Hill. コマツヨイグサ

○ *Oenothera parviflora* L. アレチマツヨイグサ

Haloragidaceae アリノトウクサ科

Haloragis micrantha R. Br. アリノトウグサ

Myriophyllum spicatum L. ホザキノフサモ

Araliaceae タラノキ科

Aralia elata Seem. タラノキ

var. *canescens* Nakai メダラ

Dendropanax trifidus Mak. カクレミノ

Fatsia japonica Decne. ヤツデ

Hedera rhombea Baen キズタ

Schefflera octophylla Harms フカノキ

Umbelliferae セリ科

Angelica japonica A. Gray ハマウド 稀

Centella asiatica Urb. ツボクサ

Cnidium japonicum Miq. ハマゼリ 稀

Cryptotaenia canadensis DC. ミツバ

Glehnia littoralis Fr. Schmidt ハマボウフウ

Hydrocotyle deliciata Elm. ケチドメグサ

Hydrocotyle maritima Honda ノチドメ

Hydrocotyle sibthorpioides Lamk. チドメグサ

Oenanthe javanica DC. セリ

Pseuedanum japonicum Thunb. ボタンボウフウ

Sanicula chinensis Bunge ウマノミツバ

Sanicula lamelligera Hance ヒメウマノミツバ

Torillia japonica DC. ヤブジラミ

Cornaceae ミズキ科

Aucuba japonica Thunb. アオキ

Cornus macrophylla Wall. クマノミズキ

Gamopetalae 合弁花類

Pyrolaceae イチヤクソウ科

Monotropa uniflora L. ギンリョウソウモドキ

南限, 稀

Monotropastrum glabosum H. Andres ギンリョウソウ

Pyrola japonica Klenze イチヤクソウ 南限, 稀

Ericaceae ツツジ科

Lyonia ovalifolia Druce var. *elliptica* Handel-Mazz.

ネジキ 南限, 稀

Rhododendron eriocarpum Nakai マルバサツキ

Rhododendron obtusum Planch. var. *kaempferi* Wils.

ヤマツツジ 南限

Rhododendron tashiroi Maxim. サクラツツジ

Vaccinium bracteatum Thumb. シャンシャンボ

Myrsinaceae ヤブコウジ科

Ardisia crenata Sims. マンリョウ

Ardisia japonica Bl. ヤブコウジ 稀

Ardisia quinquegona Bl. シシアクチ

北限 西之表市万波, 屋久川及び生姜山

Ardisia pusilla DC. ツルコウジ

Ardisia sieboldii Miq. モクタチバナ

Maesa japonica Moritzi イズセンリョウ

Maesa tenera Mez. シマイズセンリョウ

Myrsine seguinii Lev. タイミンタチバナ

Primulaceae サクラソウ科

Anagallis arvensis L. f. *coerulea* Baumgart.

ルリハコベ

Lysimachia decurrens Forst. f. シマギンレイカ

北限, 稀 西之表市古田

Lysimachia japonica Thunb. コナスビ

Lysimachia mauritiana Lamk. ハマボッス

Lysimachia sikokiana Miq. モロコシソウ

Ebenaceae カキノキ科

Diospyros japonica S. & Z. シナノガキ

Diospyros morrisiana Hance トキワガキ

Symplocaceae ハイノキ科

Symplocos cochinchinensis Moore アオバノキ北限

Symplocos japonica DC. クロキ

Symplocos prunifolia S. & Z. クロバイ

Symplocos tanakae Matsum. オニクロキ

Styracaceae エゴノキ科

Styrax japonica S. & Z. エゴノキ

Oleaceae モクセイ科

Ligustrum japonicum Thunb. ネズミモチ

Osmanthus insularis Koidz. ナタオレノキ

稀 南種子町真所及び下中

Loganiaceae フジウツギ科

Buddleia curviflora Hook. & Arn. コフジウツギ

南限

f. *venenifera* Yamazaki ウラジロフジウツギ

Gardneria nutans S. & Z. ホウライカズラ 南限

Mitrasacme pygmaea R. Br. アイナエ

Gentianaceae リンドウ科

Centaurium japonicum Druce シマセンブリ

北限 中種子町熊野(大満川河口)

Gentiana scabra Bunge var. *buergeri* Maxim. リンドウ

Gentiana squarrosa Ledeb. コケリンドウ

Gentiana zollingeri Fawc. フデリンドウ 南限

Nymphoides coreana Hara ヒメシロアサザ 稀

Swertia tashiroi Mak. ヘツカリンドウ

Apocynaceae キョウチクトウ科
Anodendron affine Druce サカキカズラ
Trachelospermum asiaticum Nakai
 var. *brevisepalum* Y. Tsiang
 リュウキュウテイカカズラ
Asclepiadaceae ガガイモ科
Cynanchum atratum Bunge フナバラソウ 稀
Cynanchum austrokiusianum Koidz.
 ナンゴクカモメズル 稀
Cynanchum japonicum Morr. & Decne. イヨカズラ
Hoya carnosa R. Br. サクララン
Marsdenia tomentosa Morr. & Decne. キジョラン
Stephanotis liukiensis Koidz. オキナワシタキソウ
Tylophora aristolochioides Miq. オオカモメズル
 稀 南種子町平山(新記録種)
Tylophora japonica Miq. トキワカモメズル
Tylophora tanakae Maxim. ツルモウリンカ
Convolvulaceae ヒルガオ科
Calystegia soldanella R. Br. ハマヒルガオ
Dichondra repens J.R. & G. Forst. アオイゴケ
Erycibe henryi Prain ホルトカズラ
 西之表市古田及び屋久川
Ipomoea acuminata Roem. & Schult. ノアサガオ
Ipomoea pes-caprae Sweet グンバイヒルガオ
Ipomoea stolonifera J. F. Gmel. アツバアサガオ
 稀 南種子町竹崎, 中種子町熊野
Boraginaceae ムラサキ科
Bothriospermum tenellum Fisch. & Mey. ハナイバナ
Ehretia acuminata R. Br. var. *obovata* Johnst.
 チシャノキ
Ehretia dicksonii Hance マルバチシャノキ
Messerschmidia argentea Johnston モンパノキ
 1965年頃絶滅
Trigonotis peduncularis Benth. キュウリグサ
Verbenaceae クマツヅラ科
Callicarpa japonica Thunb. var. *luxurians* Rehd.
 オオムラサキシキブ
Callicarpa mollis S. & Z. ヤブムラサキ
Clerodendron inerme Gaertn. イボタクサギ
 北限 西之表市伊関, 住吉及び深川
Clerodendron trichotomum Thunb.
 var. *esculentum* Mak. ショウロウクサギ
 var. *fargesii* Rehd. アマクサギ
Phyla nodiflora Greene イワダレソウ
Premna microphylla Turcz.
 var. *japonica* Hatusima ハマクサギ

Verbena officinalis L. クマツヅラ
Vitex rotundifolia L. f. ハマゴウ
Labiatae シソ科
Agastache rugosa O. K. カワミドリ
Ajuga decumbens Thunb. キランソウ
Dysophylla verticillata Benth. ミズネコノオ
Glechoma hederacea L. var. *grandis* Kudo カキドウシ
○*Lamium amplexicaule* L. ホトケノザ
Lamium chinense Benth. var. *tuberiferum* Murata
 ヒメキセワタ
Leonurus japonicus Houtt. メハジキ
Lycopus ramosissimus Makino var. *japonicus* Kitamura
 コシロネ 南限 西之表市古田(新記録種)
Mosla dianthera Maxim. ヒメジソ
Mosla punctulata Nakai イヌコウジュ
Perilla frutescens Britt. var. *citriodora* Ohwi
 レモンエゴマ
Rabdosia inflexa Hara ヤマハッカ 南限
Rabdosia japonica Hara ヒキオコシ 南限
Prunella vulgaris L. ssp. *asiatica* Hara ウツボグサ
Salvia japonica Thunb. アキノタムラソウ
Satureia chinensis Briq. var. *grandiflora* Hatusima
 クルマバナ 南限
Satureia gracilis Briq. トウバナ
Satureia micrantha Regel イストウバナ 南限, 稀
Scutellaria dependens Maxim. ヒメナミキ 南限
Scutellaria guiljelmi A. Gray. コナミキ
Scutellaria indica L. タツナミソウ
Scutellaria parvifolia Koidz. コバナタツナミ 南限
Teucrium viscidum Bl. ツルニガクサ
Solanaceae ナス科
○*Lycium chinense* Mill. クコ
○*Physalis angulata* L. センナリホウズキ
Solanum biflorum Lour. メジロホウズキ
○*Solanum ciliatum* Lamk. キンギンナスビ
Solanum lyratum Thunb. ヒヨドリジョウゴ
Solanum nigrum L. イヌホウズキ
Tubocapsicum anomalum Mak. ハダカホウズキ
 南限, 稀 中種子町20番(新記録種)
 var. *obtusum* Mak. マルバハダカホウズキ
Scrophulariaceae ゴマノハグサ科
Centranthera cochinchinensis Merr. var. *lutea* Hara
 ゴマクサ
Dopatrium junceum Hamilt. アブノメ
Limnophila aromatica Merr. シソクサ
Lindernia angustifolia Wettst. アゼトウガラシ

- Lindernia antipoda* Alston スズメノトウガラシ
Lindernia anagallis Pennell シマウリクサ
 北限 南種子町茎永
Lindernia crustacea F. Muell. ウリクサ
Lindernia procumbens Philicox アゼナ
Mazus miquelii Mak. ムラサキサギゴケ 南限
Mazus pumilus v. Steenis トキワハゼ
Microcarpaea minima Merr. スズメノハコベ ヤエムグラ
Phtheirospermum japonicum Kanitz コシオガマ 稀
Torenia glabra Osbeck コバナツルウリクサ 稀
 ○ *Veronica arvensis* L. タチイスノフグリ
Veronica javanica Bl. ハマクワガタ 稀
Veronica lineariaefolia Pall. ホソバヒメトラノオ 稀
 ○ *Veronica persica* Poir. オオイヌノフグリ
Veronica undulata Wall. カワジサ
Orobanchaceae ハマウツボ科
Aeginetia indica L. var. *gracilis* Nakai
 ナンバンギセル
Gesneriaceae イワタバコ科
Rhynchotechum discolor B. L. Burt
 var. *austrokiushiuense* Ohwi
 タマザキヤマビワソウ 稀 南種子町平山
Lentibulariaceae タスキモ科
Utricularia aurea Lour. ノタスキモ 稀
Utricularia bifida L. ミミカキグサ 稀
Utricularia gibba L. var. *exoleta* Taylor
 ミカワタスキモ 稀
Acanthaceae キツネノマゴ科
Codonacanthus pauciflorus Nees ツノツクパネ
 北限, 稀 西之表市岳ノ田
Hygrophila lancea Miq. オギノツメ
Justicia procumbens L. var. *leucantha* Honda
 キツネノマゴ
 ○ *Strobilanthes japonica* Miq. イセハナビ
 稀 西之表市古田
 ○ *Strobilanthes cusia* O. K. リュウキュウアイ
 稀 南種子町上里
Plantaginaceae オオバコ科
Plantago asiatica L. オオバコ
 ○ *Plantago lanceolata* L. ヘラオオバコ 稀
Myoporaceae ハマジンチョウ科
Myoporum bontioides A. Gray ハマジンチョウ
 中種子町熊野
Rubiaceae アカネ科
Adina racemosa Miq. ヘツカニガキ
 稀 中種子町熊野
Damnacanthus indicus Gaertn. f. アリドウン
 var. *parvifolius* Koidz. コパノジュズネノキ 稀
 var. *microphyllus* Mak. ヒメアリドウン
Diplospora dubia Masam. シロミミズ 北限
Galium gracilens Mak. コパノヨツバムグラ
Galium spurium L. var. *echinospermon* Hayek
Gardenia jasminoides Ellis var. *grandiflora* Nakai
 クチナンシ
Hedyotis coreana Lev. ソナレムグラ
Hedyotis diffusa Willd. フタバムグラ
Hedyotis lindleyana Hook. var. *hirsuta* Hara
 ハシカグサ
Hedyotis tenelliflora Bl. ケニオイグサ 北限, 稀
Lasianthus fordii Hance タシロルリミノノキ
 北限 南種子町平山
Morinda umbellata L. ハナガサノキ
 北限 南種子町平山茎永, 中種子町犬城
Mussaenda parviflora Miq. コロンカ
 北限 南種子町平山及び茎永
Mussaenda shikokiana Mak. ヒロハコロンカ
Ophiorrhiza japonica Bl. サツマイナモリ
Paederia scandens Merr. ヘクソカズラ
Psychotria rubra Poir. ボチョウジ 北限
Psychotria serpens L. シラタマカズラ
Tarenna gracilipes Ohwi ギョクシンカ
Uncaria rhynchophylla Miq. カギカズラ 南限
Caprifoliaceae スイカズラ科
Lonicera affinis Hook. & Arn. ハマニンドウ
Lonicera japonica Thunb. スイカズラ
Sambucus chinensis Lindl. ソクズ
Viburnum dilatatum Thunb. ガマズミ 南限
Viburnum japonicum Spreng. ハクサンボク
Viburnum odoratissimum Ker-Gawl.
 var. *awabucki* K. Koch サンゴジュ
 ○ *Weigela coraeensis* Thunb. ハコネウツギ
Valerianaceae オミナエシ科
Patrinia scabiosaefolia Link. オミナエシ
Patrinia villosa Juss. オトコエシ
Cucurbitaceae ウリ科
Gynostemma pentaphyllum Mak. アマチャズル
Trichosanthes boninensis Tuyama ケカラスウリ
Trichosanthes cucumeroides Maxim. カラスウリ
Trichosanthes japonica Regel キカラスウリ
Trichosanthes sinopunctata C. Y. Cheng &

- C. H. Yueh オオカラスウリ
- Campanulaceae** キキョウ科
- Adenophora triphylla* DC. サイヨウシヤジン
- Codonopsis lancifolia* Moeliono
タンゲブ (タイワンツルギキョウ)
北限 南種子町平山
- Lobelia chinensis* Lour. ミゾカクシ
- Wahlenbergia marginata* DC. ヒナギキョウ
- Goodeniaceae** クサトベラ科
- Scavola taccada* Roxb. クサトベラ
北限 西之表市田之脇及び久保田(海岸)
- Compositae** キク科
- Adenostemma lavenia* O. K. スマダイコン
- Ainsliaea apiculata* Schutz-Bip. キッコウハグマ
南限
- Artemisia capillaris* Thunb. カワラヨモギ
- Artemisia indica* Willd. ニシヨモギ 稀
- Artemisia japonica* Thunb. オトコヨモギ
- Artemisia princeps* Pamp. ヨモギ
- Aster scaber* Thunb. シラヤマギク 南限, 稀
- Aster trinervius* Don
ssp. *amplexifolius* Kitam. イナカギク
ssp. *ovalus* Kitam. ノコンギク 南限
- *Aster subulatus* Michx. ホウキギク
- Bidens bipinnata* L. コバノセンダングサ
- Bidens biternata* Merr. & Scherff. センダングサ
南限
- *Bidens frondosa* L. アメリカセンダングサ
- *Bidens pilosa* L. コセンダングサ
- var. *minor* Scherff. シロバナセンダングサ
- Bidens tripartita* L. タウコギ
- Blumea conspicua* Hay. オオキバナムカシヨモギ
北限 南種子町平山
- Blumea lacera* DC.
var. *blumei* DC. サケバコウゾリナ
北限, 稀 西之表市野木(新記録種)
- Carpesium abrotanoides* L. ヤブタバコ
- Carpesium cernuum* L. コヤブタバコ
- Carpesium divaricatum* S. & Z. ガンクビソウ
- Carpesium glossophyllum* Maxim. サジガンクビソウ
- Carpesium rosulatum* Miq. ヒメガンクビソウ
- Centipeda minima* A. Br. & Aschers. トキンソウ
- Chrysanthemum indicum* L. シマカンギク 稀
- Chrysanthemum ornatum* Hemsl.
var. *spontaneum* Kitam. ノジギク 南限
- Cirsium japonicum* DC. ノアザミ 南限
- f. *leucanthum* Nak. シロバナノアザミ
稀 中種子町大塩屋
- Cirsium suffultum* Matsum. ツクシアザミ
- Cirsium spinosum* Kitam. オイランアザミ
- Cirsium yakushimense* Kitam. ヤクシマアザミ 稀
- Conyza japonica* Less. イズハハコ 稀
- *Crassocephalum crepidioides* S. Moore
ベニバナボロギク
- Crepidiastrum lanceolatum* Nakai ホソバワダン
f. *pinnatilobum* Nakai ハマナレン
- Dichrocephala integrifolia* O. K. ブクリュウサイ
- Eclipta prostrata* L. タカサブロウ
- Emilia sonchifolia* DC. ウスベニニガナ
- *Erechtites hieracifolia* Rafn. ダンドボロギク
- *Erigeron annuus* Pers. ヒメジョオン
- *Erigeron bonariensis* L. アレチノギク
- *Erigeron canadensis* L. ヒメムカシヨモギ
- *Erigeron pusillus* Nutt. ケナンヒメムカシヨモギ
- *Erigeron sumatrensis* Retz. オオアレチノギク
- Eupatorium chinense* L.
var. *angustatum* Hara サケバヒヨドリ 稀
var. *simplicifolium* Kitam. ヒヨドリバナ 南限
- Eupatorium lindleyanum* DC. サワヒヨドリ 稀
- Eupatorium variabile* Mak. ヤマヒヨドリ
- Farfugium hiberniflorum* Kitam. カンツワブキ
種, 屋久特産 南種子町山神川, 西之表市屋久川
- Farfugium japonicum* Kitam. ツワブキ
- Farfugium tatewakii* Hatusima ヤクシマツワブキ 稀
- Gnaphalium affine* Don ハハコグサ
- Gnaphalium japonicum* Thunb. チチコグサ
- *Gnaphalium purpureum* L. タチチチコグサ
- var. *spathulatum* Baker チチコグサモドキ
- *Gynula bicolor* DC. スイゼンジナ
- Hemistepta lyrata* Bunge キツネアザミ
- Heteropappus hispidus* Less. ヤマジノギク 稀
ssp. *arenarius* Kitam. ハマベノギク
- Ixeris dentata* Nakai ニガナ
var. *gracilior* Kitam. ハイニガナ
- Ixeris debilis* A. Gray オオジシバリ
- Ixeris makinoana* Kitam. ホソバニガナ 稀
- Ixeris repens* A. Gray ハマニガナ
- Ixeris stolonifera* A. Gray イワニガナ
- Kalimeris yomena* Kitam. ヨメナ
- Lactuca indica* L. アキノノゲシ
- Lactuca raddeana* Maxim.

- var. *elata* Kitam. ヤマニガナ 稀
Lactuca sororia Miq. ムラサキニガナ
Lapsana apogonoides Maxim. コオニタビラコ
Petasites japonicus Maxim. フキ
 南限 中種子町犬城
Picris hieracioides L. ssp. *japonica* Krylv. コウゾリナ
 南限(茎に毛のない形もあり)
Rhynchospermum verticillatum Reinw. シュウブソソウ
Saussurea japonica DC. ヒナヒゴタイ 稀
Senecio pierotii Miq. サワオグルマ
Siegesbeckia orientalis L. ツクシメナモミ
Siegesbeckia glabrescens Mak. コメナモミ
 ○*Solidago altissima* L. セイタカアワダチソウ
Solidago virgaurea L.
 var. *asiatica* Kitam. アキノキリンソウ
 ○*Sonchus asper* Hill. オニノゲシ
 ○*Sonchus oleraceus* L. ハルノノゲン
Taraxacum albidum Dahlstadt シロバナタンポポ
Vernonia cinerea Less. ヤンバルヒゴタイ
Wedelia biflora DC. キダチハマグルマ
 北限 西之表市東部海岸一帯
Wedelia chinensis Merr. クマノギク
Wedelia prostrata Hemsl. ハマグルマ
Wedelia robusta Kitam. オオハマグルマ
Xanthium canadense Mill. オナモミ
Youngia denticulata Kitam. ヤクシソウ 南限
Youngia japonica DC. オニタビラコ

Monocotyledoneae 単子葉植物

Typhaceae ガマ科

Typha orientalis Presl コガマ

Potamogetonaceae ヒルムシロ科

- Potamogeton crispus* L. エビモ
Potamogeton distinctus A. Benn. ヒルムシロ
Ruppia maritima L. カワツルモ

Najadaceae イバラモ科

- Najas graminea* Del. ホッスモ
Najas marina L. イバラモ
Najas minor All. トリゲモ

Zosteraceae アマモ科

Zostera japonica Aschers. & Graebn. コアマモ

Alismataceae オモダカ科

Alisma canaliculatum A. Br. & Bouche ヘラオモダカ

Sagittaria aginashi Mak. アギナシ

Sagittaria pygmaea Miq. ウリカワ

Sagittaria trifolia L. オモダカ

Hydrocharitaceae トチカガミ科

- Blyxa aubertii* Richb. マルミスブタ
Blyxa echinosperma Hook. f. ナガバズブタ
Blyxa japonica Maxim. ヤナギズブタ
Hydrilla verticillata Caspary クロモ
Ottelia alismoides Pers. ミズオオバコ 稀
Vallisneria asiatica Miki セキショウモ

Triuridaceae ホンゴウソウ科

Sciaphila japonica Mak. ホンゴウソウ

Gramineae イネ科

- Agropyron ciliare* Franch. var. *minus* Ohwi
 アオカモジグサ
Agropyron tsukushiense Ohwi var. *transiens* Ohwi
 カモジグサ
Agrostis clavata Trin. ssp. *matsumurae* Tateoka スカボ
Alopecurus aequalis Sobel. var. *amurensis* Ohwi
 スズメノテッポウ
Alopecurus japonicus Steud. セトガヤ
Andropogon brevifolius Sw. ウシクサ
Arthraxon hispidus Mak. コブナグサ
Arundinella hirta Tanaka トダシバ 南限
Arundo donax L. ダンチク

- Avena fatua* L. カラスムギ
 ○*Bambusa glaucescens* Munro ホウライチク
 ○ f. *alphonso-karri* Hats. スホウチク
Beckmannia syzigachne Fernald ssp. *baicalensis*
 T. Koyama & Kawano ミノゴメ 稀
Bothriochloa parviflora Ohwi ヒメアブラススキ

- Briza minor* L. ヒメコバンソウ
 ○*Chloris gayana* Kunth アフリカヒゲシバ
 ○*Coix lacryma-jobi* L. ジュズダマ
Cymbopogon tortilis Hitchc.

- var. *goeringii* Handel-Mazz. オガルカヤ
Cynodon dactylon Pers. ギョウギシバ
Digitaria ciliaris Koel. メヒシバ
Digitaria henryi Rendle ヘンリーメヒシバ
Digitaria radiosa Miq. コメヒシバ
Digitaria violascens Link アキメヒシバ
Dimeria ornithopoda Trin. var. *tenera* Hack.

カリマタガヤ

- Eccoilopus cotulifer* A. Camus アブラススキ
Eccoilopus cotulifer A. Camus var. *densiflorus* Ohwi
 ダンチアブラススキ

- 北限, 稀 中種子町納官(新記録種)
- Echinochloa crus-galli* Beauv.
 var. *caudata* Kitagawa ケイスビエ
 var. *hispidula* Honda タビエ
 var. *pratensis* Ohwi イヌビエ
 var. *kasaharae* Ohwi ヒメタイスビエ
- Eleusine indica* Gaertn. オヒシバ
- Eragrostis cuningii* Steud. イトスズメガヤ
- Eragrostis curvula* Nees シナダレスズメガヤ
- Eragrostis ferruginea* Beauv. カゼクサ
- Eragrostis japonica* Trin. コゴメカゼクサ 稀
- Eragrostis multicaulis* Steud. ニワホコリ
- Eriochloa villosa* Kunth ナルコビエ
- Festuca parvigluma* Steud. トボシガラ
- Glyceria acutiflora* Torr. ムツオレグサ
- Hemarthria compressa* R. Br. コバノウシノシッペイ
- Imperata cylindrica* P. Beauv.
 var. *major* C. E. Hubb. チガヤ
- Isachne globosa* O. K. チゴザサ
- Isachne nipponensis* Ohwi ハイチゴザサ
- Ischaemum antheptroides* Miq. ツクシケカモノハン
 南限, 稀 中種子町熊野
- var. *eristachyum* Honda ケカモノハン
- Ischaemum aristatum* L. タイワンカモノハン
- var. *glaucum* T. Koyama カモノハン 稀
- Leptochloa chinensis* Nees アゼガヤ
- Leptochloa panicea* Ohwi イトアゼガヤ
- Lolium perenne* L. ホソムギ
- Lophatherum gracile* Brongn. ササクサ
- Microstegium ciliatum* A. Camus オオササガヤ
- Microstegium japonicum* Koidz. ササガヤ
- Microstegium vimineum* A. Camus
 var. *polystachyum* Ohwi アンボソ
- Miscanthus floridulus* Warb. トキワススキ
- Miscanthus sinensis* Andr. ススキ
 var. *condensatus* Mak. ハチジョウススキ
 var. *gracillimus* Hitch. イトススキ
- Muhlenbergia japonica* Steud. ネズミガヤ 南限, 稀
- Oplismenus compositus* Beauv. エダウチチヂミザサ
- Oplismenus undulatifolius* Roem. & Schult.
 ケチヂミザサ
- var. *imbecillis* Hack. ホソバチヂミザサ
- var. *japonicus* Koidz. チヂミザサ
- var. *microphyllus* Ohwi チャボチヂミザサ
- Panicum bisulcatum* Thunb. スカキビ
- Panicum repens* L. ハイキビ
- Paspalum dilatatum* Poir. シマズメノヒエ
- Paspalum notatum* Fluegge アメリカズメノヒエ
- Paspalum paspaloides* Scribn. キッシュズメノヒエ
- Paspalum orbiculare* G. Forst. スズメノコビエ
- Paspalum thunbergii* Kunth スズメノヒエ
- Paspalum urvillei* Steud. タチズメノヒエ
- Paspalum vaginatum* Sw. サワズメノヒエ
 北限 中種子町熊野及び女州
- Pennisetum alopecuroides* Spr. チカラシバ
 f. *viridescens* Ohwi アオチカラシバ
- Pennisetum sordidum* Koidz. シマチカラシバ
- Phalaris arundinacea* L. クサヨシ
- Phragmites communis* Trin. ヨシ
- Phragmites japonica* Steud. ツルヨシ 稀
- Phragmites karka* Trin. セイコノヨシ
- Phyllostachys aurea* Carr. ホテイチク
- Phyllostachys nigra* Munro var. *henonis* Stapf ハチク
- Pleioblastus hindsii* Munro タイミンチク
- Pleioblastus linearis* Nakai リュウキュウチク
- Pleioblastus simonii* Nakai メダケ
- Poa acroleuca* Steud. ミゾイチゴツナギ
- Poa annua* L. スズメノカタビラ
- Poa crassinervis* Honda ツクシズメノカタビラ 稀
- Pogonatherum crinitum* Kunth イタチガヤ
- Polygona fugax* Steud. ヒエガエリ
- Polygona monspeliensis* Desf. ハマヒエガエリ
- Pseudosasa japonica* Mak. ヤダケ 南限, 稀
- Sacciolepis indica* Chase ハイスメリ
- Sacciolepis oryzetorum* Honda スメリグサ
- Setaria glauca* Beauv. キンエノコロ
 var. *pallide-fusca* T. Koyama
 コツブキンエノコロ
- Setaria faberii* Hertm. アキノエノコログサ
- Setaria palmifolia* O. Stapf ササキビ
- Setaria plicata* T. Cooke コササキビ
- Setaria x pycnocomma* Henr. オオエノコロ
- Setaria verticillata* Beauv. ガラツキエノコログサ 稀
- Setaria viridis* Beauv. エノコログサ
 var. *pachystachys* Mak. & Nemoto
 ハマエノコロ
- Sorghum nitidum* Pers. var. *majus* Ohwi モロコシガヤ
- Spinifex littoreus* Merr. ツキイゲ
 北限, 稀 西之表市花里(海岸)
- Sporobolus fertilis* W. D. Clayton ネズミノオ
- Sporobolus virginicus* Kunth ソナレンバ
 北限, 稀 馬毛島

- Trisetum bifidum* Ohwi カニツリグサ
- Zoysia japonica* Steud. シバ
- Zoysia macrostachya* Fr. & Sav. オニシバ
- Zoysia sinica* Hance コオニシバ
var. *nipponica* Ohwi ナガミノオニシバ
中種子町阿曾及び上方(海岸)
- Zoysia tenuifolia* Willd. コウライシバ
- Cyperaceae** カヤツリグサ科
- Bulbostylis barbata* Kunth ハタガヤ
- Bulbostylis densa* Handel-Mazz. イトハナビテンツキ
稀
- var. *capitata* Ohwi イトテンツキ 稀
- Carex breviculmis* R. Br. アオスゲ
- f. *filiculmis* Kükenth. イトアオスゲ
- f. *aphanandra* Kükenth. メアオスゲ
- ssp. *fibrillosa* T. Koyama ハマアオスゲ
- var. *discoidea* Boott ヒメアオスゲ
- Carex brunnea* Thunb. コゴメスゲ
- Carex cruciata* Wahlenb. ハナビスゲ
- Carex gibba* Wahlenb. マスクサ
- Carex ischnostachys* Steud. ジュズスゲ
- Carex japonica* Thunb.
var. *chlorostachys* T. Koyama シラスゲ
- Carex kobomugi* Ohwi コウボウムギ
- Carex maculata* Boott タチスゲ
- Carex nemostachys* Steud. アキカサスゲ
- Carex oahuensis* var. *boottiana* Kükenth. ヒゲスゲ
- Carex phacota* Spreng. ヒメゴソウ
- Carex pumila* Thunb. コウボウシバ
- Carex scabrifolia* Steud. シオクダ
- Carex sociata* Boott タシロスゲ
- Carex teinogyne* Boott フサナキリスゲ 南限
- Cladium jamaicens* Nees var. *sinense* T. Koyama
ヒトモトススキ
- Cyperus amuricus* Maxim. チャガヤツリ
- Cyperus brevifolius* Hassk. アイダクダ
var. *leiolepis* T. Koyama ヒメクダ
- Cyperus compressus* L. クダガヤツリ
- Cyperus cyperoides* O. K. クダ
- Cyperus difformis* L. タマガヤツリ
- Cyperus distans* L. ホウキガヤツリ
北限, 稀 西之表市浦田
- Cyperus flavidus* Retz. アゼガヤツリ
- Cyperus haspan* L. コアゼガヤツリ
- Cyperus iria* L. コゴメガヤツリ
- Cyperus microiria* Steud. カヤツリグサ
- Cyperus malaccensis* Lamk. var. *brevifolius* Bockl.
シチトウイ
- Cyperus pilosus* Vahl オニガヤツリ
- Cyperus polystachyos* Rottb. イガガヤツリ
- Cyperus rotundus* L. ハマスゲ
- Cyperus sanguinolentus* Vahl カワラスガナ
- Cyperus serotinus* Rottb. ミズガヤツリ
- Cyperus tenuispica* Steud. ミズハナビ
- Eleocharis acicularis* Roem. et Schult.
f. *longiseta* T. Koyama マツバイ
- Eleocharis congesta* D. Don
var. *japonica* T. Koyama ハライ
ssp. *congesta* f. *dolichochoeta* T. Koyama
オオハリイ
- Eleocharis dulcis* Trin. イヌクログワイ
- Eleocharis kuroguwai* Ohwi クログワイ
- Eleocharis tetraquetra* Ness マシカクイ
- Eleocharis wichurae* Bockl. シカクイ
- Fimbristylis autumnalis* Roem. & Schult.
ヒメヒラテンツキ 稀
- Fimbristylis dichotoma* Vahl
f. *diphylla* Ohwi オテンツキ 稀
- f. *tomentosa* Ohwi ケテンツキ
- f. *floribunda* Ohwi クダテンツキ
- f. *annua* Ohwi テンツキ
- Fimbristylis fusca* Benth. オノエテンツキ 稀
- Fimbristylis littoralis* Gaudich. ヒデリコ
- Fimbristylis longispica* Steud. ナガボテンツキ 稀
- Fimbristylis ovata* Kern ヤリテンツキ 稀
- Fimbristylis pacifica* Ohwi イソテンツキ
- Fimbristylis sieboldii* Miq. イソヤマテンツキ
- Fimbristylis sieboldii* Miq.
var. *aripinensis* T. Koyama シマテンツキ
稀 南種子町平山(大浦川河床)
- Fimbristylis sericea* R. Br. ビロードテンツキ
- Fimbristylis cymosa* R. Br. var. *spathacea* T. Koyama
シオカゼテンツキ
- Fimbristylis subspicata* Nees & Meyen ヤマイ
- Fuirena ciliaris* Roxb. クロタマガヤツリ 稀
- Lipocarpa microcephala* Kunth ヒンジガヤツリ
- Machaerina rubiginosa* T. Koyama アンペライ 稀
- Rhynchospora chinensis* Nees & Meyen
イヌノハナビゲ 稀
- Rhynchospora rugosa* ssp. *brownii* T. Koyama
トラノハナビゲ 稀
- Rhynchospora rubra* Mak. イガクサ

Schoenus apogon Roem. & Schult. ノグサ
Scirpus juncooides Roxb. イヌホタルイ
 var. *hotarui* Ohwi ホタルイ 稀
Scirpus lacustris L. ssp. *creber* T. Koyama フトイ
Scirpus lineolatus Fr. & Sav. ヒメホタルイ
Scirpus mucronatus L.
 ssp. *robustus* T. Koyama カンガレイ 稀
Scirpus maritimus L. ウキヤガラ
Scirpus ternatanus Reinw. オオアブラガヤ
Scirpus x trapezoides Koidz. サンカクホタルイ
 (シカクホタルイの形もある)
 稀 西之表市古田(新記録種)
Scirpus triqueter L. サンカクイ
Scirpus wallichii Ness タイワンヤマイ 稀
Scleria levis Retz. シンジュガヤ
Scleria terrestris Fassett オオシンジュガヤ
 北限 南種子町平山及び大川
Palmae ヤン科
Livistona chinensis R. Br. var. *subglobosa* Becc. ビロウ
Araceae サトイモ科
Acorus gramineus Soland. セキショウ
Alocasia odora Spach クワズイモ
Amorphophallus kiusianus Mak. ヤマゴンニャク
Arisaema japonicum Bl. マムシグサ
Arisaema ringens Schott ムサシアブミ
Arisaema thunbergii Bl. ナンゴクウラシマソウ
Pinellia ternata Breitenb. カラスビシャク 稀
Typhonium divaricatum Decne. リュウキュウハンゲ 稀
Lemnaceae ウキクサ科
Spirodela polyrhiza Schleid. ウキクサ
Eriocaulaceae ホシクサ科
Eriocaulon buergerianum Koern. オオホシクサ
Eriocaulon cinereum R. Br. ホシクサ
Eriocaulon hondoense Satake ニッポンイヌノヒゲ 稀
Eriocaulon parvum Koern. クロホシクサ
Eriocaulon robustius Mak. ヒロハイスノヒゲ
 南限 西之表市古田
Commelinaceae ツユクサ科
Aneilema japonicum Kunth イボクサ
Aneilema nudiflorum R. Br. シマイボクサ
 北限(大隅半島以南)
Commelina auriculata Bl. ホウライツユクサ
 中種子町牧川, 西之表市小牧, 西之脇及び深川
Commelina benghalensis L. マルバツユクサ
Commelina communis L. ツユクサ

f. *hebespatha* Sugimoto ケツユクサ
 稀 西之表市古田
Commelina diffusa Burm. f. シマツユクサ
 北限(鹿児島県荒崎)
Pollia japonica Thunb. ヤブミョウガ
 稀 中種子町美座
Pontederiaceae ミズアオイ科
 ○*Eichhornia crassipes* Solms. Laub. ホテイアオイ
Monochoria vaginalis Presl.
 var. *plantaginea* Solms-Laub. コナギ
Philydraceae タスキアヤメ科
Philydrum lanuginosum Banks タスキアヤメ
Juncaceae イグサ科
Juncus effusus L. var. *decipiens* Buchen. イ
Juncus latior Satake ヒロハノコモチゼキショウ
Juncus monticola Steud. コモチコウガイゼキショウ
Juncus wallichianus Laharpe
 ハリコウガイゼキショウ
Luzula capitata Miq. スズメノヤリ
Liliaceae ユリ科
Aletris spicata Franch. ソクシンラン
Allium macrostemon Bunge ノビル
Allium thunbergii G. Don ヤマラッキョウ
Asparagus cochinchinensis Merr. クサスギカズラ
Dianella ensifolia DC. キキョウラン
Hemerocallis aurantiaca Baker
 var. *littorea* Nakai ハマカンゾウ
 南限 西之表市浦田(新記録種)
 ○*Hemerocallis fulva* L.
 var. *kwanso* Regel ヤブカンゾウ
 var. *longituba* Maxim. ベニカンゾウ
 (ノカンゾウ)
Lilium callosum S. & Z. ノヒメユリ
 南限 中種子町竹之川
Lilium lancifolium Thunb. オニユリ
Lilium longiflorum Thunb. テッポウユリ
 北限 中種子町阿高磯
Lilium leichtlinii Hook. f. var. *maximowiczii* Baker
 コオニユリ
Liriope minor Mak. ヒメヤブラン
Ophiopogon jaburan Lodd. ノシラン
Scilla scilloides Druce ツルボ
Smilax bracteata Presl. サツマサンキライ
Smilax china L. サルトリイバラ
Smilax sebeana Miq. ハマサルトリイバラ
Amaryllidaceae ヒガンバナ科

- Crinum asiaticum* L. var. *japonicum* Bak. ハマオモト
Curculigo orchoides Gaertn. キンバイザサ
Hypoxis aurea Lour. コキンバイザサ
Lycoris radiata Herbert ヒガンバナ
 ○ *Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* Roem. スイセン 北限, 稀
 ○ *Zephyranthes carinata* Herbert サフランモドキ 西之表市鹿之峯
- Iridaceae** アヤメ科
Belamcanda chinensis DC. ヒオウギ
 ○ *Gladiolus* x *gandavensis* v. Houtte トウショウブ 北限
 ○ *Lapeirousia cruenta* Bak. ヒナヒオウギ
 ○ *Sisyrinchium atlanticum* Bicknell ニワゼキショウ 北限, 稀
 ○ *Tritonia* x *crocosmaeflora* Lemoine
 ヒメヒオウギズイセン
- Dioscoreaceae** ヤマノイモ科
Dioscora bulbifera L. ニガガシユウ
Dioscorea japonica Thunb. ヤマノイモ 南限
Dioscorea quinqueloba Thunb. カエデドコロ
Dioscorea tokoro Mak. オニドコロ
- Musaceae** バショウ科
 ○ *Musa balbisiana* Colla イトバショウ
- Zingiberaceae** ショウガ科
 ○ *Alpinia formosana* K. Schum. クマタケラン
 Alpinia intermedia Gagnep. アオノクマタケラン
 Alpinia japonica Miq. ハナミョウガ 稀
 ○ *Alpinia speciosa* K. Schum. ゲットウ
 ○ *Zingiber mioga* Roscoe ミョウガ
 ○ *Hedychium coronarium* Koenig ハナシユクシャ
- Cannaceae** ダンドク科
 ○ *Canna coccinea* Mill. ダンドク
- Burmanniaceae** ヒナノシヤクジョウ科
Burmannia cryptopetala Mak. シロシヤクジョウ 稀
Burmannia liukiensis Hay. キリシマシヤクジョウ 稀
- Orchidaceae** ラン科
Aerides japonicum Reichb. f. ナゴラン
Amitostigma lepidum Schltr. オキナワチドリ 稀
Aphyllorchis montana Reichb. f.
 タネガシマムヨウラン
Apostasia nipponica Masamune ヤクシマラン
 種, 屋久, 中之島特産, 稀 西之表市屋久川
Bulbophyllum drymoglossum Maxim. マメズタラン
Bulbophyllum inconspicuum Maxim. ムギラン 南限
Bulbophyllum japonicum Mak. ミヤマムギラン 南限
Bulbophyllum macraei Lindl. ショウラン 北限, 稀
Calanthe alismaefolia Lindl. ヒロハノカラン
Calanthe aristulifera Reichb. f. キリシマエビネ 南限
Calanthe discolor Lindl. エビネ 南限
Calanthe lyroglossa Reichb. f. レンギョウエビネ 北限, 稀 西之表市鹿之峯
Calanthe masuca Lindl. リュウキョウエビネ 北限, 稀
Calanthe x *matsumurana* Schltr. ユウズルエビネ 北限
Calanthe triplicata Ames ツルラン 北限
Cephalanthera falcata Bl. キンラン
Cephalantheropsis gracilis S. Y. Hu トクサラン 北限
Cheirostylis liukiensis Masamune アカバシユスラン 北限, 稀
Cremastra variabilis Nakai サイハイラン 南限, 稀
Cymbidium dayanum Reichb. f.
 var. *austrorjaponicum* Tuyama ヘツカラン
Cymbidium geringeri Reichb. f. シュンラン 南限
Cymbidium nagifolium Masamune ナギラン
Cymbidium nipponicum Mak. マヤラン
 南限, 稀 中種子町生姜山
Dendrobium tosaense Mak. キバナセッコク
Epipactis thunbergii A. Gray カキラン
 f. *subconformis* Sakata イソマカキラン 稀 西之表市万波
Eria corneri Reichb. f. ホザキオサラン 北限 西之表市犬城及び屋久川
Eulophia zollingeri J. J. Sm. イモネヤガラ 北限, 稀 中種子町野間松原山
Galeola altissima Reichb. f. タカツルラン 北限, 稀 西之表市屋久川
Galeola septentrionalis Reichb. f. ツチアケビ 南限
Gastrodia gracilis Bl. ナヨテンマ ごく稀 中種子町生姜山(新記録種)
Gastrodia verrucosa Bl. ハルザキヤツシロラン
Goodyera foliosa Hook. f. ツユクサシユスラン
Goodyera hachijoensis Yatabe ハチジョウシユスラン
 var. *matsumurana* Ohwi カゴメラン
Goodyera procera Hook. キンギンソウ 北限, 稀
Goodyera schlechtendaliana Reichb. f. ミヤマウズラ
Goodyera velutina Maxim. シユスラン 西之表市屋久川
Goodyera viridiflora Bl. シマシユスラン
Habenaria dentata Schltr. ダイサギソウ 稀
Habenaria lacertifera Benth. タカサゴサギソウ 北限, 稀
Habenaria robustior Hook. f. ムカゴトンボ
Herminium lanceum J. Vuijk.
 var. *longicirure* Hara ムカゴソウ

- Hetaeria yakushimensis* Masamune
ヤクシマアカジュスラン 稀
- Lecanorchis japonica* Bl. ムヨウラン
南限, 稀 西之表市野木
- Lecanorchis nigricans* Honda クロムヨウラン
稀 西之表市屋久川(新記録種)
- Liparis formosana* Reichb. f. ユウコクラン
- Liparis nervosa* Lindl. コクラン 南限, 稀
- Liparis odorata* Lindl. ササバラン 稀
- Liparis plicata* Fr. & Sav. チケイラン
- Listera shikokiana* Mak. ヒメフタバラン
西之表市屋久川
- Luisia teres* Bl. ボウラン
- Microtis uniflora* Reichb. f. ニラバラン
- Neofinetia falcata* Hu フウラン 稀
- Nervilia nipponica* Mak. ムカゴサイシン 稀
- Oberonia japonica* Mak. ヨウラクラン 稀
- Phaius minor* Bl. ガンセキラン
f. *punctatus* Ohwi ホシケイラン
- Phaius tankervilleae* Bl. カクラン 北限
- Saccolabium japonicum* Mak. カシノキラン 稀
- Spiranthes sinensis* Ames var. *amoena* Hara ネジバナ
- Taeniophyllum glandulosum* Bl. クモラン 稀
- Tainia laxiflora* Mak. ヒメトケンラン
- Tropidia nipponica* Masam. ヤクシマネッタイラン
- Zeuxine flava* Benth. ヤンバルキシラン
北限, 稀 西之表市千段之峯(新記録種)
- Zeuxine strateumatica* Schltr. キヌラン

文 献

- 1) 初島住彦: 鹿児島県植物目録, (1978) 鹿児島植物同好会編
- 2) 初島住彦: 琉球植物誌, (1971) 沖縄生物教育研究会
- 3) 杉本順一: 日本草本植物総検索誌 I 双子葉篇, (1965) 六月社
- 4) 杉本順一: 日本草本植物総検索誌 II 単子葉篇, (1973) 井上書店
- 5) 杉本順一: 日本草本植物総検索誌 III シダ篇, (1966) 六月社
- 6) 杉本順一: 日本樹木総検索誌, (1965) 六月社
- 7) 前川文夫: 原色日本のラン, (1971) 誠文堂新光社
- 8) Yoshiwo Horikawa: Atlas of the Japanese Flora, (1972) Published by Gakken Co., Ltd.
- 9) 北村四郎, 村田 源, 堀 勝: 原色日本植物図鑑 草本編 I・II・III, (1964) 保育社
- 10) 大井次三郎: 日本植物誌, (1965) 至文堂
- 11) 池野成一郎: 種子島よりの通信, 植物学雑誌, 10, 305 (1896)
- 12) 内藤 喬: 種子島牧場植物誌, 鹿高農学報, 2, 85 (1916)
- 13) 鹿児島県教育調査会: 種子島の動植物 (鹿児島博物調査第二集) (1927)
- 14) 正宗敬敬: 種子島と屋久島 史蹟天紀, 4, 1 (1929)
- 15) 細山田良康: 種子島概観 鹿児島博同, 3, 1 (1932)
- 16) 内藤 喬: 種子島植物概況及び植物目録 (贈) (1933)
- 17) 津山 尚: 岩政定治氏の種子ヶ島の採集品 植物研究雑誌, 16, 57 (1940)
- 18) 田代善太郎: 屋久島・種子島暖地性植物段階植物分類地理, 13, 286 (1943)
- 19) 岡部正義: 種子島調査報告 (小川香料) (贈) (1950)
- 20) 初島住彦, 塚本越夫: 種子島植物目録 (贈) (1953)
- 21) 佐々木舜一, 大内山茂樹: 種子島自生植物の地理的分布 九州農試報, 2 (1953)

業 務 報 告

Annual Reports of Divisions

昭 和 54 年 度 業 務 概 況

所 長 下 村 孟

昭和54年度において当所を取り巻く環境のうち、注目されるものとして薬事法改正と行政改革の推進があげられる。

薬事法改正は、長年の懸案事項であり、世界で初めてである医薬品副作用被害救済基金法とともに昭和54年4月に国会に提出されたが、審議未了のまま廃案となった。しかし、同年9月に召集された臨時国会において成立し、医薬品副作用被害救済法については同年10月1日から、薬事法一部改正については公布の日から1年以内の政令で定める日から施行されることとなった。この薬事法改正は、昭和35年以降の医薬品を取り巻く環境の変化に対し行政指導により対応してきたのを、更にその徹底を図るため法制化により法の不備を補おうとするものであり、この改正により薬務行政はより厳しくなるものと考えられるが、当所においても法改正の趣旨に沿えるよう十分体制を整備していく必要がある。

行政改革については、近年の行財政の現状にかんがみ、財政再建とともに簡素にして効率的な政府の確立が求められているところであるが、昭和54年に統廃した官庁における不詳事件は、国民がより厳しい行政改革を求めるところとなり、政府は「昭和55年行政改革」として地方支分部局・附属機関等の整理合理化、定員管理の強化などを骨子とした一連の行政改革を昭和54年末から昭和55年初にかけて決定した。附属機関の整理合理化に関して当初はその対象とはならなかったが、行政需要に対応できるよう今後常に見直しをする必要がある。また、定員管理の強化については、昭和55年度が最終年度の子定であった第4次定員削減計画を改めて、昭和55年度を初年度とする第5次定員削減計画が定められたが、増員に対する当局の姿勢が厳しい折から、業務の処理には一層の効率化、簡素化に

努める必要があると考えている。

当所における業務のうち、まず最初に国際的情報業務について報告する。国際的な情報関係業務のうち、国連環境計画 (UNEP) の国際有害化学物質登録制度 (IRPTC) のナショナルコレスポンドント業務は、昭和54年2月からこの業務を開始したが、昭和55年5月までの16箇月間に IRPTC から17件の照会調査依頼があるなど、ナショナルコレスポンドント業務は片手間では行えないような業務となりつつある。また、WHO が計画した国際化学物質安全性計画 (IPCS) は、その後 UNEP 及び ILO もこの計画に加わることとなったが、わが国は当所がリード機関としてこの計画に加わることとなり、昭和55年5月8日ジュネーブにおいて日本政府と WHO との間でメモランダムが取り交わされた。この IPCS の業務を引受けるに当たり、当所における情報業務を担当していた附属図書館を発展的に解消し、化学物質情報部を新設するべく、組織及び定員を要求したが、国の行財政が厳しい折から化学物質情報部の名称変更は認められたものの、室の新設及び増員は認められなかった。したがって、今後この計画を円滑に進めていくには、かなり苦しい体制で臨まなければならないと考えられるので、所要の人員が確保できるよう更に努力する必要がある。

次に、筑波研究学園都市に建設中の筑波薬用植物栽培試験場の建設工事は、予定どおり順調に進行し、昭和54年11月に建物の引き渡しを受け、同年12月に春日部からの移転作業を終了したが、移転に先立ち、大正11年以来57年間の長きにわたって重要な役割りを果たした春日部薬用植物栽培試験場の閉場式をさきやかに行った。筑波薬用植物栽培試験場は、春日部試験場の2倍以上の 45814 m³ の敷地に近代的な施設設備と標本園、試験圃場等が整備されており、昭和55年2月から

本格的に業務を開始した。なお、昭和55年5月22日に当場の建設に当たり、指導及び協力を受けた関係者を招いて開場記念行事を開催したところであるが、当場に寄せられる期待が大きいので、日本における薬用植物の中心的な栽培研究施設として今後の活躍を期待する次第である。

第三は有害物質取扱要領についてであるが、当所において使用する化学物質の種類は非常に多く、中には取扱、保管等について十分注意をしなければならぬものもあるので、かねてから取扱要領の作成が望まれていた。昭和53年7月に人事院規則10-4(職員の保健及び安全の保持)が改正され、職員に重度の健康障害を生ずる又は生ずるおそれのある有害物質の使用又は製造をする場合は人事院の承認が必要となったのを機に、研究委員会において当所における取扱要領の作成にとりかかり、昭和54年11月関係者の努力により「有害物質取扱要領」が完成した。この要領で対象となる品目は、人事院が指定した品目のほかに有害とみられる物質も対象としているので、この要領の適正な運用により職員の保健及び安全が保持されることを期待する。

本年度における当所の業務報告の概要は以上のとおりであるが、最後に誠に残念なことであるが、現職の職員2人を失ったことを報告しなければならない。その1人は、小田嶋成和病理部長であり、過酸化水素の発がん問題に関連して連日の激務の最中、昭和55年2月7日急逝されたが、がん研究で第一人者であった研究者を失ったことは当所のみならずわが国にとっても掛替えのない大きな損失であり、惜しみても余りがあるといえる。同年2月23日中野区の宝仙寺において衛生試験所葬を執り行った。もう1人は鯉淵昌信薬品第一室長であり、当所の中堅研究者としてガスクロマトグラフ法及び局方医薬品の品質管理の分野で活躍され将来を嘱望されていたが、不幸にして病に倒れ、昭和55年3月18日死去された。ここに謹んでお二人に対し哀悼の意を表する次第である。

総 務 部

部長 北原 数 美

前部長 飯 島 良 雄

昭和54年10月15日付で飯島良雄部長、海老沢毅庶務課長は退職し、新たに設立された医薬品副作用被害救済基金総務部長、事業部長にそれぞれ就任した。

1. 組 織

昭和55年2月1日から春日部薬用植物栽培試験場を廃止し、代わりに筑波薬用植物栽培試験場を設置することが認められ、厚生省組織規程及び国立衛生試験所細則の一部改正が行われた。(庶務課新設、栽培管理室を栽培研究室に変更、主任研究官を育種生理研究室に振替)。

なお、等級別定数の改訂により主任研究官の定数が42人から46人に改められた。

2. 定 員

昭和53年度末の定員は、314名であったが、昭和54年度定員削減計画に基づき、行政職(二)1名、研究職2名、計3名の定員が削減された。一方、生物系研究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54年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)53名、行政職(二)40名、研究職218名計313名となった。

なお、昭和55年度における増員は認められなかった。

3. 予 算

昭和54年度予算総額は、2375476千円で前年度の2263214千円に比較して112262千円の増額で、伸び率は105%となっている。

増額の主な内容は、人当経費47883千円を除くと研究費のうち人当研究費12495千円(1人当たり@1120千円→1190千円)、薬用植物栽培試験場運営費が、53年度の9451千円(圃場管理費423千円、薬用植物移植経費9028千円)が、54年度は2箇月の運営費として、100148千円が認められ90697千円増額されたことなどである。

国立機関公害防止等試験研究費においては、新規テーマ3課題(人工水棲生態系における環境汚染物質の動態に関する研究15950千円ほか)が認められたことによるものである。

このほか、54年度予算においては、新規事項としてUNEP ナショナルレスポンドメント運営費1017千円が認められた。

なお、昭和54年度事項別予算額は別表のとおりである。

4. 筑波薬用植物栽培試験場

特定国有財産特別会計として、昭和54年度は、国庫債務負担行為越年分468354千円と単年度歳出は105850千円〔内訳は建物2棟(危険物倉庫、屋外便所)3503千円、ラインメーター等植物観察施設11610千円、外構工事78188千円及び施行管理費等12549千円〕の予算が計上され、工事は順調に進み、54年11月末日概成をみ、55年2月から事業を開始した。

資料 昭和54年度予算額

区 分	昭和53年度 (A)	昭和54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	2159280	2261409	102129	
(項)厚生本省試験研究所	2032800	2146636	113836	
人 当 経 費	1343601	1391484	47883	研究職の2名増のほか定期昇給及びベースアップによる増
一般事務経費	51521	50387	△ 1134	
研 究 費	206371	219316	12945	人当研究費単価の増 @1120千円→1190千円
特別研究費	16749	17468	719	1. 生活関連諸物質の微量分析新技術の開発研究(9410千円) 2. 医薬品、食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究(8058千円)
標準品製造費	3429	3429	0	
安全性生物試験研究センター運営費	401678	363387	△ 38291	
薬用植物栽培試験場運営費	9451	100148	90697	
UNEP ナショナルコレスポネント運営費	0	1017	1017	
(項)血清等製造及び検定費	99866	103679	3813	
(項)厚生本省試験研究所施設費	26614	11094	△ 15520	
(組織)厚生本省試験研究機関	103934	114067	10133	
(項)国立機関原子力試験研究費	32040	29724	△ 2316	
(項)放射能調査研究費	4861	1689	△ 3172	
(項)国立機関公害防止等試験研究費	67033	82654	15621	
計	2263214	2375476	112262	

合成化学研究部

部長 神谷 庄造

概要 昭和55年4月1日、神谷部長の併任となっていた第二研究室長に末吉祥子主任研究官が昇任した。

合成化学研究部の主な研究テーマは、「生理活性物質の合成とそれらの化学反応性に関する研究」及び「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」である。前者は主に発がん物質の化学であるが、生物系の部門で見出された各種の問題を取上げ、活性中間体の合成及びそれらの化学的反応性を検討するなど、毒性発現の本質に化学的な面からアプローチするものである。後者は新しい抗腫瘍性化学官能基の発見を目的としたもので、この研究が開始されてから現在まで250種の化合物を合成し、構造活性相関について多くの知見を得ている。

研究業績

1. 生理活性物質の合成とそれらの化学反応性に関する研究

N-ニトロソ尿素類には発がん性又は制がん性を有するものが多いが、当部においてもN、N'-ジ置換ニトロソ尿素の構造をもつ異項環化合物の中に強い抗腫瘍作用を有する物質を見出した。これらN、N'-ジ置換尿素誘導体をニトロソ化する際、2個の置換基の種類により2種の異性体を生成することが予想されるが、従来これら2種の異性体をそれぞれ単離した例はない。今回、3位にピリジルメチル基をもつ4種の1-アルキル尿素をニトロソ化して1-ニトロソ体及び3-ニトロソ体の2種の異性体をそれぞれ単離し、更に各異性体を酸で処理するとニトロソ基の1,3-シフトが起こることを明らかにした。この転位反応の機構を検討する目的で、これらニトロソ化合物の酸による脱ニトロソ化及び転位を速度論的に検討中であるが、現在まで転位反応は脱ニトロソ化によって進行し、ニトロソ化が置換基の電子の因子によって影響されるのに対し、転位反応では立体効果が強く現われることを明らかにし

た。(→学会発表 1,8) このようなニトロ基の転位反応は生体内でも起こることが予想され、非常に興味ある反応であり、より詳細に検討を続けていきたい。

また、N, N'-ジアリル尿素をニトロ化する際も置換基の種類により2種の異性体を生ずるが、3種のニトロ化剤 (N_2O_4 , N_2O_3 , NOCl) を用い、それぞれの異性体生成比と置換基及び反応試薬との関係について検討した結果、 N_2O_3 及び NOCl を用いた場合、異性体生成比と置換基数との間に直線関係が認められたが、 N_2O_4 の場合は異なった結果を得、ニトロ化剤の種類により異性体の生成比が異なることが判明した。(→学会発表 9) 更に、ここで得た N, N'-ジアリルニトロ尿素のベンゼン中での分解反応を検討した結果、N-アリルカルバミン酸ジアゾエステルを中間体とするラジカル反応とイオン反応が併行して起こることを明らかにした。(→学会発表 3)

N-アルキルニトロソ尿素類及びN-アルキル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類、チオール化合物及びアミノ酸などの反応を検討中であるが、現在までこれらの反応は中性、塩基性の条件下で速く、酸性条件下では非常に遅いこと、更に途中で生成するアルキルカチオンの安定性が炭素数で非常に差のあることが判明した。また、システインとの反応では、中間にS-ニトロソ体の生成を確認しており、これら化学的反応性と発がん活性との関係を検討していきたい。(→学会発表 4,6; 文部省がん特別研究, 岡田班報告) N-アルキルフェニルトリアツェン類には制がん作用など生理活性を示すものが多いが、当部ではシアノトリアツェン類の合成を試み、アジド類とシアニ化カリウムとの反応を検討した結果、ベンゼン、ピリジン及びピリダジン骨格をもつアジド類はいずれも容易にシアノトリアツェン誘導体を生成することを明らかにした。更に、これらシアノトリアツェンの酸性条件下での反応性、メチル化剤に対する反応を検討し興味ある知見を得た。(→誌上発表 1,3, 学会発表 2)

芳香族アミン類は発がん性を示すものが多く、また医薬品、工業薬品のみならず、アゾ色素の代謝産物としても生体内で生成することが証明されており、人体への影響が懸念されるものである。これら芳香アミンの毒性発現機構の有機化学的研究の一環として、代謝中間体と考えられているN-水酸化体10種を合成し、その化学構造とサルモネラ菌に対する変異原性との関係について検討した結果、合成したすべてのN-水酸

化体が強い変異原性を示すこと、また酵素系を加えることによりむしろその活性は弱まることが判明し、N-水酸化体が直接核酸や蛋白質などの生体成分と反応しうることを明らかにした。(→学会発表 5)

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-クロロエチルニトロソウレイド基を有する異項環化合物を多数合成し、これらのラット腹水肝癌AH-13及びマウス白血病L-1210に対する抗腫瘍性を検討した結果、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・トシレート及び1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(2-ピリジリエチル)尿素 N-オキサイドに特に強い抗腫瘍効果を見出した。(→誌上発表 2; 文部省がん特別研究, 水野班報告)

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ツェンのベンゼン及びピリジン誘導体を多数合成し、その抗腫瘍性を検討中であるが、現在まで強い効果を示すものは見出されていない。(→誌上発表 1,3) また、アジド基をもつ窒素異項環化合物を10種合成し、その抗腫瘍性を検討中である。

新しい試みとして、環状ウレタン構造を有する2-オキサゾリドン類を合成し、AH-13及びL-1210に対する抗腫瘍効果を検討した結果、3-ニトロソ-2-オキサゾリドンがAH-13に著効を示すこと、また効果発現にN-ニトロソ基が必須であること、更にフェニル置換体では効果が減弱することなどを明らかにした。(→学会発表 7)

その他、キノン構造、核酸塩基のアナログなどを合成したが、目下スクリーニング中である。

スクリーニング法の開発として、エチルニトロソ尿素で発生した赤芽球性白血病細胞(EDEN)の継代移植を続けており、更に種々の化合物についての効果を検討中である。(薬品病理部との共同研究)

3. その他

厚生省がん研究助成金による「変異原性物質の動物発がんテストに関する研究」の研究班に検体の配布を継続した。(厚生省がん研究助成金, 小田嶋班報告)

薬品部

部長 江島 昭

概要 昭和54年度において終了した研究は、「安定性の予測法に関する研究」(審査課, 星薬大, 東西両薬

協技術委員会と共同)である。この成果は審査課に答申, 行政に反映される。

これとは別に安定性の一次的予測の簡易試験法を検討するなど製剤の安定性に関する研究が進んでいる。

生物学的同等性の判定基準の作成に関する研究はこの第3年次においても, 東西両薬協製剤技術懇談会の協力を得て, bioavailability と相関性のある固形製剤の特性に対応した溶出試験法が段階的に確立されつつある。残された2年の研究成果を期待している。

高速液体クロマトグラフ法は医薬品製剤の成分量及び純度の試験に益々適用の度を加え, 昨年に引き続き, 特別審査品目への統一試験法を作成し, 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。

麻薬関係では「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)の第1年次において, 毒性部と共同し, 動物汗中の超微量薬物の検出・確認の基礎研究を行っている。

第十改正日本薬局方の化学薬品調査部会は新収載品目の大部分の審議を終了した。同, 一般試験法調査部会へはアルコール数測定法に替わるガスクロマトグラフ法(ヘッドスペース法)を提案した。

緒方宏泰薬品第一室長は昭和54年7月下旬, 米国, ニューヨーク州立大学薬学部(パフファロー)の留学から帰国した。吉岡澄江技官は昭和55年4月初旬, 米国, カンサス大学薬学部へ留学した。

鯉淵昌信薬品第一室長は昭和55年3月18日肝がんのため死去した。故人の御冥福をお祈りします。

業務成績

1. 国家検定 総件数は861件であり, 前年度より46件の減少であった。その内容はブドウ糖注射液, 避妊薬及びリンゲル液においては, それぞれ前年度比18件(2.9%), 11件(44.0%)及び2件(22.2%)の増加に対し, 塩酸エタンブトール, 同錠, プロチオナミド及び同錠においては, それぞれ24件(22.9%), 42件(31.3%), 1件(25%)及び3件(60%)減少した。ブドウ糖注射液633件のうちポリ塩化ビニール製容器を用いたもの25件(3.9%)ではほぼ半減し, ポリエチレン製又はポリプロピレン製容器を用いたものは219件(34.6%)で著しく増加した。不適品はなかったが, 塩化ビニール製容器の外面とそのコーティング面間から異臭の発したものが1件あったが, 国家検定の申請が取り下げられた。

2. 特別審査試験 総件数は253件で前年度より6件(2.3%)の減少であった。新薬は5件(4.7%)の増加であった。解熱鎮痛剤は8件(5.5%)減少したが, そのなかで坐剤はやや増加した。殺虫剤は3件(42.9

%)減少した。試験法については定量法に高速液体クロマトグラフ法の適用が著しく増加している。

3. 特別行政試験 総件数48件で, 前年度とはほぼ同じである(4%減)。このうち42件はインドからの輸入あへん第1期及び第2期分で, 他は国産あへんである。

4. 一斉取締試験 イブプロフェンを含有する散剤, 顆粒剤, 錠剤の合計35件及び塩酸ベンジダミンを含有する錠剤, カプセル剤の合計9件について定量, 確認及び崩壊試験を行った。不適品はなかった。

5. 標準品製造 麻薬等の鑑識に供する標準品として, 麻薬 LSD 1g 及び向精神剤 STP (2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine) 20g, phencyclidine 20g を製造した。

6. その他 日本薬局方収載化学薬品規格・試験等の改正及び新医薬品の審議, 薬事監視業務の効率的な実施に関する研究(監視指導課), 生物学的同等性判定基準作成に関する研究(第3年次報告, 審査課), 安定性の予測法に関する研究(審査課, 終了), 厚生省がん特別研究「突然変異原性物質の動物発癌テストに関する研究」のための試料の純度の試験を行った。体液中の覚せい剤検出法に関する研究(麻薬課委託研究, 班長千葉大学薬学部 北川晴雄教授), 感冒剤及び解熱鎮痛剤の高速液体クロマトグラフ法による定量法の作成(前年度の追加, 審査課), 医薬品の規格及び試験方法, 53年度版作成(新薬規格, 審査課)。

研究業績

1. 医薬品の分析化学的研究

i) 高速液体クロマトグラフ法を用いる方法 総合感冒剤中の解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の定量(→誌上発表 4)。解熱鎮痛剤配合製剤の定量(→誌上発表 5)。新医薬品(消炎剤)の定量(→学会発表 10)。感冒剤中の解熱鎮痛剤及び鎮咳祛痰剤の定量(→学会発表 11)。腎移植患者尿の分析(→学会発表 12)。サリチル酸エステル類の純度試験及びサリチル酸エステル類混合製剤の分離定量(→学会発表 13)。

ii) ガスクロマトグラフ法を用いる方法 ルビジウムフレーム検出器を用いる総合感冒剤中のマレイン酸クロロフェニラミン及び塩酸メチルエフェドリンの微量分析(→誌上発表 6)。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(→誌上発表 7)。

2. 医薬品の安定性に関する研究

i) 固体状態のスルピリンの分解反応を酸素ガス中, 80°で研究した。分解反応の初速度は水の量に比例し, 固相が存在する飽和溶液ではゼロ次, 固相のないときには見掛けの一次反応であった。分解生成物5種を単

離し、分解機構の考察を行った。(→誌上発表 8)

ii) 固形医薬品の安定性試験に拡散反射スペクトル法の利用法を検討し、安定性の一次的スクリーニングの簡易試験に利用できることが判明した。(→誌上発表 9)

iii) 安定性の予測法に関する研究において得られたアスピリン錠、アスコルビン酸10倍散の経時変化の研究成果から、更に文献及び諸外国事例を参考にし、安定性予測のための基本的条件設定を行った。(東西両薬協技術委員会と共同、審査課)

3. 医薬品の安全性に関する研究

i) ブドウ糖注射液(輸液)用塩化ビニル製容器の内袋と外袋との間の異臭発見事例に対し、安全性の立場から、国家検定関係各部と共同して異臭発生原因を検討・対処し、製造法の改善に反映させた。(監視指導課)

4. 医薬品の有効性に関する研究

i) 市販クロラムフェニコール糖衣錠21銘柄を用いて8種の溶出試験法の評価を行った。その結果は7種の法が2群に分類され、攪拌方法に基づく分類とよく一致した。(→誌上発表 10)

市販クロラムフェニコール糖衣錠18銘柄の中から相異なる *in vitro* 溶出速度を示す5銘柄の bioavailability 試験を行った。*in vivo* と良好な *in vitro* の溶出速度の測定条件は pH 4 であった。bioavailability の悪い試料も食事直後に服用すれば改善される。(→誌上発表 11)

市販の主成分の異なるサルファ剤錠8種のヒトの服用後の吸収部位と溶解度、溶出速度との関連性について検討した。吸収部位を分ける臨界溶解度は 3 mg/ml (0.1 N 塩酸) で、これ以上のものは酸性条件で以下のものは酸性条件で前処理後、中性条件で溶出速度を測定するとき、吸収部位との関連性が認められる。(→誌上発表 12)

中性、塩基性、酸性、難溶性薬物を錠剤、糖衣錠、腸溶錠の剤形にして服用したときの、bioavailability に及ぼすヒト胃液酸度の影響を明らかにし、これに対処する溶出試験液の pH 条件を見出した。(→学会発表 14)

難溶性のグリセオフルビン錠の溶出試験法と bioavailability について検討し、相関性のある溶出試験法を見出した。(→学会発表 15)

TDS 糖衣錠の bioavailability は錠剤の胃内での崩壊、胃液酸度に関係し、溶出試験には pH 1~7.2 間の数種の液を用いるのがよい。(→学会発表 16)

ii) 胃内容排泄速度測定法に関する研究は継続中で

ある。

5. 麻薬及び習慣性薬物に関する研究

i) 動物の汗中に排出する覚せい剤の超微量の検出・確認方法を、N-P FID 検出器付きガスクロマトグラフ法により検討し、ヒトへの適用の基礎とした。(毒性部と共同)

ii) 向精神剤の微量分析法に micro crystal test を適用し、その利点を明らかにした。(→誌上発表 13)

iii) オーストラリア・アポット社製の morphine (technical) 及び poppy straw (concentrate) と、従来の輸入あへんとの比較、評価に関する研究を行い麻薬技術委員会へ報告。(外部と共同)

iv) あへん採取の最適条件を確立するために、種々の条件で栽培して得たあへんのさく果を試料とし、モルヒネを対照として研究した。[春日部薬用植物栽培試験場(現筑波)と共同]

生物化学部

部長 川村 次良

チュニジア国の技術援助のプロジェクト「医薬品の品質管理に関する試験研究」に関する当所の協力事業として、昭和54年7~8月の間 National Institute of Nutrition(Tunis) の Miss Saloua Djaoua を研修及び見学の目的で受け入れ、同年9月には、Dr. Béchir Kekhia (同研究所副所長) が技術援助計画実施の相談及び研修のため2週間滞在した。また、同年11月から1年間徳永裕司技官が、同プロジェクトに基づく派遣エキスパートとしてチュニジア国の同研究所へ出張中である。

業務成績

1. 国家検定 インシュリン製剤127件及び脳下垂体後葉関係製剤62件について検定を行ったが、オキシトシン注射液で単位不足のため不合格になったものが1件あった。

2. 特別審査試験 アミノ酸製剤、ステロイドホルモン製剤など10件について審査を行った。

3. 標準品製造 昭和54年度の標準品製造品目及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。昨年度の売払個数は3242個で対前年度としては約130%と全般的に需要が増加する傾向にあり、その主なるものは、ビタミン標準品と性腺刺激ホルモン標準品である。なお、昨年度も予算要求はしているが、カリジノゲナーゼ製剤の標準品は、WHO の国際標準品が共同検定の段階に入ったので、衛生試験所標準品の

判定について特に配慮する必要があると考える。

4. その他

i) 胃腸薬製剤基準中の消化酵素製剤統一試験法及びウロキナーゼ製剤、 β -ガラクトシダーゼ製剤の規格試験法などについて検討し、薬務局審査課へ報告した。

ii) 日本薬局方含糖ペプシン規格の改訂、同インシュリン規格の新設について検討し、それぞれの案を薬務局安全課へ提出した。

研究業績

1. コルチコイドの定量法に関する研究

i) 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。(→誌上発表 14)

ii) グルココルチコイドの呈色物質がけい光を発することを見出し、このことをグルココルチコイド、特にヒドロコルチゾン、プレドニゾン及びコルチゾンの定量に利用した新しい光定量法を確立した。この方法が妨害物質の影響で定量の困難であった軟膏中のコルチコイドの定量に応用できるか、従来法と比較検討した。(→誌上発表 15, 学会発表 19)

2. ステロイドホルモンの代謝及びその作用機序に関する研究

20 β -hydroxysteroid dehydrogenase 及び 20-oxosteroids 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。(→誌上発表 16, 17, 18, 学会発表 17, 20, 21)

3. ホルモン製剤の持続作用に関する研究

昨年に引き続き、試製した低亜鉛含量の持続性インシュリン製剤につき、その亜鉛含量と血糖降下の持続性及び血中濃度との相関を検討した。その結果、試製品は 100 単位につき、0.12 mg の亜鉛含量が、測定誤差を考慮した下限値であると推定された。100 単位につき、0.08 mg の亜鉛を含む試製品は、結晶化に問題があり、製剤化は不可能であると考えられる。薬務局安全課へ報告。(静岡薬大、北大薬学部と共同の厚生科学研究)

4. ベプチド及びたん白質製剤の純度に関する研究

オキシトシン及びバソプレシン注射液につき、高速液体クロマトグラフ法を用いる純度試験を検討し、その測定条件を確立した。その結果、オキシトシン注射液については、今後、その不純物などについて検討す

る必要があると考えられる。

5. 酵素製剤の規格及び試験法に関する研究

酵素製剤の定量に際して、その抽出溶媒などの違いによって測定値が大きな影響を受ける製剤のあることをすでに見出した。そこで、今回は特にリゾチーム製剤及びプロメライン製剤 (錠剤) について、このような現象の起こる原因を追求し、更により正確な定量試験を行うため、基質液及び酵素溶液の安定性など基礎的測定条件の検討を行った。〔衛生試報, 98, 87, 91 (1980)〕(→学会発表 18)

6. 医薬品の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

ヒト及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* の試験法について検討するとともに、好中球の走化性、貪食作用、食殺菌作用、レクチンによるリンパ球の幼若化反応、アロリンパ球抗原に対するリンパ球の増殖性反応などの各機能に対し、コルチコイド類や薬品部の協力を得たピラズロン系及びピラゾリジン系の医薬品が及ぼす影響を調べた。(→学会発表 22)

7. 標準品の品質規格に関する研究

i) 第十改正日本薬局方に収載予定のフルオンノロンアセトニド標準品原料につき、その不純物を高速液体クロマトグラフ法及び薄層クロマトグラフ法によって検討した。

ii) 酢酸コルチゾン標準品について、高速液体クロマトグラフ法によりその純度の検討を行い、種々の定量法における標準品として用いることのできる品質を有していることを確めた。〔衛生試報, 98, 125(1980)〕

iii) メトトレキサート標準品のアンモニウム再結晶品と塩酸再結晶品につき、赤外吸収スペクトルの異同を検討した。更に ^{13}C -NMR スペクトルを測定し、それぞれの標準品のスペクトルにおける帰属を考察したが、文献の帰属と一致しない点があり、また、赤外吸収スペクトルの異同とも同じでないため、今後、更に検討を必要とすると考えている。

放射線化学部

部長 寺尾 允男

概要 昭和54年9月まで鈴木郁生副所長が当部部長を併任されていたが、同年9月より寺尾允男が新任部長として着任した。

業務成績

1. 放射性医薬品の特別審査試験

in vitro テスト用 RIA キット及び *in vivo* に適用し

て診断に供する製剤調製用のジェネレータなど20品目について書類審査を行った。その結果9品目について試験方法又はその表現などに問題が認められ、再度検討することが要求された。

審査対象となった製品別品目数は以下の通りである。

^{125}I 標識 RIA キット	19品目
クリプトン($^{81\text{m}}\text{Kr}$)ジェネレータ	1品目

研究業績

1. RIA キットの精度に及ぼす因子に関する研究
— ジョードハプテン誘導体のハプテン抗体結合性について —

ジョード- ^{125}I -標識ハプテン化合物が抗体との反応性の低下、ひいては RIA の精度に影響することが懸念された。

そこでヒドロコルチゾン(C)及びアルドステロン(A)をモデル化合物として、それぞれのモノ及びジョード- ^{125}I -標識化合物を合成し、これら化合物と、それぞれのハプテン抗体との反応性の差を中心に検討した。その結果ジョード体A, Cはいずれの場合もほとんど抗体と反応しないことが明らかとなった。これは RIA キットの ^{125}I -標識ハプテン中にジョード体が混入した場合、測定精度の低下を来す原因となることを示している。(厚生科学研究, 54年度)

2. 依存性薬物の生物学的研究

[N-methyl- ^{14}C , 6- ^3H] codeine を合成し、ラット肝を用いる *in vitro* の代謝実験を行い、代謝物として6-OH が酸化を受けた codeinone を検出した。

またラットに [N-methyl- ^{14}C , 6- ^3H] codeine を皮下注射し、その後の ^{14}C と ^3H の放射能を測定すると、脳では ^{14}C と ^3H の放射能比は変化しないが、血液、肝では ^3H に比べて ^{14}C の放射能の減少は遅いことが認められた。

codeine の 6-OH 代謝を受けたものは他の代謝物に比べて反応性が高いためにタンパクなどに結合し、長時間体内に残留するものと考えられた。(一学会発表 25)

3. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究(環境衛生局行政研究)

エチレンチオウレアの吸収・分布・代謝 ^{14}C -エチレンチオウレア (^{14}C -ETU) を用い、モルモットにおける経皮吸収、体内分布及び代謝につき検討した。

^{14}C -ETU は正常皮膚からの吸収は極めて遅いが、脱表皮皮ふからは比較的容易に吸収された。

経口投与後における生体内分布では、投与後1時間では脂肪組織を除く全組織に様に分布したが、48時間後では甲状腺、肝、副腎にのみ顕著に残存した。こ

の傾向は経皮吸収の場合も同じで、ETU の甲状腺における発癌性を考える上で重要と思われる。

ETU はモルモットにおいては、ほとんど代謝を受けず排泄されるが、体外においては微生物により容易に分解を受けてエチレンウレアとなることが判明した。(一学会発表 27)

4. 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

$\text{Pb}(\text{OAc})_2$ の経口、皮下及び腹腔投与時のラット生体中、特に肝、腎の鉛の細胞内分布と存在形態について研究を行った。

肝、腎の細胞分画中の鉛の分布及び経時変化は、両臓器とも投与経路に関係なく類似した傾向を示した。鉛量は肝ではいずれの時間においても、核画分において最も高く、ついで上清、ミトコンドリア、マイクロゾームの順であり、腎では核、ミトコンドリア、上清、マイクロゾームの順であった。

肝と腎における鉛の存在形態を知る目的で投与後3時間と48時間の $105000 \times g$ の上清をセファデックス G150 によるゲル濾過で分画したところ、投与方法に関係なく、鉛は大部分高分子物質と結合していた。興味あることには、経口又は腹腔投与の場合、時間とともに、分子量的にメタロチオネインに相当する画分の鉛の増加が認められた。

腎でも肝と同様な傾向が見られ、鉛の大部分は高分子物質と結合していた。(国立機関公害防止総合研究、内山班報告)(一学会発表 23, 24)

5. 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、島根県太田市の 鈷泉について ^{238}U , ^{234}U , ^{228}Ra , ^{226}Ra の分析を行った。その結果、鈷泉中のウラン、ラジウムはともに高く、 ^{238}U は最高 11.8 pCi/l 、 ^{234}U は 24.7 pCi/l を示した。また ^{228}Ra は最高 20.4 pCi/l 、 ^{226}Ra は最高 52.6 pCi/l を示し、従来調べられた温泉、鈷泉、井水の中で最も高い値を示した。

6. 環境試料中の人工放射性核種の分析に関する研究

i) 食物中の放射性ヨウ素 ^{129}I の分析法の確立は重要であると同時に、試料中の安定ヨウ素の分析は、汚染の推移を把握する上に重要である。しかし一般に食品などの安定ヨウ素含量は非常に低く、化学分析法を利用するのみではヨウ素の分析は不可能である。したがって、放射化分析法を応用すべく、その前処理としての安定ヨウ素分離の方法を検討した。

ii) 科学技術庁が主宰する放射能測定基準化委員会

に協力し、放射能測定のためのサンプリング方法について検討を行った。

生 薬 部

部 長 名 取 信 策

概要 昭和54年7月1日付で神田博史技官が広島大学医学部総合薬学科へ転出し、また佐竹元吉技官が昭和55年4月1日付で、筑波薬用植物栽培試験場育種生理研究室長に昇任した。

54年9月～10月、タイ国立がん研究所 Miss Saranya Vorajeravanichi が日本学術振興会-National Research Council, Thailand 科学協力協定による研修員として1箇月間、54年11月～55年5月、中華人民共和国天津薬物研究所黄喬書 (Huang Qiao-shu) 氏が WHO fellow として6箇月間来所し、ともに天然薬物の抽出・分離・同定などの研修をうけ帰国した。

業務成績

1. 一斉取締試験 従来と同様な目的で、輸入局方生薬4品目について、輸入時に収去した検体について局方適否試験を行った。検体は、「ゴオウ」83件、「シユクシヤ」10件、「ハマボウフウ」1件、「ボウフウ」21件で、全件局方適とされた。

2. 局方生薬の規格整備 来年度の日局第10改正に伴って、各条の生薬について規格値及び試験項目の再検討を行った。特に確認試験の充足にも力を入れた。

3. 特別審査 従来と同様、生薬を含む製剤(かぜ薬)84件について審査を行った。

4. 特別行政試験 中毒食品(蜂蜜)の試験について食品部に協力した。

研究業績

1. 生薬・生薬製剤の規格試験法の基礎研究
セリ科生薬の研究の一環としてゼンコ(前胡)について研究し、市場品の成分による比較、中国産前胡の成分の分離同定を行い(→学会発表 32)、また形態学的な比較も行い、市場品の基原植物について考察した。(→学会発表 35)

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・品質の評価、医薬資源植物調査等について引き続き研究した。

タイ国産薬用植物 'Sa-ba' (*Entada* 属, マメ科)の抗腫瘍性成分、中薬 '板藍根' (*Jsatis tinctoria* の根, アブラナ科)の各種成分についても研究を行った。またタイ生薬 'Plai' (*Zingiber cassumunar* の根茎, ショウガ科)の研究を完結し、8種の新しいフェノール成分の

構造を決定した。(→学会発表 31, 33)

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの研究 cytochalasin の一種 chaetoglobosins の代謝が明らかにされた *Chaetomium* 属についてマイコトキシンの検索を続行して sterigmatocystin の生産菌を明らかにし(→誌上発表 21)、新しいマイコトキシン chaetochromin, isocochliodinol などの構造を明らかにした(→学会発表 29, 34)。chaetoglobosins については、哺乳動物培養細胞, actin に対する作用などを更に研究中である。(→誌上発表 22); 衛生微生物部, 横浜市大医, 東京都臨床医研, Max-Planck Institut, Heidelberg 等と共同研究)

ii) 有害植物成分特に発がん性物質の研究 ワラビの成分について変異原性の試験による追究を経続する一方, Evans らの牛の血尿症の発症フラクションの追究を行った。(国立がんセンター, University College of North Wales と共同研究, 厚生省がん研究助成金による)

フラボノイドの発がん実験に協力するとともに、変異原性の構造活性相関を知るための誘導体の合成を継続した。(東大医科研等と共同研究, 厚生省がん研究助成金による)

香辛料 dill (蒔薺) の変異原性の本体が, isorhamnetin 及び quercetin の 3-sulfate であることを明らかにした。(東大医科研, 食薬安全センター秦野研と共同研究, 厚生省がん研究助成金による)(→誌上発表 20, 学会発表 30)

療 品 部

部 長 大 場 琢 磨

概要 人工臓器に関する研究は医学, 高分子化学, 電子工学の協力により急速な進歩を遂げており, 実用面でも人工腎臓, 人工膀胱, レーザーメス, 眼内レンズなど統々新製品あるいは改良が行われている。これに対応する行政をはじめ試験研究体制の強化は進まず, その役割の重要性を切実に痛感している。

また1978年 FDA が発表したエチレンオキサイドの残留規制案も, その後の動きはないが, われわれも来年度にはガイドラインを提示できるように研究を続けられている。

家庭用品の規制に関しては, 繊維製品, 塗料, 靴ずみ, 接着剤等に含まれる防菌防黴剤トリブチル錫化合物, 並びに洗浄剤に用いる水酸化ナトリウム及び水酸化カリウムの基準が昭和54年12月18日付官報で告示さ

れた。同時に洗浄剤用のプラスチック製容器の圧縮変形試験法の改正も行われた。

大型共通機器として長年使われてきた核磁気共鳴装置(日本電子 C-60HL)を新しい高性能の FX-200 に変えることになり、化学物質の構造解明に大いに役立つと考えられる。しかし電力料金等の値上りによる維持費の面での負担増について、今後対策を考える必要がある。

業務成績

1. 医療用具の基準作成

人工腎臓装置基準は一応完成したが、昨年8月日局の輸液用プラスチック容器試験法にポリ塩化ビニルの規格が追加されたため、これに対応して血液回路の規格試験法の手直しを行った。また医療用プラスチック協会と協同して作製中の、医療器具に使われるプラスチック原料規格の原案はほぼ完了した。

2. 家庭用品の試験検査

昨年に立案決定された試験品目3年計画に基づいて防炎剤、ゴム添加剤、染色助剤、防菌防黴剤、計12物質について分析試験法を検討することとなり、このうち昨年度は防炎剤と染色助剤について行った。

3. 輸出検査

腸線縫合糸の輸出検査については、行政管理庁と厚生省との折衝の結果、『今後関係業者の自家試験体制の強化を図り、その改善状況を確認することとし、56年4月輸出検査対象品目から削除したい。』となった。54年度の検査件数は36件、合計64782ダースで、不適合品はなかった。

4. 一斉取締試験

昭和54年度には歯科用金銀パラジウム合金の鋳造用及び非鋳造用61種の金の含有量について定量したところ、すべて合格であった。

5. 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

所内の質量スペクトル測定依頼は約100件であったが、少数の研究者に分析計の操作法のトレーニングをし GC-MS を含めて独自で測定できるような指導を行った。NMR スペクトルの測定依頼は前年度より少し減少した。コンピュータの利用に関しては、特定の曜日を特定の部に割り当てることによって円滑な運用を計ったが、利用日時の増加の希望は大きくなる一方で、その対応に苦慮している。

研究業績

1. ディスパーザブル医療用具に残留するエチレンオキサイド(EO)の安全性に関する研究

EOが生理食塩液中でエチレンクロロヒドリン及び

エチレングリコールに変化する量を経時的に定量するとともに、影響する因子として温度、pH、EO初期濃度について検討した。

EOを吸着した人工腎臓回路内に生食液を還流したときに液中に溶存する上記3物質の定量も行った。また手術用ゴム手袋のEO吸着、蒸散をも究明した。(厚生科学研究、薬理部、東京医科歯科大学と共同、薬務局へ報告)(一学会発表 36, 37)

2. 生体成分及び細胞成分の分離技術に関する総合研究

昭和54年度より科学技術庁の特調費で13の研究機関が参加して始められ、当部は衛生微生物部と協同して、『各種樹脂を用いた尿毒素成分としての尿素の吸着機構と微生物に対する吸着除去効果について』のテーマを分担し研究を行った。従来尿素の除去はよい方法がなかったが、イオン交換樹脂を用いて効率よく除去することができたので、今後この実用化に当たっての検討を行う。(科学技術庁特別研究調整費、衛生微生物部と共同、主任研究者東京女子医大へ報告)

3. 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

昨年に引続いてホローファイバー型ダイアライザーに放射線照射したものの6箇月後の経時変化を、材質劣化と透析能の変化について検討を行った。同時に透析膜の放射後の変化を走査型電子顕微鏡により観察した。(原子力研究費、衛生微生物部と共同)

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-ジブロモプロピル)ホスフェートのガスクロマトグラフィーによる分析法を検討し、カラム内での分解を最少限にとどめるためにマイクロバックドカラムを用いて至適条件を確立した。また他の類似防炎剤にも応用した。(一学会発表 41)

染料中のβ-ナフチルアミンの分析法に関し、これに特異的に反応するメシチレンスルホニル化を行って高速液体クロマトグラフィーによって分析する方法を考案した。(岐阜県衛研と共同)(一学会発表 40)

厚生省のモニター病院制度が発足し家庭用品による事故が集められるようになったが、現在、東京医大皮膚科と共同で衣類によるカブレ事故の原因究明を行っている。

また『家庭用化学製品による事故防止対策に関する研究』の研究班に参加し、子供の急性事故の防止対策について文献調査を行った。(厚生科学研究、主任研究者東京家政大学へ報告)

5. 機器分析におけるコンピュータ利用に関する研究

近年マイクロコンピュータの性能の向上は目ざましいものがあり、当室では NEC 製 TK-80BS 型マイコンに 12ビットの A/D, D/A の変換器をプリアンプを介して組立て、ガスクロマトグラフ、マスフラグメントグラフなどの検出器出力の S/N の改良研究を行った。

環境衛生化学部

部長 谷 村 顕 雄

概要 狩野静雄環境衛生第二室長が昭和55年4月1日付で退職し、同日付で木嶋敬二主任研究官が同室長に、また薬品部から齋藤恵美子主任研究官が配置換となった。

コロンボ計画による協力事業として、昭和54年7月5日から昭和55年6月9日まで、タイ国 Ministry of Public Health, Division of Toxicology, Dept. of Medical Sciences に所属の Pratuang Rodpingsangkaha 技官の受け入れを行い、主に化粧品分析法について研修を実施中である。

業務成績

1. 大気汚染の測定

前年に引き続き、東京都内3箇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。調査項目は次の8項目である。一酸化炭素、窒素酸化物、二酸化硫黄、オゾン、アルデヒド、浮遊粒子状物質、交通量、炭化水素。(環境庁大気保全局へ報告) [衛生試報, 97, 124 (1979)]

2. PCN 及び HCB の飲料水中における存在状況に関する調査

豊野浄水場ほか6浄水場の原水中の HCB, PCN の分析と茨城、福島、宮城県の試料につき、クロスチェックを実施した。(環境衛生局水道整備課へ報告)

3. 皇居外苑濠水調査

前年度に引き続き、11地点の濠水水質の調査を実施した。(薬務局、環境庁自然保護局へ報告)

4. 皇居内苑濠水調査

前年度に引き続き、10地点の水質につき季節別調査を実施した。(薬務局、宮内庁管理部へ報告)

5. 化粧品の製品規格について

前年度に引き続き剤型別使用目的別製品試験の項目選定のための研究及び化粧品の標準試験法に関する研究を行った。(厚生科学研究費、薬務局審査課へ報告)

研究業績

1. 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

前年に引き続き大規模建築物(オフィス、デパート、地下街、自然科学系実験室)及び一般家庭内における窒素酸化物汚染の実態を大気汚染状況、室内発生源及び空調設備等の関連において調査した。(→学会発表 43)

2. 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

GC-TEA による空気中の N-ニトロソジメチルアミンの迅速定量法を確立した。本法を用いて室内外における空気中の N-ニトロソジメチルアミンの実態を明らかにした。(→誌上発表 27)

3. 空気中に含まれるガス状及び粒状物質の微量分析法及び挙動に関する研究

ホルムアルデヒド自動計測の改良及び性能評価試験を行った。更に、本計測器を用いて室内外のホルムアルデヒド濃度の実態を明らかにした。(→誌上発表 26, 学会発表 42)

4. 化粧品に含まれるホルモン類の分析法に関する研究

薬事法で配合が許可されているホルモン類の一斉分析法を検討した結果、高速液体クロマトグラフィーにより良好な結果を得た。本法を用いて、配伍許可ホルモン含有のモデル化粧品についてホルモン剤の熱、光、pH の変化の影響を検討した。(→学会発表 44)

5. 化粧品用タール色素中の有機性不純物に関する研究

色素中に ppb レベルで混在する可能性のある β -naphthylamine(β -NH₂) の定量法を開発した。高速液体クロマトグラフィーにより色素中 5 ppb 以上の β -NH₂ が定量可能である。(→誌上発表 28)

6. 化粧品中の N-ニトロソジエタノールアミンに関する研究

前年度に引き続き、化粧品中の N-ニトロソ化合物について研究を行った。定量法については GC-TEA, HPLC-TEA, HPLC-UV 法について比較検討を行った。ついで前年度に続き市販化粧品の実態調査を行った。また、N-ニトロソジエタノールアミン生成系におけるホルムアルデヒドの効果及び生成防止策などの検討を行った。(薬務局安全課へ報告)

7. 水道水質基準及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

水道水質基準の改定又は追加等の基礎資料をうるため、水道水質基準に係る水質試験法に関する研究を行った。(水道環境部へ報告)

ii) 水道水質基準の設定並びに水質分析法の作成

前年度に開発したヘッドスペース-GC 法による飲料水中のトリハロメタン (THM) 分析法を検討し、標準化のための原案を作成した。(水道環境部へ報告)

iii) 温泉の衛生化学的研究

温泉浴場水の維持管理指針と飲用泉の有害成分の許容量の設定について検討を行った。(環境庁自然保護局へ報告)

iv) 公共用水域における有機塩素化合物の発生メカニズムとその除去に関する研究

THM 生成機構の解明のため、フミンに次亜塩素酸を作用させた場合の分解プロセスと中間塩素化合物について明らかにした。(水道環境部、土木学会丹保班へ報告) (→学会発表48)

v) 低沸点有機塩素化合物の生体影響

THM 類をマイクロカプセルに封入し、安定したサンプルを調製するための開発研究を行った。また THM 類をラットに投与し、その生体内運命と肝臓物代謝酵素誘導による呼吸排泄量について検討した。(環境庁公害防止総合プロジェクト研究、大森班報告) (→学会発表 49)

8. 水道用品等規格の設定

水ガラス、アニオン系ポリアクリルアミド、タールエポキシ樹脂塗料、エナメル系樹脂塗料などの成分分析とエポキシ樹脂塗料の溶出試験の継続研究を行った。(水道環境部報告)

9. 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

THM 並びにフミン塩素化中間生成物の分離同定と、これら化合物の染色体異常並びに細胞毒性について検討した。(厚生省がん研究助成金、谷村班へ報告) (→誌上発表 33, 34)

ii) 陸水の浄化に関する研究

皇居内苑、外苑濠水質の経年変化と富栄養化現象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)

10. 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

カドミウムの連続経口投与により生ずるカルシウム代謝異常の発生機構解明のため、活性型ビタミン D₃ による腸管吸収機構に及ぼす Cd の影響について検討した。(→学会発表 48)

ii) クロム化合物の生体内運命

3価及び6価クロム化合物の経口、静注時の血液、特に血漿及び赤血球内液中のクロムの存在状態に関する研究を行った。(→誌上発表 36, 38)

iii) 環境汚染物質の動植物体内における化学形態

ニッケルの動物体内における存在状態に関する基礎的研究として、投与方法の違いによるニッケルの吸収・分布・排泄について、比較研究を行った。(環境庁公害防止総合プロジェクト研究、内山班報告) (→誌上発表 31)

食 品 部

部 長 内 山 充

概要 食品中の各種有害物質と食品成分の変質に関する試験検査及び研究業務を引き続き行いつつあるが、農業残留調査の対象は輸入品にしばられ、かび毒の実態の見直しの気運が高まり、更に食品中の異物に対する関心が強まった。研究面では、食品と生態系内の一因子としてとらえる考え方、及び生体応答力に対する食品成分や食品汚染物の影響を念頭においた研究を新しく導入した。また ESR、化学発光、電気化学的測定など新手法の応用開発にも努力した。

昭和54年12月31日付で、天野立爾食品第三室長が22年余に及ぶ実績を残して国民生活センターに転出し、斎藤行生主任研究官が同日付で後任室長に発令された。武田明治食品第一室長は科学技術関係中期在外研究員として、昭和54年11月より約3箇月間、食品中の汚染物の調査及び分析研究のため吹米の9箇国に出張した。

業務成績

1. 特別行政試験 食品残留農薬実態調査は、外国産レモン、緑茶、ピーナツの計 63 検体につき、各 18 種の農薬計 1134 件の調査を行った。また、果実かんづめ 24 検体につき、スズ、ヒ素、鉛の含有実態を調査した。

2. 輸入食品検査 化学試験としては、米国産チェリーの臭化メチルと残留農薬、レモンの 2,4-D、洋酒類のフタル酸エステルと鉛、ワイン中のソルビン酸など 16 検体、136 件の検査を行い、ワイン 2 件が不可と判定された。またリキュール 3 件(合成着色料)、第一リン酸カルシウム(溶状) 1 件は食品添加物部で検査されたがいずれも不可であった。

異物試験は、乾燥破砕えび頭、白酒、酒粕、乾燥あわび、乾燥なまこなど計 21 検体を検査し、不可 10、要注意 11 という結果を得た。

港の食品衛生監視官の研修は例年通り 3 名について各 2 箇月間ずつ行った。

3. 規格・基準試験 ソース類と果実かんづめにつき、脂質変敗の化学指標及び重金属の試験を行った。

また香辛料中の異物及びアフラトキシンについて検査した。

研究業績

1. 農薬の残留とその変動に関する研究

i) 食品中の 2,4-D の分析法, 臭素の定量法〔衛生試報, 98, 97 (1980)〕につき検討した。

ii) 小麦中の有機リン剤につき製粉, 調製, 調理加工による変動を検討 (→誌上発表 45), 更に実験動物用飼料中のチウラムの分析法を再検討し加熱, 成型の影響を推論した。

2. 食品中の人工汚染物の化学毒性学

i) 新特定化学物質 HCB, PCN の食品中の分析法を確立し, 更に GC/MS による確認を行った。(環境庁特調費, 環境衛生局へ報告)〔衛生試報, 98, 138 (1980)〕

ii) 食品中の石油成分パラフィン類の分離分析法を確立し (→誌上発表 42, 43), 石油汚染の化学指標としてのイソパラフィンの有用性を明らかにした (→学会発表 50)。含窒素石油成分アクリジンの還元代謝を証明し, 興味ある応用の途を開いた。(→学会発表 51)

iii) リン酸トリエステルを始め諸種の汚染物の水棲生態系における性質と動態に関する研究を, ヒメダカ, ワキンをを用いて開始し, 構造に相関した特徴ある実験結果を得た。(国立機関公害防止総合研究)

3. 食品中の天然汚染物に関する研究

i) かび毒と健康障害との関連を研究する上の基本手段として多種のかび毒の系統的分析法を確立した (→誌上発表 52)。オクラトキシン A 及びステリグマトシステンにつき酵素免疫化学定量法を検討した。(文部省試験研究)

ii) 発がん実験用標品としてオクラトキシン A を製造供給した。(厚生省がん研究)〔食衛誌, 21, 171 (1980)〕

iii) ステリグマトシステン, アフラトキシンの生物試料よりの分析法を確立し, 動物体内の分布, 消長を追究し, メダカを用いて発がん過程とかび毒の動態との関連を検討した。(厚生省がん研究) (→学会発表 56, 57, 58)

iv) 味噌のダニの問題から発して食品中の異物検査があらためて注目を集め, 標準検査法の設定や指導を行った。(環境衛生局へ報告)

v) 食品中に見つけられた昆虫の, 食品中への侵入時期の判定に昆虫の酵素活性測定を利用する法, ダニの走光性などを検討した。

4. 食品中の有害物に対する生体応答

i) 低毒性有機リン剤の毒性が肝細胞上清で速やかに解毒され, それが転移酵素による脱メチルであり, 更にある種の重金属がこの解毒を阻害することが見出された。(国立機関公害防止総合研究)

ii) 腸管壁における毒化・無毒化反応 (MFO) が食品成分や他の化合物で著しい変動をうけ, 汚染物の吸収量や形に大きく影響するので, 上記反応の測定条件などを検討した。

iii) PFC 法による免疫賦活化測定を指標として食品成分の効用を検討した。

5. 食品・環境汚染物の調査, 監視, 検知システムの確立とその応用

i) 全国の食品汚染物モニタリングデータは昭和54年度末で約46万件となった。統計情報部の電算機とオンラインで接続された端末機が54年10月に設置され, データの取出しが容易となった。WHO へ特定項目について数値を送付した。

日常食中の汚染物摂取量調査 (total diet study) は全国 10 機関の協力の下に行われた。(厚生科学研究, 環境衛生局へ報告 (→誌上発表 40))

6. 動植物体内の重金属の化学形態

各種食品中での重金属の化学形態の解明, 投与された重金属の化学形と分布, 異なる化学形の金属の示す生理活性の差異などにつき, 放射線化学, 環境衛生化学の両部を始め全国15研究機関の協力を得て研究を行った。(国立機関公害防止総合研究) (→誌上発表 41, 53)

7. 食品成分とその変質物に関する研究

i) γ 線照射による食品中の 5'-イノシン酸の変化を研究し (→誌上発表 47), 更に照射や加熱によるたん白質からのフリーラジカルの生成につき検討し, 食品衛生学的評価を行った。(→誌上発表 48, 学会発表 51)

ii) けい光デンストメトリーにおける増けい光の理論的考察と実験的検索を行い, Triton X を用いる優秀な増けい光法を開発した。(特別研究) (→学会発表 53) [J. Lig. Chromatog. 3, 681(1980)]

iii) 化学発光を食品分析分野に応用するため微発光測定上の問題点の検討と改良を行った。(特別研究)

iv) 組織中の過酸化脂質の化学的測定法をまとめ, (→誌上発表 50), TBA 法の測定条件を改良し, 反応時の諸条件を検討した (→学会発表 55)。上記改良法で得られる TBA 値が組織の老化や四塩化炭素中毒の進行によく合致することが示された。[Biochem. Med. 23, 302(1980)]

v) TBA 値の増加は組織脂質量の増加と, 別の反

応促進因子の共存によって起こることを見出し(→誌上発表 49, 学会発表 54), それを HCB の毒性解析に応用した。(文部省特別研究)

8. 食品規格に関する検査法改良と調査研究

i) マーガリンなど高油脂食品の酸価, 過酸化価価〔衛生試験, 98, 135(1980)〕, 粉乳中のビスマス, 鉛(→誌上発表 44)及びカドミウムと銅〔衛生試験, 98, 102(1980)〕の分析法につき検討した。

ii) ビール中の PVP の分析法を確立し(→誌上発表 46), 洋酒から検出されたフタル酸エステル BPBG の起源がふたの Packaging であることを推論した。〔衛生試験, 98, 134(1980)〕

iii) 食品中の安息香酸の存在量, シアン化合物の性質と分析法, 大豆サポニンの分離法などを調査研究し(厚生科学研究), 規格基準と食品の安全性につき論じた。(→誌上発表 39)

9. 食中毒に関する研究

鯉による麻痺性中毒の化学的究明(→誌上発表 51)及び秋田, 福島に起こった蜂蜜による中毒の原因物質の解明〔衛生試験, 98, 32(1980)〕を行い, 後者においていくつかの新知見を得た。

食品添加物部

部長 谷村 顕雄

概要 タイ地域保健活動向上計画に基づき, 食品衛生エキスパートとして, 昭和53年8月よりタイ国に出張していた石綿章技官は, 1箇年の任期を終え, 昭和54年8月帰国した。

業務成績

1. 製品検査(昭和54年1月~12月)

食用色素: 検査件数 367, 合格 367, 不合格 0.

2. 洗浄剤の残留試験

アルキル硫酸ナトリウム(AS)の食品衛生法に基づく使用基準の条件で, 食器への残留量を測定した。いずれも 0.1 ppm 以下であった(食品化学課へ報告)。カリ石けん, ショ糖エステル, ポリオキシエチレン系脂肪酸エステル 2種の計4品目については継続中である。

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5集として, 5品目の分析法を完成した。昭和54年度は, ヘキサン, プロピレングリコール, ピペロニルブトキサイド, 水溶性アナトー, グリチルリチン酸ナトリウム塩の5品目の分析法を新たに設定した。更に別に54年度から「食品添

加物分析法指針」の作成が企画され(厚生科学研究費), 上記5品目のほか, チアベンダゾール, 没食子酸プロピル, 銅クロロフィル, 銅クロロフィリンナトリウム, サッカリンナトリウムの7品目についての上記指針原案を作成した。(食品化学課)

4. 標準分析法のクロスチェック

「食品中の添加物分析法検討委員会」(厚生省食品化学課主管)において, 54年度分として清涼飲料水中のタール色素, サッカリンナトリウム, パラオキシ安息香酸ブチル, 安息香酸ナトリウムの4品目, スポンジケーキ中のタール色素, プロピオン酸塩の2品目についてクロスチェックを行い, 分析法の精度が確認できた。(地方4衛研と共同)(食品化学課)

5. 天然着色料の成分規格設定

天然添加物については, 成分規格は定められておらず, 現在, 日本食品添加物団体連合会の自主規格があるに過ぎない。昭和50年に行政管理庁の行った調査から成分規格設定の必要性を指摘されていた。昭和54年度, 着色料については, アナトー抽出色素など数品目についての試験法, 規格の作成を行った。(食品化学課)

6. 畜産食品に含まれる合成抗菌剤の残留分析法の作成

飼料添加物, 動物用医薬品として使用される合成抗菌剤につき, 畜肉からの分析法に関する検討を行い, それらのうち, チアンフェニコールについて, アセチル化, FPD-GLC 法にする検査法を確立した。(乳肉衛生課)

7. 容器包装等の規格作製のための基礎的調査

塩化ビニリデン樹脂やポリエチレンテレフタレートなどの規格作成のための溶出試験と材質試験を行い, 前者では使用実態と可塑剤の溶出を, 後者では残存金属触媒の検索とその溶出について検討した。(食品化学課)

またアクリロニトリル(AN)を原料とする樹脂(PAS, ABS)からのANの溶出について検討し, 長期包装材料としてはAN含量を少なくすれば使用できるという結果が得られた。(食品化学課)

ゴム製哺乳用乳首については, BHT 使用の必要性についての実験を行い, BHT の現在の添加量ならば, 乳への移行も少なく, ゴムの老化をなくす点からみて必要であるという結果が得られた。(厚生科学研究費)

8. 市販食品に含まれる食品添加物の実態調査

かまぼこ, なんと, はんぺん, ゆでめんなどについて過酸化水素の含有量の実態調査を行った。また, 各種のパンに含まれる臭素酸カリウムの実態調査を行う

とともに、臭素酸カリウムの添加量と残存量との関連性について調査を行った。(食品化学課)

研究業績

1. 医薬品のニトロソ化に関する研究

スルピリンのニトロソ化について検討を行い、スルピリンを経口摂取した場合、消化管内でスルピリンがニトロソ化され、生成する可能性のある化合物として、昨年度単離した2種類のN-ニトロソ化合物に加えて、新たに、1種類のN-ニトロソ化合物を単離し、その構造を決定した。(→学会発表 59) [Chem. Pharm. Bull., 28, 1820 (1980)] 更にそれら3種類のN-ニトロソ化合物について突然変異原性を試験した。(厚生省がん研究助成金)(→学会発表 60)

2. 不揮発性ニトロソ化合物の生成に関する研究

植物性食品に多量に含まれるピログルタミン酸の亜硝酸によるニトロソ化について検討した。ニトロソピログルタミン酸の生成は、ヒダントイン酸やメチル尿素からのニトロソ化合物生成に比べてかなり遅かった。また、この生成物は水溶液中では不安定であったが、分解生成物については検討中である。(→学会発表 61)(厚生省がん研究助成金)

3. アルコール飲料中の揮発性ニトロソアミンについて

国産ビール12種類及び国産ウィスキー10種類について、揮発性ニトロソアミンの定量を行った。その結果ビールからは0.2~1.4 ng/ml、ウィスキーからは0.5~3.2 ng/mlのニトロソジメチルアミンを検出した。このほか6種類の揮発性ニトロソアミンについても検討したが、いずれも検出されなかった。(厚生科学研究所、食品衛生課)

4. 食品中の過酸化水素の定量法の検討

従来行われていたヨード滴定法の改良を行った。食品に硫酸亜鉛と水酸化ナトリウム溶液を加えた後遠心分離するという前処理を行うことにより、過酸化水素の定量限界を1 ppmまで下げることができた。

5. 亜硫酸塩の微量定量法に関する研究

亜硫酸塩の分析法について食品化学技術講習会を実施し、(→誌上発表 54) ついでランキン法によるパラオザニリン比色法を検討し、従来用いられてきたアルカリ吸収液の代わりにトリエタノールアミンを吸収液とする改良法を設定した。この方法は試料中の二酸化硫黄レベル10 µgで100%の回収率が得られ、検出限界は0.5 ppmであった。公定法として現在追試を依頼中である。

6. 着色料に関する研究

食品緑色3号から単離、精製した付随色素 G3-C 並

びに G3-E につき、IR, NMR スペクトルの測定を行い、構造の解明を行った。

天然着色料については、市販品の組成並びに混入不純物の実態を調査するとともに、食品中からの分析法の検討を行った。(→誌上発表 55)

衛生微生物部

部長 倉田 浩

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1706件(細菌、真菌試験それぞれ853検体)の無菌試験を行ったが不合格を認めなかった。また避妊薬は31件の殺精試験を行い不合格を認めなかった。

2. 輸出検査

腸線縫糸糸計80件(細菌、真菌試験それぞれ40検体)の無菌試験を行ったが、いずれの試験も不合格を認めなかった。

3. 輸入食品検査

冷凍家禽肉、冷凍魚介類、食肉製品等251検体及び輸入食肉等から分離されたサルモネラ菌株70株の計321検体について検査した。そのうち食肉で不適となったものは30検体(12%)、菌株のうち61株(87%)はサルモネラと同定された。

かつお節4件、鶏卵パウダー4件について真菌検査を行い、鶏卵パウダー2件が真菌汚染のため不適となった。

4. 一斉取締試験

内用液剤及びX線造影剤など計1048件(細菌、真菌試験それぞれ524検体)について厚生省業務局の内用液剤及びX線造影剤の菌数限度基準に係る試験を行った結果、細菌試験では、8/524(約1.5%)、真菌試験では2/524(約0.4%)に不適品を認めた。

研究業績

1. 放射線照射による医薬品、化粧品微生物汚染防止に関する研究

非無菌製剤の微生物汚染対策についてはGMPによって品質管理されているが、滅菌法を使用する際の基礎研究はあまり確立されていない。そこで放射線利用による滅菌の第1年度として漢方生薬原料に対する放射線滅菌法の研究が始められた。その結果かなりの低線量照射で汚染菌の滅菌が認められたが、現在はこれを品目別に研究を進めている。

2. 医薬品、化粧品の防腐殺菌剤に関する研究

防腐殺菌剤加製品及び明らかに微生物を使用目的の対象にした製剤にあっては、それらの効果確認が必要であるにもかかわらず、実際にはその評価もされていない製品もある。そこでこれら薬剤を微生物学的に立証すべく研究を行っている。(→学会発表 66)

3. 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

医療用具の滅菌は、その素材と用具の形態などとの関係でその滅菌は容易でなく、材質劣化などを配慮すると、滅菌条件の設定及び無菌試験法については多くの基礎実験が必要となる。本年はポリアクリニトリル及びポリメチルメタクリレートを素材とした透析器について研究を行っている。

4. 人工臓器の滅菌及び無菌試験法に関する研究

生物学的指標菌を用い、一定の滅菌条件下(高圧蒸気法)における生菌数の推移と滅菌条件との関係などについて研究を行っている。

5. 大腸菌変異株の性質とその応用に関する研究

ストレプトマイシン依存株とトリプトファン要求株の温度感受性について研究し、その成果として赤血球によるニトロソグアニジンの不活化を報告し、現在も継続研究中である。

6. 酵母菌の衛生微生物としての位置づけとその関連研究

医学領域面では人体各器官から酵母菌を分離し、その同定に関する研究を行っている。またトリコスポラム菌に対してはトリコスポロン症再発前後の分離菌について生化学的な面から研究している。更に市販冷蔵惣菜類や鮮魚介類の酵母汚染についても調査する一方、それらの同定を行っている。(→誌上発表 62, 63, 学会発表 67, 68)

7. 医薬品などに対する微生物学的究明課題と見直しについて

日本薬局方第10改正では無菌試験法にメンブランフィルター法の採用が具体化したが、それに対する基礎及び応用研究はもちろんのほか、各製剤で微生物に因する製剤、品目に対しては微生物学的意義づけと研究が必要な課題となる。

8. 食品の衛生微生物学的研究

i) BHA の酸化防止に対する有効性の再点検

本年度は特に塩辛の保存性等に対する BHA の酸化防止効果及び微生物叢に対する影響について再検討した。その結果、現在の塩辛は昔のものとは異なり比較的低塩性のものを中心に、消費サイクルも短かく酸化防止剤が使われているものはない。また微生物叢に対する影響も認められなかった。

ii) 液卵、凍結卵等の細菌学的規格基準設定に関する基礎的研究-特に食中毒菌(サルモネラ及び黄色ブドウ球菌)汚染について-

卵と生態学的に最も関係の深いサルモネラと、卵製品で食中毒が発生する場合、最も病因物質として多く関係するブドウ球菌の液卵中の汚染について検討したところ、殻付卵が塩素消毒されずに使われたり、汚れ卵、ひび割卵等が原料に使われる場合は両者ともその汚染率は想像以上に高い。(→誌上発表 64, 65, 学会発表 69)

iii) *Bacillus cereus* 等の生態学的研究

加工食品中の *B. cereus* の分布について本年は輸入肉エキスについて検討したところ、*B. cereus* と同時に *clostridium perfringens* が高率に検出された。これらの菌種の起病性の検討及び将来当該食品等の規格基準設定に当たっては、この点にじゅうぶん配慮する必要がある。

iv) サルモネラに関する研究

輸入食肉から分離したサルモネラ 242 株(昭和51~53年分離株)の抗生物質感受性について引き続き検討した。27菌型に型別されたが、いずれかの抗生物質に耐性を有するものは 24 株(9.9%)であった。

v) 腸管内微生物の代謝に関する研究

昨年度に続き硝酸ナトリウム投与サルモネラの胃内の硝酸、亜硝酸イオンの消長と微生物叢との相関について検討した。その結果、胃内容物の pH と NO₂⁻ 生成量との間に相関が認められた(→誌上発表 66)。なおサルモネラの胃内の NDMA 生成には、胃内微生物中の硝酸塩還元菌並びに NDMA 生成菌種が関与していることを明らかにした。(→学会発表 70, 71, 72)

一方動物腸管内に生息する CHSNa→CHA 変換菌を検索した結果、3種類の菌が変換に関与していることを認めた。(→誌上発表 67)

vi) 食品中の有害真菌に関する研究

厚生省がん特別研究及び厚生科学研究として昨年度に引き続き、ステリグマトシステン生産性のケトミウム属、トリコテセン系マイコトキシン生産性のフザリウム属菌における species と毒素生産性の関連、毒素生産菌の地理的分布などを対象とした研究が行われた。(→誌上発表 21, 72, 76, 学会発表 34, 73, 81) また、植物病原菌としてムギ類から分離された *Drechslera-Helminthosporium* 菌株のステリグマトシステン生産性について鶏胚及びマウスによる生物検定を行った結果、毒性を示す株が発見された。

vii) 新形態食品(加工香辛料)実態調査

厚生省環境衛生局の行政研究として実施し、輸入香

香料90件中特にコショウ類の試料を中心にアフラトキシン生産性に関連のある *Aspergillus flavus* の高汚染を見出した。また、加工香辛料製造工場に対しては東京、神奈川、埼玉、栃木各都県の協力の下に、製造所の空中落下菌、完成品及びその原料、中間製品の真菌数についての実態を把握した。輸入香辛料から分離された真菌の同定も行われた。(→誌上発表 70, 学会発表 74)

viii) 一般食品の真菌汚染

日常食品における真菌汚染源について環境からの一次汚染が重大であることを報告し(→誌上発表 68)、市場流通中の果実及び果実製品中におけるカビ毒パトリンの検出について検討を行った。(→学会発表 80)

9. 真菌の分類と同定に関する研究

小児喘息病の原因を明らかにするため、患者家庭の屋内塵に対する真菌検索を試みた(→誌上発表 75)。各種臨床例由来のフザリウム属菌を菌学的に研究し、また角膜に対する同属菌の病原性をチェックした(→学会発表 78, 79)。更に家畜被毛上の真菌について調査し疾病に対する潜在性を検討した。(→学会発表 76) 日本産子う菌類の分離研究及び農作物における真菌の病害に関連して、子う菌類、不完全菌類等の同定を行った。(→誌上発表 69, 71, 73, 74, 学会発表 76) *Mycrothecium* sp. の二次代謝産物として rhizonic acid を単離報告した。(→学会発表 77)

医 化 学 部

部 長 山 羽 力

業務成績

1. 特別審査試験

解熱鎮痛剤中のビタミンの規格・試験法に関する審査を12件行った。

2. 一斉取締試験

ドリンク剤中のビタミン B₁, B₂ 及び C の規格・定量試験法を作製し、その試験は都道府県衛生研究所において実施した。

研究業績

1. 食品添加物の代謝に関する研究(環境衛生局行政研究)

前年に引き続き食品添加物の安全性評価に対する基礎データを得るため、酸化防止剤、保存料、甘味料、漂白剤の代謝並びに生化学的研究を行った。

i) BHA の代謝

³H でラベルした BHA をラットに経口投与し、肝、

腎、脾、血漿、尿中の BHA、BHA-グルクロニド、BHA-サルフェートの分離定量を紙電泳泳動で行った。(→学会発表 82)

ii) メタ重亜硫酸カリウムの代謝

ラットの肝分離生細胞を調製し、細胞レベルでの毒性、酸化能、各種脱水素酵素に及ぼす影響などについて調べた。(→誌上発表 77)

iii) 没食子酸プロピルの代謝

没食子酸プロピルをラットに経口投与し、イアトロンを用いて尿中代謝物の分離定量を行った。また肝分離生細胞並びに腸内細菌による代謝についても検討した。(環境衛生局へ報告)(→学会発表 83)

iv) グリチルリチンの代謝

グリチルリチン及びグリチルレチン酸の HPLC による分析条件を検討した。またグリチルレチン酸をラットに経口投与し、胆汁中の代謝物を検索中である。

v) オルトフェニルフェノール (OPP) の代謝

¹⁴C でラベルした OPP の合成法について種々検討した。

2. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究(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、防炎加工剤、染色助剤、ゴム加硫促進剤の代謝並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

フタル酸ジヘプチル (DHP) の主成分である diisooheptyl phthalate をラットに経口投与し、尿及び胆汁中の minor metabolites の同定を行った。

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のラット肝、小腸、脾エステラーゼによる加水分解の比較を行った。(→学会発表 84)

iii) リン酸エステル系可塑剤の代謝

リン酸トリクレジル (TCP) の尿、胆汁、糞中の代謝物について検討し、そのうちいくつかのものを同定した。

iv) 染色助剤の代謝

¹⁴C 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、分布、排泄を検討した。本年度は尿中代謝物の同定と回収率の再検討を中心に行った。また腸内細菌による脱クロル化についても検討した。(環境衛生局へ報告)(→学会発表 85, 86)

v) 防炎加工剤の代謝

① トリス(2,3-ジブロモプロピル)リン酸(TRIS-BP)の代謝(環境衛生局へ報告)(→学会発表 87)

② ビス(2,3-ジブロモプロピル)リン酸(BIS-BP)の代謝

^{14}C でラベルした TRIS-BP 及び BIS-BP を合成し、ラットに経口投与後、その吸収、分布、排泄について調べた。またその酵素的加水分解について検討を加えた。(環境衛生局へ報告)

vi) ゴム加硫促進剤の代謝

^{14}C でラベルした N-cyclohexyl-2-benzthiazyl-sulfenamide を合成し、ラットに経口投与後、その吸収、分布、排泄について調べた。

3. N-ニトロソ尿素誘導体の生化学的研究

i) 1,1'-ethylenebis(1-nitrosoourea)(EBNU)の生化学的研究

尿素炭素及びエチレン炭素を ^{14}C でラベルした EBNU のポリリジンへの結合性を詳細に検討し、そのカルバモイル化の機構を明らかにした。また DNA との結合様式についても調べた。(文部省がん研究)(→誌上発表 78, 学会発表 88, 89)

ii) 1-propyl-1-nitrosoourea の代謝研究

1-propyl-1-nitrosoourea(PNU)のプロピル炭素及び尿素炭素を ^{14}C でラベルした各 PNU を妊娠19日目のラットに経口投与し、全身オートラジオグラフィによる臓器分布を調べた。また非妊娠ラットについては、呼気中成分を追跡した。(文部省がん研究)(→学会発表 90, 91)

4. 放射性腎診断薬に関する研究

腎診断薬としてラセミ型ジメチルコハク酸- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ を合成し、基礎的研究を行った後、臨床に320例について検討し、有用な診断薬であることを示した。(→誌上発表 79, 学会発表 92)

5. その他

i) 細管式等速電気泳動(インタコホレシス)による代謝物の分析

インタコホレシスの生化学的分析への応用を意図し、各種抱合体の分離分析及び可塑剤、防炎加工剤などのエステル結合の加水分解過程の追跡について検討した。(特別研究)

ii) 分離生細胞による代謝研究

動物を使った *in vivo* の代謝実験と酵素レベルでの *in vitro* 実験の中間に当たる、正常組織の分離生細胞系での代謝試験法を確立する。本年度は分離肝生細胞の調製法と培養条件等を検討した。(特別研究)

iii) 食品添加物等の代謝活性化による生体高分子との結合性

代謝活性化によって生じた活性中間体の生体成分への結合性を指標に、その毒性との相関を明らかにし、代謝研究の結果と比較する。ジフェニル、OPP、TRIS-BP などについて検討中。(原子力研究)

iv) 肝ミクロソームによる脂環族一級アミンの酸化的脱アミノ機構

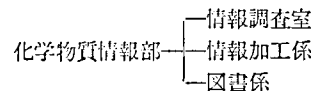
これまで行ってきたサイクラミン酸の代謝においてみられる、肝ミクロソームによるシクロヘキシルアミンの酸化的脱アミノ反応を一般化する目的で、種々の脂環族一級アミンについてその脱アミノ機構を比較検討した。(→学会発表 93)

化学物質情報部

部長 竹中祐典
前館長 石居昭夫

化学物質情報部は、従来の附属図書館を振替として昭和55年4月5日に新設された。これは、国連環境計画(UNEP)が実施している国際有害化学物質登録制度(IRPTC)のナショナルコレスポンデントとしての業務の受諾(昭和54年2月から開始)、並びに世界保健機関(WHO)を中心にして進められてきた国際化学物質安全性計画(IPCS)のリード機関としての役割の分担(昭和55年4月1日から開始)など、化学物質の安全性にかかわる情報の交換と評価について当所の参加が国際的に強く要請されてきたことに対応して取られた措置である。

この新設に伴い附属図書館は廃止され次のような組織となった。



なお、昭和55年5月1日付で石居昭夫部長は退官され、竹中祐典情報調査室長がその後を引き継いだ。

昭和54年度科学技術関係中期在外研究員として、竹中調査室長は昭和54年5月27日から1箇月間、米国及びカナダの毒性情報システムに関連のある政府機関及び大学メディカルセンター(中毒情報センターを含む)を訪問した。

昭和54年4月1日付で薬品部の橋場茂子主任研究官は附属図書館併任となり調査室に配属され、化学物質情報部の新設に伴い情報調査室の業務を分担している。

ここでは、旧附属図書館及び調査室についての業務を報告する。

昭和54年度の附属図書館図書購入状況は次のようになってい。 ()内は53年度分を示す。

外国図書	2172千円	(1740千円)
外国雑誌	10391	(10220)
国内図書	619	(700)
国内雑誌	738	(780)
(製本費)	—	(480)
合計	13920	(13920)

すなわち、別途に補充を仰いだ製本費を除く図書購入費は前年度と同額で、前年度に引続き一般図書、特に今回は外国図書の充実に約200万円を当てた。

図書委員会は委員長、世話人、副世話人以下16人の委員で構成され4回開かれたが、その主な検討事項は(1)図書購入費の決定に伴うワーキンググループによる購入図書の選定、(2)衛生試験所報告97号の編集について、であった。前者では210万円分の購入図書の決定、後者では編集上の細部についての検討が行われた。

昭和54年度の図書館への外来閲覧者数は延232名、外部からの文献依頼は59箇所、461件で、依頼件数は前年度の2倍を超えている。

日本薬学図書館協議会関東地区例会(昭和54年7月5日、学生会館本郷分室)には館員1名が参加した。

日本科学技術情報センターのオンライン情報検索サービス(JOIS)の利用件数は226件で、前年度の2倍を超え、利用度の高い順にデータベースを示すとCAC(109件)、TOXLINE(54件)、MEDLARS(30件)、JICSTファイル(27件)、SSIE(5件)、CLEARING(1件)となる。なお、SSIEは米国の研究案内ファイルで昭和54年7月24日から利用できるようになった。

次に、昭和54年度の調査室の主な活動は次のとおりである。

1. 調査月報の発行

12巻4・5号(通巻103号)から13巻1・2・3号(通巻108号)までの6号を発行し、所内及び関連諸機関に配布した。主な内容としては、“Toxicology Data Bank (TDB)”, “Laboratory Animal Data Bank (LADB)”, “National Toxicology Program (NTP)”, “IRPTCの化学物質データ登録のためのアトリビュート” “英国薬局方委員会1978年年次報告から” などがあ。

2. 所内及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。硫化水銀の毒性、ペンタクロロフェノールの血液毒性、臭化メチルの血液、尿中の分析法、合成洗剤中のリン酸塩の分析法、パラジクロロベンゼンの毒性、などがある。

3. 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の第2年目を分担した。

4. 厚生科学研究“日本における中毒情報センターのあり方に関する研究”を分担した。

(5) 国連環境計画(UNEP)の国際有害化学物質登録制度(IRPTC)の窓口(ナショナルコレスポンデント)としてIRPTC本部からの依頼に応じて関連諸部署の協力のもとに調査活動を行った。主な調査事項としては、22種の化学物質のわが国における規制状況、 α -リモノンの発がん性又は変異原性データの調査、環境情報の国内データバンクの調査、エポキシ樹脂廃棄物の処置と処分に関する情報、硫化水素の環境基準(大気)、水銀と水銀化合物の規制情報などである。

一方、IRPTCの活動を中心にして国際的な化学物質の安全性評価計画を国内の関連諸機関に知らせるために「IRPTC(国際有害化学物質登録制度)の概要」を発行し、所内及び関連諸機関に配布するとともに、昭和55年2月29日に関連行政部門並びに諸機関の関係者を招き、IRPTCに関連する情報ネットワークについて討議を行った。

安全性生物試験研究センター

センター長 大森 義 仁

本センターは発足以来2年あまりにわたり、所内外の暖かいご援助のもとに順調に業務を遂行していたが、昭和55年2月7日病理部長小田嶋成和博士の急逝による大きな打撃を受けた。

故小田嶋成和博士は昭和45年9月、当所における試験研究業務の増大の時期に薬品病理部長として佐々木研究所より移られ、その後化学物質のがん原性に関する幅広い業績を残され、その間WHOのIARC専門委員として国際的業務も担当されるとともに、厚生省の業務局、環境衛生局の各種審議会委員として活躍された。昭和53年1月当センター設立に伴いその病理部長に就任され、厚生省並びに文部省がん特別研究の多くの課題を担当され、その間日本癌学会理事としても多くの足跡を残された。この間、医薬品、食品添加物、農薬並びに医療用具などの安全性に関する試験を担当されるとともに、実験動物を用いる発癌試験法の開発、癌原生物質と標的臓器の相関、化学物質の癌原性の閾値、器官培養法による発癌並びに可植性癌細胞の病理などの研究の推進に従事された。今年当初より、食品添加物評価のための毒性部会長として多忙を極めてお

られたが、2月6日夕刻医薬品関係の会議終了直後病理部に帰られるべく厚生省近くの駐車場に入られたところで脳大動脈破裂で斃れられ、日本大学医学部駿河台病院での徹夜の看護もむなしく翌7日永眠された。享年52歳、ここに故人の遺徳を偲び御冥福を祈る。

当センターの朗報は、昭和54年8月に粕谷薬理部長を迎えたことである。粕谷部長は東京大学薬学部薬品作用学教室の教授としてご多忙の中を当薬理部の業務処理に当たられ部員の試験研究指導に全力を注いでおられる。また、懸案の変異原性部の細胞変異研究室長として祖父尼俊雄氏も同7月に着任され、センターもますます充実された。

昭和54年度におけるセンター業務は、国家検定、厚生省業務局、環境衛生局、環境庁や科学技術庁よりの委託研究などのほか、厚生省、文部省の特別研究、試験研究や原子力研究など従来通り広範にわたるものであるが、所内外との協同研究も進み、また基礎研究が充実しつつある。各部で取りあげている化学物質も多種にわたり、医薬品、食品添加物、化粧品、医療用具その他各種化学物質などを包含するが、研究の手技面でも微生物、培養細胞から温血哺乳類多種を用いる機能形態両面からの安全性研究で、52年以来の人員増と機器の充実と相まって、検査法の自動化が更に進み、客観的な GLP 適合データの作製可能な段階に入ったと考えられる。

毒 性 部

部 長 戸 部 満 寿 夫

概要 新庁舎での2年目を迎え、すべての研究が順調に進展した。

アジア太平洋地域の開発途上国を対象として IAEA が発足させた原子力地域協力協定 (RCA) に基づき、54年10月15日から1箇月間、食品照射に関するワークショップがわが国で開かれた。これはわが国が持っている食品照射に関する技術を、アジア地域の各国が共通テーマとして今後実施する乾魚の照射保存研究の一助にすることを目的とするもので、9箇国から12名の参加を見た。研修の場は原子力研究所高崎研究所が主体となったが、関連する健全性についての研修を当所において2日間実施した。変異原性部及び食品部に多大の協力を得、無事に終了した。

54年4月から1年間の予定で IAEA フェローとして当部に参加したバングラデシュの Matin 君は、更に3箇月間の研修延長が認められた。一方、同時に来

日された Hossain 君は不幸にして病を得、54年11月に帰国された。

センター新設に伴う機器装備の仕上げである MIC-ROX (白血球自動分析装置) が年度末に設置された。他に先駆けて基礎分野では稀な斯如な機器の設置を諒とされた各位に感謝したい。

55年4月1日付で、空席であった毒性第三室長に金子豊蔵技官が任命された。

研究業績

1. 医薬品

i) 注射剤の安全性に関する研究(薬務局委託研究)

49年度から5年間に亘って「注射剤の局所障害性に関する試験法」基準作成に係わる筋注の局所障害性について検討したが、54年度では新たに皮下注射による局所障害についてラットを用いて実験を行った。(薬務局へ報告)

ii) 体液中の覚醒剤検出法に関する研究(薬務局委託研究)

服用した覚醒剤が体液殊に汗中に検出しうる程度に排出されるか否かをサル及びラットについて検討した。(薬務局へ報告)

2. 照射食品の安全性に関する研究(原子力研究)

i) 照射ウィンナーソーセージのマウスによる慢性毒性試験及びサルによる慢性毒性試験

ii) 照射かまぼこのマウスによる慢性毒性試験、ラットによる慢性毒性試験及びマウスによる世代及び催奇形性試験

iii) 照射みかんのマウスによる慢性毒性試験、ラットによる慢性毒性試験、サルによる慢性毒性試験及びマウスによる世代及び催奇形性試験

3. 食品添加物

i) デヒドロ酢酸とソルビン酸の相乗毒性に関する研究

6箇月間の亜急性試験による相乗毒性の検討を行った。

ii) オルトフェニルフェノールとチアベンダゾールの相乗毒性に関する研究

ラットを用いて経口急性毒性試験による相乗効果の検討を行った。

4. 家庭用品

ゴム加硫促進剤のメルカプトベンゾチアゾール及びジフェニルグアニジン、また消炎剤のトリス (2,3-ジクロロプロピル) ホスフェイト及びビス (2,3-ジプロモプロピル) ホスフェイトの各々慢性毒性試験を継続して実施し、更に新規にゴム加硫促進剤であるメルカプトイミダズリン及び 2-(モルホリノ) ベンゾチアゾ

ールの2品目についてマウスによる急性毒性試験を行った。

また、厚生科学研究として、「家庭用化学製品の事故防止対策に関する研究」のうち、“家庭用化学製品の毒性に関する研究”，「家庭用品に使用される化学物質の吸入毒性に関する基礎的研究」のうち“長期吸入実験装置の開発及びホルムアルデヒド長期吸入試験”の2テーマについて研究を行った。

5. 既存化学物質

既存化学物質の毒性に関する研究（薬務局行政研究及び委託研究）

ヘキサクロロベンゼン，2,4,6-トリブロモフェニル-2-メチル-2,3-ジブロモプロピルエーテル，ビス（テトラクロロプロピル）エーテル，ペンタクロロエタンについて毒性試験を実施している。

6. 食品汚染物質

PCBの生体機能に及ぼす影響に関する研究（環境庁委託研究）

PCBによる生体障害の中，特に中枢神経系への影響を検索するため3年間に亘ってラット及びサルによる実験を行ってきたが，本年度で終了した。（環境庁報告）

7. その他

低沸点性有機塩素化合物の生体機能に及ぼす影響に関する研究（環境庁委託研究）

最近，河川水中から種々の有機塩素化合物が検出され，これらが新しい環境汚染物質として世界的な関心を呼び，その生体影響について早急に検討される必要性が強調されている。揮散性の高い物質が対象となるので，長期実験で能率よくかつ正確な投与量を維持するための方法についてまず検討し，マイクロカプセル化による良好な成果を得た。（環境庁へ報告）

薬 理 部

部 長 粕 谷 豊

概要 昭和54年8月1日で粕谷 豊が部長（併任）を命ぜられた。ミシシッピー大学メディカルセンターに留学中の藤森観之助主任研究官は，出張期間が変更され引続き56年3月まで現地に滞在することとなった。研究業務は，ほぼ前年度に引続く課題について行われた。

業務成績

国家検定 昭和54年度はブドウ糖注射液 633件，リンゲル液11件について検定を行い，すべて適と判定さ

れた。

研究業績

1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) 医薬品と亜硝酸塩の相互作用によるN-ニトロソ化合物の生成に関する研究

in vitro 及び *in vivo* でエタンブトールからニトロソ化合物の生成を検討し，更にエタンブトールと亜硝酸ナトリウムを同時経口投与した際の肝及び血液毒性，エタンブトールのビスニトロソ化合物を経口投与したときの肝毒性を検討した。（特別研究報告）

ii) 薬物性腎障害の発生機序に関する研究

フェニルブタゾンの反復経口投与による腎障害に伴う各種尿中酵素活性変動の検索，及び電顕による組織学的検索を行った。また肝及び腎組織中の酵素活性変動についても検討した。（薬務局報告）

iii) 腎における薬物代謝に関する研究

腎組織中のNADPH電子伝達系の微量測定法及び標識アミノピリン，N-ニトロソジメチルアミンを用いた薬物代謝活性の微量測定法を検討した。（→学会発表 104）

iv) PCBの生体機能に及ぼす影響に関する研究

脳内カテコールアミンを増加させる前処置を施したラットではPCBにより運動量，条件回避行動の低下を認めた。また，胎仔肝においても薬物代謝酵素の誘導が確認された。（環境庁報告）

v) 注射剤の安全性に関する研究

注射剤の局所障害性に関する研究の一環として，注射剤添加物の溶血性を調べ，製剤添加濃度の範囲内あるいはそれ以下の濃度で著明な溶血性を示す添加物があることを明らかにした。（厚生省安全課報告）

vi) N-ニトロソジメチルアミンの血液凝固障害作用に関する研究

化学物質による肝障害と血液障害との関連性

(1)ジアルキルニトロソアミン類について（→学会発表 100）

(2)ニトロソウレア類について（→学会発表 102）

2. 医薬品・食品添加物の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) 化学物質の毒性の簡易試験法の開発に関する研究

メチルテストステロンを妊娠後期のラットに皮下投与し，次世代雌ラットに現われる男性化作用を検索した。その結果鋭敏な男性化作用検出法を確立した。（科学技術庁研究調整局報告）

ii) 没食子酸プロピルのラット胎仔及び育成仔の発育に及ぼす影響（食品化学課報告）（→誌上発表 82）

iii) Butylated Hydroxyanisole (BHA) のラット胎仔及び育成仔の発育に及ぼす影響(食品化学課報告)

iv) Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate のラット胎仔及び育成仔の発育に及ぼす影響(家庭用品安全対策室報告)

v) 次世代動物の肝機能異常に関する研究

胎仔期に投与されたメチルテストステロンの肝機能への影響は成熟後に至ってもみられ、薬物代謝酵素の性差が減少していた。この機序については検討中である。(文部省一般研究)

3. 薬理学研究用動物の種差に関する研究

i) ゲッチングンミニプタの実験動物化とバイオメディカル研究における有用性に関する研究

ミニプタの肝薬物代謝酵素活性は雌ラットより低く、文献的にみたヒトの値に近かった。また、血球組成、血液凝固系の特性についても実験に繁用されている他動物種と比較検討を加えた。(文部省特定研究)

4. 医療用具の安全性に関する研究

i) エチレンオキサイド、エチレングリコール及びエチレンクロロヒドリンの皮膚刺激性について

エチレンオキサイドは1%以上の濃度で皮膚刺激性を生じた。しかし、エチレンオキサイドガスで滅菌した手術用ゴム手袋標本の貼布では皮膚刺激性は認められなかった。(療品部、東京医科歯科大学と共同、厚生省化粧品・医療用具安全対策室報告)

病 理 部

部 長 大 森 義 仁

概要 本年2月7日小田嶋部長の死去に伴い大森センター長が部長代理として兼務されている。部の仕事の内容としては昨年と特に変わりはない。合成化学部、薬品部、変異原性部と協力、文部省がん特別研究班の一員として活動している。また厚生省がん助成金による「突然変異性物質の動物発癌テストに関する研究班」は部長の死去により班長は国立がんセンター副所長、河内卓先生に変わったが、当部が中心的役割を果たしている点には変わりはない。その他人員の移動、設備の購入等に関しては特記すべきことはない。

研究業績

1. 自然発生腫瘍に関する研究(文部省がん特別研究)

呑竜、ウイスター、フィッシャー系ラットの長期飼育中発生する腫瘍を病理組織学に検索した。

2. 化学物質の癌原性と標的臓器との相関に関する

研究

各種ニトロ化合物をラットに投与、その発癌性を検索した。

3. 食品添加物・医療用材料等の安全性に関する研究

i) 亜硝酸、硝酸塩の慢性毒性及び癌原性の研究(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)→54年9月終了

iii) チラムの慢性毒性及び癌原性の研究(厚生省がん特別研究)

iv) 臭素酸カリウムの慢性毒性及び癌原性の研究(厚生省がん特別研究)

v) カラメルの慢性毒性及び癌原性の研究(厚生省がん特別研究)

vi) ビベロニルブトキサイドの慢性毒性及び癌原性の研究

vii) 次亜塩素酸ソーダの慢性毒性及び癌原性の研究(厚生省がん特別研究)

viii) 魚粉と亜硝酸の併用投与による発癌性試験の研究

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癌原性閾値に関する研究

5. 発癌過程及びそれに影響を及ぼす宿主要因に関する研究

腫瘍発生と宿主免疫能との相関を研究する。

6. 実験動物による発癌試験法の開発に関する研究

i) 新生仔投与方法に関する研究

ii) 経胎盤投与方法に関する研究

iii) 胃癌発生に関する実験的研究

7. 癌の動物モデル確立に関する研究

i) 膀胱癌発生に関する実験的研究

8. 器管培養法による発癌の実験的研究

i) 発癌実験における器管培養法の意義に関する実験的研究

器管培養法の発癌実験における役割の検討を行う。

9. 原発性白血病の実験病理学的研究

i) 白血病の発生機序に関する研究

ii) 白血病発生過程α細胞遺伝学的検索及び組織発生に関する研究(変異原性部と共同)

10. 移植腫瘍の細胞病理学的研究

i) 可移植腫瘍細胞の増殖・浸潤及び転移に関する研究(合成化学部と共同)

ii) 制癌剤のスクリーニングに関する研究(合成化学部と共同)

iii) 実験胃癌系移植腫瘍の特性に関する研究

変異原性部

部長 石 館 基

概要 各種生活関連物質について、微生物及び哺乳動物細胞を用いる変異原性試験を担当してきたが、今年度は特に、厚生省環境衛生局食品化学課の依頼によって、食品添加物の変異原性に関する業務を開始した。また、科学技術庁及び環境庁の依頼によって、照射食品成分あるいは、重油その他の環境汚染原因物質の変異原性試験を担当した。

今年度は新たに、変異原性データの情報を整理するための小型コンピュータ装置を購入するとともに、化学物質約1500種類に関する変異原性データ集の作成にあたった。

昭和54年7月1日より、当部細胞変異研究室長として、広島放射線影響研究所から祖父尼俊雄氏を迎えた。

研究業績

1. 微生物による癌原物質のスクリーニング

サルモネラ菌を用いる Ames 試験により生活関連物質の突然変異原性を検索し、その結果から定量的評価を試みた。(厚生省がん研究班報告)

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

チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて、生活関連物質の染色体異常誘発試験を行い、その結果の定量的評価を試みた。(厚生省がん研究班報告)(→誌上発表 92)

3. 照射食品の変異原性に関する研究

照射ミカンジュースの有機溶媒抽出物について、Ames 試験及び染色体異常誘発試験を行った。(科学技術庁委託研究班報告)

4. 食品添加物の変異原性に関する研究

食品添加物50余種について、Ames 試験及び培養細胞を用いる染色体異常誘発試験を行った。(環境衛生局食品化学課へ報告)

5. 環境汚染化学物質の変異原性並びにその試験法の開発に関する研究

ガス状物質の染色体異常誘発性及び微生物による変異原性試験装置を開発し、実験条件を検討した。(環境庁へ報告)

6. 化学物質毒性簡易試験法の開発に関する研究

微生物及び哺乳動物細胞を用いて種々の化学物質の変異原性を検索し、その結果を定量的に表わして比較

検討した。(科学技術庁特別研究班報告)

7. 医薬品の染色体異常誘発性に関する研究(一部、合成化学研究部と共同)

制癌剤13種並びに制癌効果を有するニトロソ尿素誘導体及びその関連化合物11種について、培養細胞による染色体異常誘発試験を行った。

8. 重油成分の変異原性に関する研究(食品部と共同)

重油中に含まれる8種の含窒素多環芳香族化合物について、代謝活性化法を併用して、染色体異常誘発性を検索した。(→学会発表 119)

9. 低沸点有機塩素化合物の変異原性の検索(毒性部、環境衛生化学部と共同)

ジクロロプロモメタン、ジブロモクロロメタン及びトリプロモメタンについて、サルモネラ菌による変異原性試験並びに培養細胞による染色体異常誘発試験を行った。(環境庁へ報告)

10. 微生物による変異原性試験のための代謝活性化法に関する研究

i) ミクロゾーム薬物代謝酵素の阻害剤である7,8-ベンゾフラボン及び SKF 525 A を S9 mix 中に加え、フェニレンジアミンの代謝活性化に及ぼす効果を Ames 試験系を用いて検討した。(→学会発表 122)

ii) ラット、マウス、ハムスター肝の S9 を長期間低温保存した場合の影響を、Ames 試験及び DMN 脱メチル化酵素活性の測定によって検討した。(→学会発表 123)

11. phenylhydroxylamine 類の変異原性に関する研究(合成化学研究部と共同)

アミノベンゼン類の変異原性を示す代謝活性化本体を調べるために、メチル基、メトキシ基を有する N-水酸化体13種類について、サルモネラ菌を用いる変異原性試験並びに抽出 DNA の不活化試験を行った。(→学会発表 124)

12. 哺乳動物の体細胞変異に関する研究

チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用い、6-チオグアニン耐性及びウアブイン耐性を指標とする突然変異試験系について実験条件を吟味し、ニトロソ尿素、ニトロソグアニジン類などの変異誘発頻度を検索した。またラット肝 S9 を導入してベンツピレン、DMN などの前発癌性物質の検索方法を検討した。(文部省がん特別研究報告)(→学会発表 118)

13. マウスを用いる小核試験法の開発

生体における染色体異常試験系として、マウス骨髓を用いる小核試験法について、数種の既知変異原物質を用いて実験条件を吟味した。(→学会発表 120)

14. 人工水棲生態系における環境汚染物質の動態に関する研究(食品部と共同)

モデルエコシステムにおける試験物質であるアニリン誘導体などの芳香族含窒素化合物、及び染料の合計21種について、Ames試験及び染色体異常試験を行った。(環境庁へ報告)

15. 医薬品、食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究(毒性部、薬理部と共同)(特別研究)

医薬品、食品添加物数種について、*in vitro*での染色体異常試験と*in vivo*でのマウス小核試験の結果を比較検討した。

16. ラット白血病発生過程の細胞遺伝学的解析(病理部と共同)

エチルニトロソウレアを投与したラットの骨髓細胞について、経時的にG-バンドニング法による核型分析を行った。(文部省がん特別研究班報告)

大阪支所

支所長 井上哲男

大阪支所は、国家検定、製品検査、一斉取締試験、特別行政試験、輸入食品検査などを行っているが、輸入食品検査を除いてはほぼ例年なみの件数を処理している。輸入食品検査については、前年度の約40%の件数を処理している。これは従来から大阪支所が努力していた厚生省食品衛生監視員事務所並びに公的性格を持つ民間試験機関の試験レベルの向上に協力したことによる成果の現われと解すべきであり、当所としては余力を他の必要業務にそそぐことができるという点で歓迎すべき現象と考えている。

研究課題は、特別研究、厚生科学研究及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上げられ、それぞれに成果を挙げている。

なお、支所例会が近年になく活発に開催され、原則として全員参加、全員発表を行い、討議されたことは特記すべき事項であると思料する。

薬品部

部長 持田研秀

概要 昭和54年度の厚生科学研究「内用固型医薬品の製剤学的有用性に関する研究」をはじめ、ここ数年に亘って、当部で着実に進歩してきた向精神薬の構造・

活性相関及び標識イムノアッセイの実用化などの主要研究課題の充実を図り、後述の所期の成果を収めた。今後これを基軸とした展開が期待されている。

昭和55年4月1日付で古謝紀和技官が退職した。

業務成績

1. 国家検定 本年度の処理件数はブドウ糖注及びリンゲル液1156件で、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500ml以上39.6%、20ml 74.1%と前年度に比較し、依然増加の傾向は注目すべき事項である。別にプロチオナミド原末1件、同錠8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 血管拡張剤シナリジンを含む錠剤及びカプセル剤51件につき、重量偏差と定量試験を実施し、いずれも適品であったが、製造承認申請書の一部に定量法の項の記載に誤りがあったので、監視指導課に報告した。

3. 特別行政試験 国内産収納あへん15件(内訳、和歌山1件、岡山7件、香川7件)のモルヒネ含有量の試験を実施した。

4. その他 10局新規収載のヒドロキシプロピルメチルセルローズ、同フタレートのほか、継続収載2品目の定量法の改定案を安全課に提出した。

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)

ここ数年に亘るフェノチアジン誘導体の自己会合性と単分子膜への侵入性に関する研究は10余編の論文に纏められ、新しい薬効評価の方法として、薬物の構造・活性相関の基本的な概念を導入したことは特筆すべきことである。(→誌上发表 96, 学会発表 28) 更に、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 129)、高分子医薬品及び添加物の規格値の洗い直しのために、アラビアゴムの分子量測定(→学会発表 130)など、広く製剤学的に問題となる課題を積極的に取り上げて展開させている。

2. 薬物及び生理活性物質への標識イムノアッセイの実用化

起炎症性レクチンとして、生体内機能に影響を及ぼすリシンロ及びコンカナバリンAの酵素標識イムノアッセイ(→学会発表 134, Toxicon 印刷中)、抗炎症性ステロイド剤デキサメタゾンのスピニン及び酵素標識イムノアッセイ(→学会発表 135)を確立した。更に、カリクレインの標準化を設定する目的で標識イムノアッセイの適用を進めている。

3. 内用固型医薬品の製剤学的有用性に関する研究

(昭和54年度厚生科学研究)

10局に収載される溶出試験の適用品目の拡大を意図し、外国薬局方では未収載のジギタリス製剤関連のラナトシド C 錠の検討を行った。本剤の溶出特性より paddle 法を選定し、市販製剤を調査した結果、規定の溶出率に達しない事例があり、原薬の粒子径、賦形薬の種類や量などの製剤的要因に結びつくことが明らかになった。別に市販シンナリジン製剤の溶出試験の変動要因に“ぬれ”の影響があることを指摘した。〔衛生試報, 98, 148(1980)〕

4. 漢方製剤の薬剤学的研究

麻黄配合エキスの品質に、主成分フェドリンの製剤工程上の損失が大きいこと(→学会発表 133, 138)、局外生薬(ウワウルシ, ソヨウ, シヤゼンソウ)の確認試験と定量法に薄層及び薄層-デンストメトリーを適用し、基準作成にあたった。(→学会発表 132)

5. 医薬品添加物の分析化学的研究

さきに、芳香族及び脂肪族スルホン酸塩を揮発性チオール誘導体に変え、GC 分析を可能にする方法を開発したが、洗剤の直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)に適用し、ガラスキャピラリー・GC-MSを用いて、LAS のアルキル鎖長の分布とフェニル基の結合位置の異なる異性体の分離同定を可能にした。(→誌上発表 99, 学会発表 136, 137)

食 品 部

部 長 慶 田 雅 洋

概要 昭和51年以降、満4年の歳月をかけて作業を続けてきた日本薬学会編「衛生試験法・注解1980」が昭和55年3月20日に出版された。当部は食品添加物試験法と乳・乳製品試験法の作成に協力した。

豊田正武技官が54年8月11日以降1年間の予定で、国際協力事業団(JICA)の「タイ国地域の保健活動の向上計画」に基づき、指導員並びに専門家としてバンコックのタイ国医科学局食品分析研究所に出張した。

55年1月に過酸化水素のマウスに対する発がん性が発表され、その取扱いが注日されたが、1月30日に食品衛生調査会は本品の食品衛生上の有用性についても十分に評価した結果、最終食品に残留する形で使用することは適当でないとの意見具中を厚生大臣に対して行った。これを受けて、厚生省は2月20日に「食品、添加物等の規格基準」を改正し、本品に「最終食品の完成前に分解又は除去すること」という使用制限を設け、10月1日から適用することになった。このために

高感度の過酸化水素の検出法の開発が必要となり、過酸化水素研究班が組織され2月29日に第1回会合を行い、3月より試験法の検討作業を開始した。当部ではけい光法、ABTS [2-2'-azino-di-(3 ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] を使用する紫外吸光度法及び4-アミノアンチピリン法(比色法)の3つについて分担検討した。

業務成績

1. 製品検査 タール色素 571 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4検体が塩化物・硫酸塩の過剰により不合格となった。申請数は昭和52年を境として以後毎年上昇の傾向にある。

化成品工業協会の食用色素部会と協同で食用タール色素の規格の全面改訂作業に当たった。当部は主として、高速液体クロマトグラフィーによる中間体と副色素の検出・定量のための試験法の作製を担当した。

2. 輸入食品の検査 178検体について242項目の試験を行った。試験数は53年度(443検体, 845項目)に比べて著しい減少を示した。これは海空港の厚生省食品衛生監視員事務所の試験・検査態勢の充実、並びに中立的な性格を有する民間の検査機関の強化による自主検査の普及などによるものと解釈される。試験の結果は合格134, 不合格29, 無判定15検体であって、不合格率は16.3%であった。不合格品の内訳について考察すると、乾燥梅よりズルチンとサッカリンを検出した例、インド産サラダボールより水浸出により不許可合成着色料オレンジII(CI acid orange 7)の溶出を認めた例、米国産粉末クリームより不許可固結防止剤けいアルミン酸ナトリウム(sodium silicoaluminate)を検出した例、米国産マーガリンよりEDTAを検出した例などが特徴的であった。その他は、例年通りの安息香酸、亜硫酸及びほう酸の違反であった。

本年度も厚生省食品衛生課の食品衛生監視員の研修を神戸港の石原昭巳、大阪港の酒井悟及び大阪空港の池田健の3技官に実施した。

3. 特別行政試験 台湾産しらすばしに使用されたとされる2種類のけい光染料と思われる化合物、“保色粉”及び“保色青”について、厚生省食品衛生課よりその組成の究明を依頼された。両者ともけい光染料としてトリアジンアミノスチルベン系の4,4'-ビス(2-アミノ-4-ジエタノールアミノ-1,3,5-トリアジン-6-イルアミノ)-スチルベン-2,2'-ジスルホン酸ナトリウムを含んでいるが、保色青の青色はウルトラマリンブルーに由来することが判明した。

本年度の輸入食品の残留農薬試験は、港における検体の採取が遅れたために、試験結果の報告は次年度に

ずれ込むことになった。

研究業績

1. 食品中の過酸化水素の分析に関する研究

これまでの過酸化水素の測定法としてはよう素法、硫酸チタン法、3-メチル-2-ベンゾチアゾヒドラゾン(MBTH)法などが設定されているが、検出感度が10ppm前後であったり、うどんにしか適用できないなど不十分なものであり、55年10月以降の新規制に対応できないと考えられるので、大阪大学薬学部の近藤雅臣教授、名古屋大学環境医学研究所の長谷川敬彦助教授、神戸学院大学栄養学部の田中慶一教授、和歌山県衛生研究所の横山剛部長らと協力して新しい高感度検出法の開発に着手した。

i) けい光法 *p*-ヒドロキシフェニル酢酸を基質とし H_2O_2 の存在下でペルオキシダーゼで処理すると、生成した二量体はけい光を示すので、これを指標としてけい光光度法により測定するものである。種々検討の結果、精製直後の *p*-ヒドロキシフェニル酢酸は無けい光であるが、放置すると徐々にけい光を獲得すること、しらすや魚肉ねり製品では動物たん白の特有のけい光が測定を妨害することなどがわかったので、実用化は不向きと判定した。

ii) 紫外吸光光度法 ペルオキシダーゼの基質として ABTS を使用する。酸化による本品の波長 340 nm における吸光度の減少又は波長 414 nm における吸光度の増加は、 H_2O_2 量と良好な直線関係を示すことが標準系においては確かめられたが、実際に食品に適用したところ、生めんでは良好な成績を得たが、かまぼこ及びしらすぼしには ABTS と反応する物質が存在するため測定不可能なことがわかった。

iii) 4-アミノアンチピリン比色法 上記2法が採用不可能であることがわかったので、原点に戻って横山らの4-アミノアンチピリン法〔衛生化学, 22, 76, (1976)]を改良して高感度化することを試みた。本法は H_2O_2 の存在下に4-アミノアンチピリンとフェノールをペルオキシダーゼの作用で反応させ、キノイミン色素を生成するもので、元来数十ppmレベルの H_2O_2 の測定に開発されたものである。本色素は非常に安定なので、試料からの抽出溶媒を水からメタノールに変え、呈色物をジクロロメタンに転溶し、濃縮する方式に改良し、各種食品について 0.05~0.1 ppm レベルの残留 H_2O_2 を検出することが可能になった。今後この改良法を用いて、食品中の H_2O_2 のバックグラウンド値の実態調査を行う。

2. 食品中に含有される固有の有害成分に関する研究(厚生省食品衛生調査委託研究, 有害物質研究班,

班長 倉田 浩)

本年度は安息香酸を担当した。安息香酸及びそのナトリウム塩はわが国ではキャビア、炭酸を含まない清涼飲料水及びしょう油にのみ使用が許されているが、本品は天然植物香気成分に由来するものであって、植物食品には微量に広く存在するのみならず、乳酸菌によっても生産されることが報告されているので、広範囲の植物及び動物食品についてバックグラウンド調査を実施した。また、安息香酸の存在形態には遊離型と結合型があるので、アルカリ分解法による総安息香酸の測定値から溶剤抽出区分について測定した遊離型安息香酸の値を差引いて結合型安息香酸の量を求めた。食品中におけるこれらの分布を比較すると、天然由来の安息香酸は結合型の形で多く存在することがわかった。(→学会発表 141)

3. 食品中の添加物の分析に関する研究

粉末コーヒークリームなどに含まれているモノ(又はジ)グリセリド系乳化剤“グリセリンジアセチル酒石酸エステル”の検出・定量法を確立した。本品は二塩基酸エステルであって酸価が高く、わが国の食添規格に合わないもので、その鑑別法が必要である。試料より本品を有機溶剤で抽出し、溶剤留去後けん化し、酒石酸を遊離させる。ついで共存物を除去し、クリーンアップを行い、トリメチルシリル化し、ガスクロマトグラフィーを行う。(→学会発表 148)

4. 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)

粉末コーヒークリームなどの固結防止剤けいアルミン酸ナトリウムのけい光X線法による検出法を確立した。(→誌上発表 118)

5. 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及び天然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。セライトカラム法及び液・液分配法により得た各分画液について、系統的に色素を定性する方法としてペーパークロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィーの本法への適用性を確立した(→学会発表 143)。また各分画液について系統的に色素を定量する方法として高速液体クロマトグラフィーの本法への適用性を確立した(→学会発表 144)。食品中の天然着色料の定性・定量法を検索して6機関によるクロスチェックを行い、良好な結果を得た(→学会発表 146)。本法による食品中各種着色料の市場調査を行い、現在使用されている着色料の種類及び添加量について実態を把握した。(→学会発表 147)

薬理微生物部

部 長 加 納 晴 三 郎

4月1日付を以て、長年当部の縁の下の力持的存在であった三宅末子事務官が退職され、新たに尼寺啓子技官(京大、薬学、生物化学、昭和54年卒)が入所された。また、11月には当部の中核的存在であった西尾晃技官が実績を評価されて鹿児島大学農学部獣医学科の助教授として栄転されたが、後任として新進の村井敏美技官(大阪府大、獣医修士課程、昭和53年修了)が入所された。2名の新進を迎えて活気を呈しつつある。しかし、8月に小川義之技官が病気で入院され、約6箇月の療養生活を送られたが、漸くこの程退院され再び活躍を期待されている。

業務成績

一般業務はブドウ糖及びリンゲル注射液の国家検定が1156件であったが、発熱物質試験及び無菌試験はいずれも不合格品を認めなかった。

研究業績

研究面では引き続き発熱物質に関する研究グループと胎生薬理学研究グループとに分かれ、それぞれ活発な研究を進めつつある。

発熱物質研究グループは、カプトガニ血液成分による Limulus test が最近問題となりつつあるので、引き続き研究を行っている。すなわち、川崎室長を中心として Limulus test の基礎的研究とこれに対応する標準内毒素の研究が進められている。標準内毒素は、発熱試験や Limulus test を行うに当たり最も基本となるもので、予研と協同研究を行って、その標準化を進めつつあり、近く、国内標準品として内定される予定である。

LPS に関する研究では、川崎、小室技官を中心として、そのレセプターと考えられるリポプロテイン又はプロテオリピドの精製と LPS との相互作用が研究されつつある。リポプロテイン又はプロテオリピドは最近生化学分野で最も注目されつつあり、多くの疾病特に老人病に関係するとともに、細胞膜構成成分として様々なレセプターを包含するものと考えられている。LPS のレセプターであることは我々の初めて見出したもので、この研究は小川義之技官の学位論文となった。(→学会発表 149)

また、胎生薬理学研究グループでは業務としての催奇形研究を行い、食品添加物グリチルリチン酸二ナトリウムの催奇形性を検定し、有害でないことを明らか

にした。また、家庭用品としてのゴムの老化防止剤であるポリ(2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン)について催奇形性を検定し、これが無害であることを明らかにした(厚生省報告)。

研究面では、引き続き薬物代謝酵素の妊娠時における役割を明らかにするために、妊娠母体に酵素誘導を行い、有機リン系農薬を負荷すると、明らかに母体は防御効果を示すが、その有効期間は約1~2日に限られることを知り、その生理的意義は更に検討を加える必要がある。(→誌上発表 125, 学会発表 151, 152)

薬物の催奇形性の機序を明らかにする他のアプローチとして、我々は fetoprotein に注目しており、このものは妊娠中に出現する特異な α_1 -albumin であり、また、癌罹患者にもみられるもので今後の問題点となるものである。催奇形性物質又は子宮内発育不全を起こす物質との相互作用について目下検討が行われている。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 本 間 尚 治 郎

概要 昭和54年の根雪終日は4月21日で融雪後も気温上昇せず、5月の平均気温(9.0°)は年に比べて1.3°低かった。5月31日に晩霜があったが一部を除いて生育の支障は認められなかった。6月、7月は気温、降水量、日照時間等平年並みで晴れの日が多く、畑は乾燥気味となる。そのためハカマオニゲシ、トウキ、ダイオウ等の春播したものは発芽が不良不揃いであった。8月に入ってもこの状態が続き、高温少雨のためセンキュウ、トウキは生育が停止し、ダイオウは前年に続いて枯死株が続出した。9月以降は反対に曇り・雨の日が多く、特に10月は天候不良のため収穫、播種作業が遅れ、一部のものは翌春に延期した。

10月30日初雪、11月、12月は比較的暖冬、根雪は12月23日で前年より41日遅かった。種子交換は国内外より入手した種苗が105件、306種。配布は45件、224種であった。また交換用として採種したものは124種で、調製後筑波薬用植物栽培試験場に送付した。関係研究機関、市町村役場、栽培農家、一般見学等2000名の来場があったほか、名寄市、美深町、豊浦町等で現地指導を行った。54年9月には日本生薬学会北海道支部主催のシャクヤク研究会にて栽培法の講演(→学会発表 154)と、当场において収穫調製の実地研修を行った。また55年3月には同支部主催のゲンチアナ研究会にて栽培法について講演した。(→学会発表 155)

昭和54年10月1日付で掘越司栽培管理室長が和歌山薬用植物栽培試験場へ、同55年2月1日付で笠木直一郎庶務係長が筑波薬用植物栽培試験場へ転出した。

研究業績

1. ショクヤク

i) 本畑5年生(株分苗)の系統別比較

現在栽培されているショクヤクは、早晩生の異なるものが混在しているため収量が定らず栽培も困難である。これを改良する目的で系統別に分け、生育、収量、品質について調査検討した結果、生育収量共に中生>早生>晩生の順で、中生の収量(生根重)は晩生より40%多かった。

ii) 本畑5年生(株分苗)の草勢別比較

前述と同じ目的で草勢別に比較した結果は大株>中株>小株の順で、大株の収量(生根重)は中株の1.4倍、小株の2.3倍であった。

花色別には各区ともに一定の傾向は認められなかった。

2. ハナトリカブト

i) 系統比較

優良系統を育成する目的で、当场水谷系のものと道南伊達地方より入手した4系統について比較した結果、伊達2号は葉形が丸く早生系で開花結実した。他系統のものは開花はするが結実しない。伊達1号、3号、4号は当场水谷系と同じ形態を呈している。ただし伊達4号は生育が劣っている。収量は伊達1号>当场水谷系>伊達2号>伊達3号>伊達4号の順で、伊達4号は伊達1号の53%であった。

ii) 苗の大きさ別比較

収穫したブシを選別して苗とするが、使用苗の適当な大きさを知る目的で大苗(平均根重42.4g)、中苗(同22.1g)、小苗(同13.3g)について収量を比較した結果、中苗>小苗>大苗の順で中・小苗が大苗より優る傾向を示した。(一学会発表156)

3. オウレン

寒冷地における栽培法の改良を目的として、9年生のものについて収穫期を結実期(78・6・29)、繁茂期(78・8・28)、休眠期(78・10・27)、開花期(79・5・7)の4区に分け収量、ベルベリン含有率を調査した。

4. ボタン

寒冷地における栽培法の改良を目的として1975年に実生1年苗、株分1年苗、株分4年苗を定植し毎年地上部の生育を調査(本年は定植4年目)した結果、各区ともに肥大しており、そのうち実生1年苗のものが生育良好であった。

5. トウスケボウフウ

i) 種子の調製法

発芽を高める目的で種子を実験用金篩で大きさに選別した結果、径2.00mm以上のものは発芽率が46~51%(千粒重3.3~3.6g)、径1.50mm以下のものは発芽率低く、径1.00mmのものは発芽しなかった。

ii) 採種時期

寒冷地における採種適期を知るために9月29日(乳熟期)、10月15日(黄熟期)、10月26日(完熟期)、11月5日(枯熟期)と4回に採種した結果は、採種が遅れるに従い収量は多くなるが、天候等を考慮すれば10月下旬が適期と思われる。10月26日採種量は株当8.1g。

6. ケン

種子並びに技術保存の目的で5系統のものについて選抜採種した。一貫種についてはあへんを採取し収量を検討した結果、30m²当たり31.9±6.6g(前年比28%増)でほぼ平年並の収量であった。モルヒネ含量は7.5%。(業務局へ報告)

筑波(春日部)薬用植物栽培試験場

場長 宮崎 幸男

前場長 小島 康平

概要 本年度は春日部薬用植物栽培試験場の筑波研究学園都市への移転に関する業務に主力を注がざるをえなかったため、従来の研究及び調査などに関する業務は必ずしも予定どおりに実施できなかった。

昭和54年10月1日付で筑波移転について多大の努力を払われてきた小島康平場長が退官され、後任に伊豆薬用植物栽培試験場の宮崎幸男場長が就任した。

筑波移転については、11月8日細やかながらも春日部試験場の閉場式が行われてから移転作業が本格的に開始され、まず植物の移転に重点がおかれ、ついで11月28日付で筑波の研究本館など諸施設の引き渡しをうけるとともに物品を主体とする移転が急速に進められた。そして12月末には職員の移転をも含め移転作業は実質的に完了した。職員の移転に関し、移転困難のため12月31日付で退職された奥村正男庶務係長、金子政次副場作業長、浜田良子技官には永年春日部試験場の発展に尽された功績に対し心から謝意を表したい。なお春日部試験場は昭和55年2月25日付で大蔵省関東財務局に所管換えとなった。

筑波薬用植物栽培試験場は昭和55年2月1日付で正式に発足し、組織については庶務課及び育種生理研究室が新設され、また従来の栽培管理室は栽培研究室に名称が改められた。これに伴い庶務課長には本所の林

菊一庶務係長、育種生理研究室長には畠山好雄主任研究官がそれぞれ昇任され、庶務係長に北海道薬用植物栽培試験場の笠木直一郎庶務係長が就任した。また同日付で上原政一技官が圃場作業長に任命された。なお1月1日付で伊豆薬用植物栽培試験場の渡辺照行技官が筑波試験場に配置換えとなり、3月1日付で長南明夫技官が新たに採用された。

筑波試験場では敷地総面積 45814.15 m² の地に研究本館を含む11棟、建物延面積 2585.86 m² の施設が建設されるとともに、標本園、試験圃場などの整備工事が行われ、また植栽そのほかの場内全般の整備工事が行われてきたが、これら諸工事は3月19日をもってすべて完了した。

ついで4月1日付で畠山育種生理研究室長が北海道試験場の栽培管理室長に転出したのに伴い、後任室長に本所生薬部の佐竹元吉主任研究官が昇任された。こうして筑波試験場は昭和55年度から本格的な活動体制に入り、標本園を始めとする圃場の整備作業を強力に進めるとともに、ファイトトロンなど新しい施設を利用した各種試験研究にも着手した。そして5月22日には開場式を行い、盛会裡に当場の新しい出発を記念することができた。

なお本年度の業務として下記の研究業務のほかには種子交換があげられるが、保管種子 495 種のうち発送種子は 474 種、延べ3163種であった。分譲依頼の最も多かったものはニンジンで、そのほかチクセツニンジン、チャ、ベンガルコーヒー、ソテツ、イトバショウなどが多かった。

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の一連の研究として土壌の pH に関する試験を行った。UNB-18 を供試し、pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 の7段階の砂耕液を施用して生育との関係を調べた結果、地上部の生育については pH の影響は明らかでなかったが、根重は pH 6.5~7.5 で大であった。したがって本植物は比較的広い範囲の pH で生育可能であり、また pH 7.0 前後の中性土壌に適していることが示唆された。

2. ハブソウ

根の活力診断を行い生育時期別の根の活力と地上部生育との関連を調べることを目的とし、晩生系統の土耕苗を供試し、トリフェニルテトラゾリウムクロライド (TTC) 法により根の活力診断を行った。栄養生長期(第1回)、開花初期(第2回)、開花盛期(第3回)、登熟期(第4回)の4期に分けて根の TTC 還元力を調

査した結果、単位根当たりの還元力は第1回が最も高く、第2回がこれに次ぎ前者の約5分の1、第3回と第4回はともに第1回の約15分の1で最も低かった。一方1株当たりの還元力は根重の増加により単位根の場合と異なり、第2回が最も高く、第4,3回がこれに次ぎ、第1回が最も低かった。第2,4,3回はそれぞれ第1回の約8,4,3倍であった。

3. ステビア

レバウディオサイド A 含量の高い優良系統の選抜を目的とし、いままでに選抜してきた比較高含量の2倍体及び4倍体の系統を供試し、シンクログラフ法によりレバウディオサイド A 及びステビオサイドの定量を行った。葉の厚い4倍体の系統はレバウディオサイド A の含量が高く、葉厚とレバウディオサイド A との間には高い正の相関がみられた ($R=0.507^{**}$)。4倍体の高含量系統ではレバウディオサイド A 約14~17%、ステビオサイドとの合計では約24~25%のものがみられた。

4. ケシ

モルヒネの多収獲栽培の技術を確立することを目的とし、一貫種を供試し、密植栽培に関する研究を行った。速効性肥料の葉面散布試験及び栽植密度試験よりモルヒネ収量構成要素を果数、有効果歩合、1果当たりアヘン収量、アヘン中モルヒネ含量の4要素とした。慣行法では第1回切傷の有効果歩合、1果当たりアヘン収量、アヘン中モルヒネ含量が最も高く、切傷を重ねるごとに各要素とも減少した。密植栽培では慣行法の3倍の栽植密度とし、切傷を1回にとどめたが、この場合有効果歩合、アヘン中モルヒネ含量が高く、1果当たりアヘン収量は低かった。なお1a当たりモルヒネ収量は慣行区 13.2g に対し、密植区 38.2g であった。

伊豆薬用植物栽培試験場

場長 大野 忠 郎
前場長 宮 崎 幸 男

概要 昭和54年10月1日付で宮崎幸男場長は春日部薬用植物栽培試験場長に、大野忠郎和歌山薬用植物栽培試験場長が當場長にそれぞれ配置換えされた。

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、シマサイコ、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 67種

入手 22件, 延べ172種

配布 26件, 延べ168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て、次のような研究を行った。

i) 成分含量からみた優良系統の選抜

昭和52, 53年度採葉の検体につき千葉大学薬学部で成分の分析を行い、成分含量からみた優良系統の選抜について検討した。

総アルカロイド、スコポラミン、ヒヨスチアミンのいずれも個体変異が大きく、また年度による変異も比較的大きいことが注目される。当場での主目標はスコポラミン含量の高い系統の育成であるが、兩年度の平均でスコポラミン含量の1%近い個体が数個体みつかったわけで、M-II-8-2, M-II-8-6, M-II-8-14, M-II-8-16, L-I-33(Mは *myoporoides*, Lは *leichhardtii*) は優良系統の候補にあげられよう。ただ L-I-33は生育不良で性質の弱い欠点がある(Lはすべてこの傾向が強い)。M-II-8-6は優良系統の最右翼にあげられるようである。

ヒヨスチアミンについては1%以上の個体が多数みられ、特にM-II-8-3のように2%以上の個体も見出され、ヒヨスチアミンについても優良系統育成に希望がもてるようになった。

ii) 昭和54年度採取検体の特性調査

昭和52, 53年度採葉検体の分析結果から優良系統をある程度選抜し、これらについて従来のにニールハウス内鉢栽培から検体を採取するとともに、更に少数の選抜個体の圃場栽培からも採取し、これら検体について特性調査を行った。またこれら検体のなかから更に代表的なものを選び、現在千葉大学薬学部で成分の分析を実施中である。

個体により生育に顕著な差異がみられたが、葉の風乾率や葉形においても個体差があることが確認された。M-II-5及びM-II-8の実生個体はいずれもMとLの中間型であるとみてよい。

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て、次のようなポット試験を行った。

土壌水分と幼植物の生育、収量との関係(実験2)

実験1(昭和53年度)では土壌は粒径2.0~0.5mmの比較的粗粒子の砂土を用いたのに対し、本実験では0.5mm以下の比較的微細粒子の砂土を用い比較検討した。土壌水分の区分は容水量の90%, 60%, 30%の3区である。

実験1に比べて土壌水分3区間での植物各部の重量の差の少ないこと、すなわち土壌水分の影響が比較的少ないことが注目された。乾燥(30%区)の悪影響が比較的少なかったのは主として土壌粒子の小さいことによるもので、ポットの上部(幼植物の根張りの部分)と下部との土壌水分の差が実験1(粗粒子の土壌の場合)に比べて少なかったことによるものと思われる。過湿(90%)の悪影響の少なかったことは生育期間(11月15日から翌年の5月21日まで)が比較的低温の時期であったことが最大の原因と思われる。実験1, 2を総合して土壌水分の影響は土壌粒子の大きさや生育の季節によって現われ方が異なることがわかった。

3. ミシマサイコ

暖地栽培の立場から栽培法の確立を目的として、次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、播種期のもとの1年生植物の生育、収量

温度条件は戸外、無加温ビニールハウスの2水準、播種期はとり播き、春播きの2水準のもので1年生植物について生育、収量の比較研究を行った。播種期の如何にかかわらず無加温ビニールハウス内では戸外に比べて生育、収量が優る傾向が認められ、1年生植物については戸外よりもやや高温のもので収根量の増大することが確認された。戸外ではとり播きと春播きによる収根量の差は認められなかったが、無加温ビニールハウス内ではとり播きでは春播に比べて収根量がはるかに優っており、冬期比較的高温の(降霜の少ない)地域ではとり播の望ましいことが実験的に確かめられた。

ii) 圃場栽培2年生植物の収量、成分の時期的変化
地上部の生育に関しては7~8月ごろまでは重量の増大することは確かである。これは主として茎の生長と花器の発育によるものである。しかし地下部については5~6月ごろまでは若干増大するようであるが、全期間(4月より11月まで)を通じて収根量の時期的変化は比較的少ないようである。根の成分については広島大学薬学部で分析中であるが、収根量のみについて考えれば2年生植物では7~8月ごろの開花期には地下部の生育は停止するとみてよく、またこのころより病害の影響が大きくなるので、この時期に収穫した方がよりよいように思われる。

4. センナ

栽培適地の環境条件の解明 栽培法の確立を目的とし次の二つの研究を行った。

i) 圃場直播栽培における1年生植物の生育、収量
53年8月温室内で採種したものを54年3月6日より

7月6日まで約10日ごとに70cm×50cm間隔で点播し、その後生育を調査した。収穫は10月4日に行った。

播種の適期は5月中旬～6月上旬のようである。発芽後間もなく枯死するものが多く、これが栽培上の問題点の一つであることが確認された。開花は8月中～下旬に始まったが、本年度は結実のみられなかった。しかし上記の発芽後の枯死が防がれ開花始めが7月下旬になれば結実の可能性は十分あると思われる(次項ii参照)。6月中旬ごろまでに発芽すれば1株平均50～60gの収葉量(風乾)が得られるようである。

ii) 圃場移植栽培での寒冷紗被覆が結実並びに生育全般に及ぼす影響

無処理区では8月中旬より結実が始まり、9月中旬ごろまで続いたが、寒冷紗被覆区では開花はみられたが、結実は全くみられなかった。無処理区では結実期に主として蛾、一部蜂が花に集まることが観察されたので、無処理区での結実は虫媒によるものと思われる。無処理では供試6個体が全部生育したが、寒冷紗被覆区では生育中1個体が枯死し、残る5個体についても植物体各部位の生育が著しく阻害され、本植物は遮光の影響を著しくうけることが認められた。

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3年生植物の生育、収量について研究した。代表的個体の平均収量は3年生は2年生にかなり優っていたが、収量は個体によるバラツキが多い上、降雨などその時の気象条件によって著しく異なるので、株令による差とみなしてよいかどうかは検討を要する。一定面積当たりの収量に関しては、3年生は枯死株が多くなるため2年生に比べて減少する結果となった(2年生の約90%)。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 堀 越 司
前場長 大 野 忠 郎

概要 本年の気温は平年に比し、1、2月はやや高目でもケンの生育も順調であった。3月上旬から4月上旬には平年よりも降雨の日が多く、晩霜の被害もなかった。その後病害の発生も少なく、天候の回復に伴いケンの薬剤散布も4月中下旬の2回であった。5月に入り気温も上昇し雨量も少なく、ケンの採汁は比較的容易であった。7、8、9月は平年並であったが、8月上旬に台風1回、9月29～30日には台風16号に見舞われ(風速

40m、当场記録)場内の樹木は倒れ、庁舎をはじめ宿舎、肥料舎、アヘン倉庫、ガラス室などの瓦、種、ガラスなどの飛散、雨漏りなどの大被害を受けた。10、11、12月は平年並であったが、10月には場長の交替があり、業務や作業などに多少の変更を来すとともに、場内の環境整備に追われた。

業務成績

1. 薬用植物栽培質疑応答……43件
2. ケンその他種入手……33件 203種
配布……14冊 50冊
3. 植物調査 オウレン、コセリバオウレン、ヤマアイ、オトギリソウ、ヤマゴボウ、テンダイウヤク、コバノイチヤクソウ、ナルコユリ、サフラン、アミガサユリ、アサクラサンショウ、キハダ。
4. ケン耕作者栽培講習会 香川県(1979.10.4～5)

研究業績

1. ケンに関する試験

目的：優良系統の育成、栽培法の改良、栽培技術の保存並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) 品種及び系統保存並びに特性調査

目的：各地の品種及び系統を栽培し、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：69系統を栽培し、全系統を採種することができ、保存の目的を達した。

ii) 系統選抜

目的：栽培地から観察によって優良な系統を選抜し、その生産力を検定する。

内容：選抜した系統はすべて一貫種に比し、アヘン及びモルヒネ収量が多く、南広3号はモルヒネ収量10a 671.5g、英田町水田及び作東町畑作は、アヘン収量10a 5kg以上といずれも優良系統であることを示した。

iii) 一貫種個体選抜系統の検定

目的：一貫種の個体選抜によって得た系統について生産力を検定する。

内容：本年は採汁期の天候に恵まれ戦後最高の収量であった。系統5609は10aアヘン収量5.67kg、モルヒネ含量13.87%、モルヒネ収量702.8gであり、戦後の全年全系統を通じて最高であった。系統5610、5614、5627も優秀な成績であった。

iv) 早生型育成交配系統の選抜検定

目的：愛知系統と一貫種との交配により得た系統について生産力を検定し、早生で多収の系統を育成する。

内容：早生一貫1号は、アヘン収量10a 4879kg、モルヒネ収量10a 581.1gで史上第2位の高収量であ

った。

v) 耐病性育成交配系統の選抜検定

目的：トルコ系統と一貫種との交配により得た系統について、耐病性で多収の系統を育成する。

内容：系統 $I \times T_3$ 1-1-1-2-2-5 は 10 a アヘン収量 5329 kg, モルヒネ含量 12.27%, モルヒネ収量 653.9 g で、耐病性系統育成以来の最高収量であった。

vi) 耐寒性育成交配系統の選抜検定

目的：トルコ系統と一貫種との交配により得た系統について、耐寒性で多収の系統を育成する。

内容：系統 $I \times T_6$ 1-1-1-2-5-2 は、10 a アヘン収量 5367 kg, モルヒネ含量 13.12%, モルヒネ収量 704.2 g でこれまでの最高収量であった。モルヒネ収量からみると、一貫種に比して 2~50% の増収を示し、他の 7 系統も 20% 以上の増収であった。

vii) 採汁時期試験

目的：採汁時期の変化が、収量品質に及ぼす影響について調査する。

内容：開花後 3 日からアヘン及びモルヒネ収量は、採汁時期が遅れるにしたがって次第に増加し、開花後 12 日 (5 月 19 日) 採汁開始区が最高となり、その後やや低下する傾向が認められた。

viii) 採汁方法試験

目的：切取法と宵切朝掻法を比較して、労力関係について検討する。

内容：宵切朝掻法が、切取法に比し、アヘン収量、モルヒネ収量ともに優れていた。

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、現在市販されている代表的な農薬の効果について比較する。

内容：モルヒネ収量は無処理区に比し、ボルドー区、オーソサイド区はともに少なく、その他の処理区は多く、特にラビライト区、マンネブダイセン区、ジュネブダイセン区などが多かった。

x) 早生多収型育成交配 F_4 の検定

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：45 系統を播種し、いずれも生育良好で収量も多かった。 F_2, F_3, F_4 の平均を比較したが、アヘン収量、モルヒネ収量では系統間に有意差は認められないが、モルヒネ含量では極めて高い有意差が認められた。

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 月上旬 (開花期) の平均最高気温が、アヘン収量と最も有意の偏相関を示し、降水量がこれに次

いでいる。モルヒネ収量も同様の傾向を示した。5 月下旬 (採汁期) の日照時間、降水量、温度、雲量などはモルヒネ含量、モルヒネ収量に有意の相関を示す。即ち開花期の最高気温と降水量、採汁期の日照時間がアヘン収量及びモルヒネ収量に影響することが確認された。

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種子の増殖をはかる。

内容：耐病性 1 号は、1463 kg, 耐寒性 1 号は 1573 kg の種子を採取した。

2. アサ (大麻)

目的：系統保存と鑑定資料とする。

内容：12 系統を播種育成し結実したので、採種し保存の目的を達した。

3. ミンマサイコ

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：生育収量ともに処理区のクロロ IPC, トレフアノサイドが無処理区に比し若干優る傾向を示した。

ii) 肥料三要素試験

目的：肥料三要素が生育収量に及ぼす影響を明らかにする。

内容：発芽不良のため個体差が大きく、比較検討は困難であったが、完全区に比しリン酸単用、カリ単用、カリ欠乏区などは生育収量の劣る傾向が認められた。

4. オウレン

目的：当地方における栽培法の確立

内容：生育 6 年目と 3 年目を掘り上げ生育収量を比較した。6 年目は生育収量ともに優り経済年数に達していることが認められた。

5. ハカマオニゲン

目的：栽培法の確立

内容：生育は WG-1 が他の系統より劣ることは昨年同様であるが、収量は 1975 年播種の UNB-21 が最も多く、1976 年以後播種のものは果実収量 10 a 4~82 kg で少なかった。

6. ハブソウ (春日部試験場に協力)

目的：選抜系統の特性調査

内容：9 月 29~30 日の台風 16 号の被害により中、晩生は調査不能となり、早生との比較はできなかった。

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 高 城 正 勝

概要 9月30日に16号台風が接近し停滞したため、試験植物及び家屋が思わぬ被害を受けた。30日午前3時、瞬間最大風速 47.6 m/s を記録し、台風による雨量も 500 mm を超えた。10月中旬には20号台風の接近通過で、風速はさ程強くはなかったが、台風風だったため塩害による葉の脱落が目立った。年間雨量は 2830.2 mm、日照時間は 2514.0 であった。

栽培試験はトウスケボウフウに重点をおき、ウコン、ミシマサイコ、ニッケイ、ハズ、ウィタニア・ソムニフルラ、パチュリーなどについて行い、系統保存及び展示栽培としては *Rauwolfia* 属植物、ガジュツ、クミスクチン、ココ、キナ及びステビアなどであった。

特にミシマサイコについては昨年同様、種子の分譲依頼及び栽培指導の要望が多く、文書による回答18件、口答によるもの30件を超えた。

交換用種子は30種採集し、自生植物の採集調査は島内全域において実施した。

研究業績

1. トウスケボウフウ

i) 種子の低温処理試験

目的：種子の休眠期の有無並びに取播きの可否を明らかにし、暖地における栽培法を確立する。

内容：供試種子は53年10月に採種した長野産で、処理温度は 1~2°、処理日数は 0~30日間、無処理から30日間処理まで10区を設けた。1a (10×10m) の試験圃場に53年11月18日に条播した。

12月11日処理区、無処理とも一斉に発芽を開始した。風乾根重は8月収穫の健全株が1株平均 5.59 g、11月収穫が 4.65 g であった。10a に換算すると8月収穫が計 140.418 kg、11月収穫が計 97.423 kg であった。

ii) 寒冷紗被覆栽培試験

目的：寒冷紗によってしゃ光した場合の生育及び収量を調べ、普通栽培と比較して暖地における栽培法を確立する。

内容：供試種子は54年1月に入手した長野産で、3月1aの圃場に条播した。

発芽は良好で4月12日に開始。

生育は寒冷紗区が普通栽培区よりやや優れていたが、これはしゃ光率50%の寒冷紗により徒長したものと考えられる。

風乾根重は寒冷紗区が1株平均 1.97 g、普通栽培

区が 3.23 g で根長はそれぞれ 37.87 cm、45.7 cm を計測した。

寒冷紗栽培では枯死株が減少したことが明らかであるが、収量の点では普通栽培に比して劣っていることが認められた。

iii) 挿木試験

目的：九州南部における栽培法の確立。

内容：種子島においては不稔の傾向が見られるので、繁殖は挿木によらねばならない。本年は根挿試験を実施した。

供試根は直径 8.9 mm のものをL区、5.24 mm のものをM区、2.82 mm をS区とした。長さは3 cm に切って砂土及び培用土混入砂質壤土挿しとし、53年12月6日に箱挿しとした。

ほう芽率はL区が75.8%、M区砂挿しが82.3%、M区の培用土混入砂質壤土挿しが75.0%、S区砂挿しが最高で91.4%、S区培用土混入砂質壤土挿しが78.1%という成績を得た。

根挿しによる収量は 10m 圃場1条の風乾根重は平均 810.86 g、10a 当たり 137.846 kg であった。

2. ウコン

i) 土壌試験

目的：栽培法の確立

内容：土壌は砂質壤土、火山灰土、埴壤土の3種類を用い54年4月3日2千分の1aポットに植付けた。種ウコンの重量は1箇 47.1~48.8 g のものを用いた。

収量は埴壤土区が最高で平均 263.5 g、次いで砂質壤土区が 245.2 g、最低は火山灰土区で 174.7 g を計量した。10a 当たりの生体収量は埴壤土区が 1422.9 kg、砂質壤土区 1324.08 kg、火山灰土区が 944.46 kg で風乾収量はそれぞれ 342.144 kg、298.404 kg、201.528 kg であった。

ii) 植付けの深さが収量に及ぼす影響

目的：栽培法の確立

内容：覆土の深さは 0, 5, 10 及び 20 cm の4区とし、各区とも 1/10a の圃場に54年5月15日に植付けた。

収量は 10 cm 区が 14.60 kg、次いで 20 cm 区 12.033 kg、5 cm 区が 11.744 kg、最低が 0 cm 区で 7.977 kg であった。10a 当たりの換算収量は生体重 10 cm 区が 1592.946 kg、20 cm 区 1353.672 kg、5 cm 区が 1321.164 kg、0 cm 区が 897.372 kg であった。

ウコン栽培においてもガジュツ同様、ある程度の深植栽培が浅植より多収穫が得られることが認められた。

3. ミシマサイコ

i) 種子の寿命に関する試験

目的：栽培法の確立

内容：供試種子は53年10月6日～11月25日に完熟した種子を採集し、54年5月15日から15日毎に鉢に播いた。

発芽率は5月15日区が71%、5月30日区が56%、6月15日区が44%、6月30日区が5%、7月15日区が2%という成績であった。

本試験によりミシマサイコ種子は7月に入ればその寿命が完全に消失することが認められた。したがって実際栽培に当たっては5月までに播種せねばならないことがわかり、しかも5月播種の場合は適正播種量の2倍量を播種せねばならないことも判明した。

ii) 火山灰土壌における磷酸肥料の肥効試験

目的：栽培法の確立

内容：試験区は無磷酸区、3要素区、3要素+磷酸2倍区、同3倍区、同4倍区の5区を設けた。5千分の1ワグナーポットを用い、各ポット当たり種子30粒を54年3月30日に播種した。

風乾主根重はNK区が0.38g、NKP区1.27g、NK2P区1.09g、NK3P区0.87g、及びNK4P区が1.28gであった。

本試験によりミシマサイコを火山灰土壌で栽培した

場合、地下部収量は無磷酸区において他区に比して最も低い結果であった。また磷酸質肥料の多施も有意差が認められなかった。

4. ウィタニア・ソムニフェラ

i) 種子島における生育の適否試験

目的：種子島における栽培の可否を調べ栽培法を確立する。

内容：本葉4～5枚の苗を54年4月23日に植付けた。草丈は7月25日に最高104.7cmに達し、葉数は410.3枚に、枝張り85.4cmに、花序数は57.8箇、果実数547箇を数えた。

種子島における地上部の生育は良好といえる。

1株の平均主根重は135.9g、乾燥根重は41.0gであった。

5. パチュリー

i) 肥料試験

目的：種子島における生育を調査し、栽培法を確立する。

内容：試験区は8区設け、54年4月11日に2千分の1アールポットに1株ずつ植付けた。

肥料による各区の有意差は認められなかった。種子島においては栽培が可能であり、収穫は8～9月が適期であると考えられる。

1 Syntheses of 4-(3-Cyano-1-triazeno) pyridines and Related Compounds

Masayuki TANNO and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 1824 (1979)

4-azidopyridine 類とシアン化カリウムを反応させて 4-(3-cyano-1-triazeno)pyridine のカリウム塩(I)とし、更に塩酸で酸性にして 4-(3-cyano-1-triazeno)pyridine 誘導体を単離した。合成した種々の(I)をヒドロキシルアミンの塩酸塩と反応させると、4-[3-(N²-hydroxyamidino)-1-triazeno]pyridine 誘導体が得られ、また、アンモニアの存在下で硫化水素と反応させると、4-(3-thiocarbamoyl-1-triazeno)pyridine 誘導体を得られた。一方、(I)をジメチル硫酸でメチル化すると相当する 4-(3-cyano-1-triazeno)-1,4-dihydropyridine 及びその N オキソド体が生成した。このジヒドロピリジン類をヒドロキシルアミンの塩酸塩と反応させると 4-[3-(N²-hydroxyamidino)-1-triazeno]-1,4-dihydropyridine が得られた。また 4-[3-(ethoxycarbonyl)-1-triazeno]-pyridine 1-oxide は、4-(3-cyano-1-triazeno)pyridine 1-oxide のカリウム塩を少量の塩酸を含むエタノール中でエステル化することにより合成できた。これに対して、エタノール・塩酸中、2-ナフトール、あるいはジフェニルアミンと加熱すると、arylazo 体に誘導できた。

2 Antitumor Effect of Pyridine N-Oxides having 1-(2-Chloroethyl)-1-nitrosoureidoalkyl and 1-Methyl-1-nitrosoureidoalkyl Groups

Michiko MIYAHARA, Shozo KAMIYA, Akihiko MAEKAWA and Shigeyoshi ODASHIMA: *Gann*, 70, 731 (1979)

1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソウレイドアルキル基あるいは 1-メチル-1-ニトロソウレイドアルキル基を有するピリジン N-オキサイド誘導体は AH-13 腹水肝癌と L-1210 白血病に効力を示した。その中で 1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(2-ピリジルメチル)ウレア N-オキサイド(1)とそのトシル塩(2)、1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(2-ピリジルエチル)ウレア N-オキサイド(4)、及び 1-(2-クロロエチル)-1-ニトロソ-3-(3-ピリジルメチル)ウレア N-オキサイド(6)は、両腫瘍に対して ip-ip 系において有効であった。これらの化合物は ip-iv と ip-po 系においても L-1210 に対して有効であった。一方、1-メチル-

1-ニトロソウレイドアルキル基は AH-13 に対してはすべて無効で、L-1210 に対しては少し有効であった。

赤芽球性白血病 EDEN-5 担癌ドブリュウラットへの赤血球と抗腫瘍結果もテストした。(1),(2),(4),(6)は白血球減少をおこし、(4)の化合物だけが僅かに EDEN-5 に対して有効であった。

3 Syntheses of 4-(3-Cyano-1-triazeno)pyridazine 1-Oxides and Related Compounds

Shozo KAMIYA and Masayuki TANNO: *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 529 (1980)

種々の 4-(3-cyano-1-triazeno)pyridazine 1-oxide (I) 類、3,6-dimethyl-4-(3-cyano-1-triazeno)pyridazine 2-oxide (II) 及び 6-(3-cyano-1-triazeno)tetrazolo[1,5-b]pyridazine (III) は相当するアジド体にシアン化カリウムを反応させてカリウム塩を単離し、このカリウム塩を塩酸で処理することにより合成した。これらカリウム塩をエタノールと塩酸の混合液中で加熱すると、pyridazine 1-oxide や、3,6-dimethylpyridazine 1-oxide が生成したが、塩酸だけでは相当する 4-chloropyridazine 1-oxide と 4-aminopyridazine 1-oxide が得られた。一方、(I)及び(II)のカリウム塩にヒドロキシルアミンの塩酸塩を反応させると、それぞれ 4-[3-(N²-hydroxyamidino)-1-triazeno]pyridazine 1-oxide、3,6-dimethyl-4-[3-(N²-hydroxyamidino)-1-triazeno]pyridazine 2-oxide が単離された。また、azourethan である 3,6-dimethyl-4-[3-(ethoxycarbonyl)-1-triazeno]pyridazine 2-oxide や、azourea である 6-(3-cyano-1-triazeno)tetrazolo[1,5-b]pyridazine は相当する cyanotriazene より得られた。更に arylazopyridazine 1-oxide や、その 2-oxide は、(I)や(II)のカリウム塩を 2-ナフトール又はジフェニルアミンの存在でエタノール・塩酸中で加熱させることにより合成した。

4 高速液体クロマトグラフ法による混合製剤の分析 (第5報) 総合感冒剤中の解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の高速液体クロマトグラフィーによる定量

立沢政義, 松田りえ子, 小宮卓二, 江島 昭: *衛生化学*, 25, 279 (1979)

高速液体クロマトグラフィーによる感冒剤中のアセトアミノフェン、エトキシベンズアミド、カフェイン及びマレイン酸クロルフェニラミンのじん速定量法を

確立した。アセトアミノフェン、エトキシベンズアミド及びカフェインは製剤よりメタノール抽出を行い日立ゲル 3011 (50 cm×3 mm) を充てん剤とし、メタノール-28%アンモニア水 (99:1) を用い波長 280 nm で測定し、ピーク高さ法により定量する。またマレイン酸クロルフェニラミンは、同じ充てん剤を用い、アセトニトリル-28%アンモニア水 (99:1) で波長 225 nm で測定し、定量する。

5 高速液体クロマトグラフィーによる混合製剤の分析 (第6報) 解熱鎮痛剤配合製剤の高速液体クロマトグラフィーによる定量

立沢政義, 松田りえ子, 小宮卓二, 江島 昭:
衛生化学, 25, 284 (1979)

高速液体クロマトグラフィーによるアスピリン, アスピリンアルミニウム, サリチル酸, アセトアミノフェン, アミノピリン及びスルピリン配合剤の定量法を確立した。

錠剤はメタノール抽出により、また坐剤は温時メタノールと振り混ぜ冷後遠心分離により基剤と分離し定量する。アスピリンアルミニウムはメタノール-リン酸 (100:1) を加え温時 (50°) 分解しアスピリンとして抽出する。アスピリン, アスピリンアルミニウム及びアセトアミノフェンは、日立ゲル 3011 を充てん剤とし、メタノール-酢酸 (99:1) 用い、波長 280 nm で測定し、定量する。アスピリン及びアスピリンアルミニウム中のサリチル酸は、同じ条件で波長 310 nm で測定し、定量する。アミノピリン及びスルピリン配合剤は、同一充てん剤を用い、メタノール-28%アンモニア水 (99:1) で波長 280 nm で測定し、定量する。利酸剤配合のアスピリン製剤は、メタノール-リン酸 (100:1) を用いて抽出することによりアスピリンの分解を防止出来る。

本法により錠剤及び坐剤中の解熱鎮痛剤の迅速分析が可能となった。

6 ガスクロマトグラフィーによる製剤の定量分析 (第5報) ルビジウムアルカリフレイム検出器を用いた総合感冒剤中のマレイン酸クロルフェニラミン及び塩酸メチルエフェドリンの微量分析

鯉淵昌信, 江島 昭: 衛生化学, 25, 295 (1979)

総合感冒剤に微量に配合されている抗ヒスタミン剤マレイン酸クロルフェニラミン (CP-M) 及び鎮咳剤塩酸メチルエフェドリン (ME-HCl) の GC による簡易分析法について、ルビジウムアルカリフレイム検出器

を用いて検討した。CP-M と ME-HCl の処方量はそれぞれ、0.4~1.5 mg, 2~5 mg である。AFID (RbCl) は窒素含有化合物に特に感度が高く、40 ng CP-M をベースラインのドリフトやノイズなしにフルスケールピーク高さの30%で容易に検出することが出来た。各々の塩基化合物を内標として含むベンゼンでアルカリ溶液から抽出し、そのベンゼン層 (1.0 μl) をガスクロに注入した。内標として N-ブチリル-*o*-トルアミド (ME-HCl 分析用)、ジフェニルピラリン (CP-M 分析用) を用いた。ノスカピンが処方されている場合には水酸化ナトリウム溶液中で 50°, 30 分間加熱し、ノスカピンを分解したのち、ベンゼンで抽出を行った。

7 ガスクロマトグラフィーによる製剤の定量分析 (第6報) 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

鯉淵昌信, 江島 昭: 衛生化学, 25, 301 (1979)

クロフィブラートカプセル中の不純物 *p*-クロルフェノールのガスクロマトグラフィーによる簡易分析法について検討し次の結果を得た。

1. パラベン類が共存する場合の *p*-クロルフェノール (PCP) の分析諸条件を検討した結果、JP 法のようにクロフィブラート及びパラベン類との分離の必要もなく、共せん試験管内でジエチルリン酸エステル化、続いて試薬の除去を行う迅速でしかも精度よく分析できる方法を作成した。
2. 検出器に FPD 又は FTD (RbBr) を用いることにより、微量の PCP を検出がきるため、検体量も 0.25 g と少なく、いずれの検出器を用いても C.V. は 0.56% と良好な結果が得られた。
3. 本法は微量のパラベン類の分析にも利用できる。

8 Stability of Sulpyrine. V. Oxidation with Molecular Oxygen in the Solid State

Sumie YOSHIOKA, Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 2363 (1979)

固体状態のスルピリンの分解反応を酸素ガス中、80° で速度論的に検討し、その反応機構の考察を行った。

スルピリンの分解反応の初速度は水の量に比例した。固相が存在する飽和溶液ではゼロ次、それ以上の水の存在下では見掛けの一次反応であった。

スルピリンは 4-methylaminoantipyrine (MAA) に加水分解され、その MAA が水中でより多く酸化される過程を提案した。固相が存在するスルピリンの飽

和溶液での MAA の分解反応は一次であり、その速度定数は低濃度のスルピリン溶液中での結果と一致した。

分解反応生成物として、aminopyrine (Am), 4-aminooantipyrine (AA), 4-formylaminoantipyrine (FAA) 及び 4-formylmethylaminoantipyrine (FMAA) が得られ、Am と AA は MAA からメチル転移によって、一方、FAA 及び FMAA はそれぞれメチル基の酸化によって中間体を経て MAA 及び Am から生成した。

9 固形医薬品の安定性試験への拡散反射スペクトル法の応用

吉岡澄江, 木村克己, 緒方宏泰, 柴崎利雄, 江島 昭: 薬剤学, 39, 75 (1979)

固体状態の医薬品の着色化及び分解の研究に拡散反射スペクトル法 (DRS) の利用方法を検討し、これを固形医薬品製剤の安定性の試験に適用し、安定性の一次的スクリーニングのための簡易試験法に適用できることがわかった。

80°, RH 61% 下のアスコルビン酸-乳糖系 (2%, w/w) の着色化は DRS により初期からかなり進んだ Remissin 関数 (R) 約 0.7 までの広範囲の測定ができた。この結果は色差法, 吸光光度法 (水溶液として測定) と部分的に一致した。即ち、色差法では R が 0.1 以上では検量性がなく、吸光光度法では初期の変化を測定することが出来なかった。

またフェニルブタゾン, 塩酸チアミン, アスコルビン酸の各 2% w/w を含む乳糖からなる錠剤の紫外域の変化を DRS を用いて測定した。固体表面のフェニルブタゾンの分解は溶媒抽出液につきガスクロマトグラフィーを行った結果より感度よく検出できた。

10 Comparative Studies on Eight Dissolution Methods Using 21 Commercial Chloramphenicol Tablets and a Nondisintegrating Benzoic Acid Tablet

Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, Tetsuo INOUE and Akira EJIMA: *J. Pharm. Sci.*, 68, 708 (1979)

21の市販クロラムフェニコール糖衣錠と非崩壊性の安息香酸錠を用いて8種の溶出試験法(ビーカ法, 回転バスケット法, 崩壊試験器準用法, solubility simulator 法, 回転フラスコ法, カラム法)の評価を行った。それぞれの方法の相対的攪拌強度は安息香酸錠からの安息香酸の0次溶出速度定数の比較により求めた。

又、クロラムフェニコールの溶出速度 (lag time, T_{20} , T_{50} , T_{80}) 間の相関係数を求めた。6種の溶出試験法間で lag time に有意な関係が認められ、しかもその回帰直線はほぼ原点を通った。このことより、回帰直線の勾配は糖衣の被膜に対するそれぞれの溶出試験法の相対的な破壊強度を示した。4つの溶出速度でのそれぞれの相関性を検討した結果、7種の溶出試験法が2つのグループに分けられることがわかった。この分類は攪拌方法に基づく分類とよく一致した。しかし、同じグループ内に属する方法間においても互換性は認められなかった。

11 Dissolution Systems for Chloramphenicol Tablet Bioavailability

Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, Tetsuo INOUE and Akira EJIMA: *J. Pharm. Sci.*, 68, 712 (1979)

クロラムフェニコール錠の bioavailability と *in vitro* 溶出速度との関連性について検討を行った。また、その bioavailability に対する食事の影響も合わせて検討した。18の市販クロラムフェニコール (250 mg) 錠の溶出速度を種々の方法で求め、それらの値から、5銘柄を bioavailability 試験の試料として選んだ。5人の被験者に一晚絶食後、500 mg 相当量を経口的に服用させた。実験はクロスオーバーで行い、尿中排泄量を求めることにより、bioavailability の各パラメーターを得た。試験した5試料のうち、1つの試料(錠剤F)のみが有意に悪い bioavailability を示した。pH 1.2 で求めた溶出速度は bioavailability とは相関性を示さなかった。特に錠剤Fの溶出速度は pH 依存性が大きく、pH 4~7 で極端に遅い値を示した。*in vivo* と良好な相関性を示す *in vitro* のパラメーターは pH 4 で求めた溶出速度であった。また、標準食をとった直後に試料を服用すると、錠剤Fの bioavailability は改善されることがわかった。

12 Studies on Dissolution Tests of Solid Dosage Forms. IV. Relation of Absorption Sites of Sulfonamides administered orally in Solid Dosage Form to Their Solubilities and Dissolution Rates

Hiroyasu OGATA, Toshio SHIBAZAKI, Tetsuo INOUE and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 1281 (1979)

サルファ剤裸錠のヒトでの経口服用後の吸収部位とそれらの溶解度, 溶出速度との関連性について検討を

行った。8種のサルファ剤、スルフイソミジン、スルファメトキシピリダジン、スルファメチゾール、スルファメキサゾール、スルフイソキサゾール、スルファモノメトキシン、スルファフェナゾール、スルファジメトキシンを用いた。胃内容排泄時間のマーカーとして、腸溶アスピリン錠の同時服用後の総サリチレート尿中排泄の lag time を用いた。胃内で溶解・吸収された相対的な薬物量を表わすパラメーターとして RAAS を提案した。RAAS と溶解度、溶出速度との間の相関性を検討し、次の結論を得た。1) 吸収部位を分ける臨界溶解度は 3 mg/ml (0.1N 塩酸) である。2) この臨界溶解度より大きい溶解度を持つ薬物は酸性条件で、小さい溶解度を持つ薬物は、酸性条件での前処理の後、中性条件で、それぞれ溶出速度を測定すべきである。

13 向精神剤の微量分析法に関する研究 microcrystal test について

大野昌子：日法医誌, 33(4), 339 (1979)

生体からの複雑な試料、あるいは薬物であってもほとんどが偽和物、混和物を含み、量的にも限られ、情報も不足する試料の鑑識手段としての microcrystal test の有用性を明らかにした。

本法の利点は(1)従来の crystal test と同じく、操作が容易、迅速、簡便である。(2)特異性とすぐれた鋭敏度がある。(3)2種以上の結晶形成用試液の選択によって、1 µg の未知物質の鑑定に確実性をもたせることができる。(4)置換基を異にする類縁体の判別法として適用できる。(5)再現性の点でもすぐれ、観察結果を記録あるいは写真で保存しておけば、毎回対照として標準品を使用する必要がない。(6) TLC と併用し、更にスポットから抽出したものを試料とすることができるので、本法のために余分の試料を必要とせず、限られた試料の鑑識結果の信頼性を一層高めることができるなどである。

試料としては、1971年向精神剤に関する条約の別表に掲げられた薬物のうち、不正取引、使用の可能性が大きく、鑑識法が確立されていないものを主としてとりあげ、適用についても説明を加えた。

14 トリメチルシリル化グルココルチコイドのガスクロマトグラフィーによる定量

徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良：薬誌, 99, 800 (1979)

従来のトリメチルシリル化法を改良し、デキサメタゾンなど5種のグルココルチコイドをガスクロマトグラ

フ法 (GC) により定量した。フルオシノロンアセトニドの場合は、5~50 µg をとり、内部標準のコlesteroール 5 µg を加え、酢酸ナトリウム 5 mg を含む N, O-bis(trimethylsilyl)acetamide 又は N, O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide 0.2 ml に溶かし、60~80° で2時間加熱した液 2 µl を GC に用いた。デキサメタゾン、トリアムシノロンアセトニド、コルチゾン、コルチコステロンの場合には、上と同様に操作した液 20 µl をとり、窒素気流で乾固し、残留物を四塩化炭素 40 µl に溶かし、その 2 µl を GC に用いた。この方法によりデキサメタゾン錠を定量し、テトラゾリウム法と同一の結果を得た。また GC-MS 法により、デキサメタゾンがテトラトリメチルシリル化体となっていることを証明した。

15 ピロールによるコルチコイドの定量 (第3報) ヒドロコルチゾン、プレドニゾン及びコルチゾンのけい光定量

徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良：薬誌, 100, 200 (1980)

ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、コルチゾンを酢酸銅で酸化して 21-アルデヒド体とし、次いでピロールと反応させると発けい光物質が生ずることを利用して、これらのグルココルチコイドの新しいけい光定量法を確立した。これら3種のコルチコイドの酢酸エステルも、発けい光反応に先立ってアルカリ水解することによって同様にけい光定量することができた。ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、コルチゾンでは 1.25~12.5 ng/ml、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸プレドニゾン、酢酸コルチゾンでは 2.5~30 ng/ml の濃度範囲でそれぞれけい光強度との間に直接関係が認められた。また本法は軟膏及び眼軟膏中のこれらのコルチコイドを精度良く定量することができた。その定量値は従来のブルーテトラゾリウム法、INAH 法による定量値とほぼ同一であった。

16 Stabilization of 20β-Hydroxysteroid Dehydrogenase by Glycerol

Tsuyoshi TANIMOTO, Takao HAYAKAWA and Jiro KAWAMURA: Chem. Pharm. Bull., 28, 314 (1980)

20β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素は結晶状態では安定であるが、溶液状態では短時間のうちに活性の一部を消失した。本酵素の溶液状態での失活は、中性及びアルカリ性側 pH よりも酸性側 pH で速やかに生じた。また本酵素はローズベンガルによっても失

活した。酸性側 pH やローズベンガルによって生じる本酵素の失活は、グリセリンの添加によって阻止された。更に pH 5.5 で失活した酵素は20%グリセリンを添加することによって、その活性を完全に回復した。グリセリンによる本酵素の安定化の機構についても考察した。

17 Steroid-Protein Interaction: Substrate Specificity of 20 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase

Jiro KAWAMURA, Takao HAYAKAWA and Tsuyoshi TANIMOTO: *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 437 (1980)

Pregnan-20-one 骨格をもつ64種のステロイドに対する20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素の反応性を検討した。3位, 11位に大きな置換基をもつステロイドは基質となるが, 21位や17位に大きな置換基が導入されると基質とはならず, また3位, 6位, 9位, 11位, 17位, 21位などにメチル基や水酸基などの小さな置換基をもつステロイドは基質となるが, 16位にこれらの置換基が存在するとほぼ完全に反応性を消失した。更に, 4¹, 4¹⁴, 4⁵の導入は反応性にあまり影響を与えないが, 4¹⁶の導入は基質としての反応性を著減した。このことから, 20-オキソ基周辺における置換基の有無やその性状が酵素の触媒部位とステロイドとの相互作用に重要な役割を果たし, またステロイド環平面と17位側鎖との立体配座関係が酵素によるステロイドの認識に大きく関与していると推察した。一方, 16 β -methylprogesterone は基質, 補酵素の両者に対して拮抗的阻害を示し, 更に16 α -methylprogesteroneを基質にしたときのNADHに対する K_m は, progesterone や cortisone を基質にしたときのNADHに対する K_m より高いことから, 酵素・補酵素・基質複合体において, ステロイドの16位に対置した酵素上の部位に補酵素が位置することを推定した。

18 Structural Requirements in 20-Oxo-steroids for Interaction with the Catalytic Site of 20 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase

Takao HAYAKAWA, Tsuyoshi TANIMOTO and Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.* 28, 730 (1980)

17位, 21位に水酸基をもつステロイドと20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素との相互作用を反応動学的に検討し, 酵素の触媒部位と20-オキソ基との相互作用における17位, 21位の水酸基の役割について考

察した。21位への水酸基の導入効果は17 α 位の水酸基の有無に影響され, 17-deoxy 体では V_{max} の著減と K_m の微増がみられ, 17 α -hydroxyl 体では V_{max} はほとんど変化せず, K_m の微増のみがみられた。17 α 位への水酸基の導入効果は21位, 11位の置換基に影響され, 21-deoxy-11-deoxy 体では V_{max} が微減するのみであり, 21-deoxy-11-oxo 体では V_{max} の微減と共に K_m も減少し, また21-hydroxyl 体では V_{max} の増大がみられた。この結果から, 21位及び17 α 位の水酸基は触媒部位と直接反応する20-オキソ基の立体配座及び方向性を直接規制し, その水素授受の効率に影響するものと推定された。また, 11位のオキソ基は21位や17位の水酸基の導入効果に対して間接的に影響するものと推察された。更に, 酵素・補酵素・基質の三者複合体におけるステロイド分子の20-オキソ基の方向性についても考察した。

19 特集/ラジオイムノアッセイ(RIA)

RIAの応用 一薬剤一

城戸靖雅: 医学と薬学, 3, 39 (1980)

今日までに試みられた主な薬剤ハプテンのRIA例を示した。また, 薬剤ハプテンのRIA系の開発に際して, 免疫抗原及び標識化合物の合成などで, タンパク質抗原のRIAと相違するステップの手法を中心に, 実例に基づいて解説した。更に今日アメリカで入手できる薬剤RIAキットが紹介されている。

20 Characterization of Mutagenic Principles and Carcinogenic Test of Dill Weed and Seeds

Masamichi FUKUOKA, Kunitoshi YOSHIHIRA, Shinsaku NATORI, Kyoko SAKAMOTO*¹, Shigeo IWAHARA*¹, Shigetoshi HOSAKA*², and Iwao HIRONO*²: *J. Pharm. Dyn.*, 3, 236 (1980)

香辛料のなかでディル葉, ディル子(蒨蘿, *Anethum graveolens* と *A. sowa*)の水抽出物にAmes法で変異原性が認められたので, 水性メタノール抽出物についてTA98株でS-9による代謝活性化での変異原性を指標として, 溶剤による抽出・分配, Amberlite XAD-2, シリカゲルによるクロマト等を用いて変異原性物質の追究を行い, それがiso-hamnetin 3-sulfate(persicarin), quercetin 3-sulfateによるものであることを明らかにした。

ディル葉, ディル子を33%含む飼料をACI ratに各450日及び410日間投与したが, 有意な発癌性を認めることはできなかった

*1 食品薬品安全センター秦野研究所

*2 東京大学医科学研究所

21 **Chaetomium 及び関連属における chaetoglobosins, sterigmatocystins などの生産性の検索**

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*: マイコトキシン, 9, 20 (1979)

Chaetomium 属及びその関連菌 60 株についてマイコトキシンの検索を行ったところ, *C. globosum* Gruppe に属する *C. mollipilium*, *C. rectum*, *C. subaffine* に chaetoglobosins の産生が認められ, 一方, *C. thielavioideum* が chaetocin, eugenitin, sterigmatocystin, O-methylsterigmatocystin を代謝すること, *Farowia* sp., *Chaetomium* sp. にも sterigmatocystin を代謝するものがあることを明らかにした。

* 横浜市立大学医学部

22 **Interaction between Rabbit Muscle Actin and Chaetoglobosins or Cytochalasins**

I. Löw*, W. JAHN*, Th. WIELAND*, S. SEKITA, K. YOSHIHIRA, and S. NATORI: *Anal. Biochem.*, 95, 14 (1979)

我々が先に *Chaetomium globosum* の代謝産物として分離, 構造決定した chaetoglobosin A~J について既知の cytochalasins と比較して, ウサギ筋肉の G-actin に対する作用を検べたところ, その重合速度を促進するが, その生成物の粘度は対照より低く, 特に chaetoglobosin A, J, B について著るしかった。逆に F-actin にこれらを働かせると同様の程度まで粘度が低下した。F-actin に作用させると ATPase の作用が誘導されるがその強さと粘度の間には関係が認められなかった。これらの知見は cytochalasins, chaetoglobosins の培養細胞に対する作用が, microfilament の非筋糸収縮系に働いて起こるものであることを示している。

* Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, West Germany

23 **Application of Herbal Drugs to Health Care in Japan**

Shinsaku NATORI: *J. Ethnopharmacol.* 2, 65 (1980)

1979年4月2~6日, Rome で開催された WHO-Istituto Italo-Africano 主催の会合の講演の原稿で,

日本の伝統医学と生薬の利用の歴史, 現在の生薬・生薬製剤の規制と生産, 品質管理, 生薬学の研究・教育の状況を概説紹介した。

24 **Separation of Organotin Compounds by Usings the Difference in Partition Behaviour between Hexane and Methanolic Buffer Solution. Part I. Determination of Butyltin Compounds in Textiles by Graphite Furnace Atomic-absorption Spectrometry**

Shigeo KOJIMA: *Analyst*, 104, 660 (1979)

繊維製品よりトリブチル錫 (TBT) とジブチル錫 (DBT) を 0.05% の HCl を含むメタノールで還流して抽出し, 抽出液に pH 8.5 の緩衝液を加え (メタノール 40 ml に対し緩衝液 30 ml) ヘキサンで抽出すると TBT はヘキサン層に抽出され DBT は水層に残る。TBT を含むヘキサン層はアルミナカラムを通して TBT をアルミナに吸着させ, 少量のジクロロメタンで溶出し, 溶出液は乾固, 硝酸灰化後に原子吸光法で定量する。水層に残った DBT は 4-(2-ピリジルアゾ) レゾルンノールを含むジクロロメタンと振とうしてジクロロメタン層に抽出し, 液媒留去, 硝酸灰化後に原子吸光法で定量する。この方法によって分解による損失なしに TBT と DBT を分離定量することができた。

25 **輸入靴クリーム中の有機水銀化合物**

小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭, 靱 照雄*1, 佐藤洋子*2: *衛生化学*, 76, 8 (1980)

輸入靴クリーム (Dylon 社並びに Kiwi 社) より家庭用品の基準をこえる有機水銀を検出し, TLC, GC-MS 及び標品との IR, NMR スペクトル等を比較した結果, Dylon 社の靴用染色剤にはフェニル水銀が含まれており, また, Kiwi 社の液体靴クリームには 3-クロロ-2-メトキシプロピル水銀塩という特殊な有機水銀化合物が大量に含まれていることがわかった。

*1 東京都立衛生研究所

*2 横浜市衛生研究所

26 **大気中のホルムアルデヒド自動計測器の改良**

松村年郎, 樋口英二, 谷村頭雄, 山手 昇*, 亀谷勝昭: *日化*, 4, 639 (1980)

著者らが先に開発したホルムアルデヒド計によって得られる測定値は NO₂ によって負の影響が認められたので, NO₂ の影響を除外するために吸収発色部及

びプログラマー機構を全面的に改めた計測器を製作するとともに本計測器によって得られる測定値を評価するため、種々の共存ガスの影響、くり返し性及び他の測定法との比較測定などの性能試験を行った。その結果、NO₂、NO、SO₂、アルデヒド類及び O₃ 等の共存ガスの影響は認められなかった。また、0.04 ppm のホルムアルデヒドガスによるくり返し性は相対標準偏差で 2.3%、クロマトロープ酸法との測定値もよく一致し、本計測器はほぼ満足すべき性能を有していることが判明した。

* 日本薬業貿易協会

27 **ガスクロマトグラフ-熱エネルギー分析計による空気中のN-ニトロソジメチルアミンの定量**
松村年郎, 谷村顕雄, 樋口英二, 山手 昇*1,
坂田 衛*2: 日化, 10, 1410 (1979)

空気中の N-ニトロソジメチルアミン (N-NDMA) を Tenax GC を充てんした試料捕集管を用いて室温で捕集する。ついで、この試料捕集管を GC のキャリヤガス流路に接続したのち、加熱し、N-NDMA を脱離させ直接 GC-TEA で分析する方法を確立した。本法を室内外の空気中の N-NDMA の実測に適用した。その結果、N-NDMA は 9~560 ng/m³ の濃度範囲で、とくに室内濃度は外気に比べて高く、喫煙の影響が認められた。

*1 日本薬業貿易協会

*2 鳥津製作所

28 **化粧品用タール色素中の有機性不純物について**
大津 裕*1, 大西重樹*2, 矢崎 尚*3, 石渡徳子*4 狩野静雄: 日本化粧品技術者会誌, 14, 13 (1980)

色素中に ppb レベルで混在する可能性のある β-naphthylamine (β-NH₂) の定量法を設定した。色素試料からのエチルエーテル抽出は固/液抽出のため完全抽出は困難であったがスクリーニング法としてはほぼ満足のいく分析方法であると考えられる。高速液体クロマトグラフィー-けい光検出器による β-NH₂ の定量限界は、0.25 ng であり、本法では色素中 5 ppb 以上の β-NH₂ が定量可能であった。

α-NH₂ を代用標準として使用することによって、高速液体クロマトグラフィーでの β-NH₂ の溶出位置の決定が可能であり、けい光検出器での β-NH₂ の α-NH₂ に対する相対感度を 0.75 と定めることによって

定量が可能であった。したがって本法は今後、色素中に ppb レベルで混在する可能性のある β-NH₂ の定量法として実用的価値があるものと考えられる。

*1 (株)資生堂研究所 *2 鐘紡(株)化粧品研究所

*3 ポーラ化成工業(株)研究所

*4 (株)小林コーサー研究所

29 **多発性ポーエン病を伴った砒素角化症**

磯山勝男*1, 森嶋和子*1, 西脇宗一*1, 岩下恭三*2, 佐谷戸安好: 皮膚臨床, 20, 688 (1978)

56才の女性, 19才頃美容のため亜砒酸水を飲用, 40才頃より乾癬様皮疹が出現した。四肢に貨幣大までの大小の乾癬様・老人性角化腫様・脂漏性角化症様・色素性母斑様の皮疹が多発した。左下腿の乾癬様皮疹は紅色を呈し, 貨幣大の不規則形・角化性局面と成り, 痂皮・鱗屑を付着, 浸潤を認め, 手掌・足趾には鶏眼様皮疹が多発している。

手髪と左下腿の乾癬様皮疹の切除皮片を硫酸処理し, ジエチルジチオカルバミン酸銀法にてヒ素を測定するに, 対照と有意差を認めなかった。種々の臨床像を示す皮疹より生検を行い, 組織学的に 8 箇所 Powen 病を確認した。

*1 学校共済組合連合会, 関東中央病院

*2 岩下皮膚・泌尿器科医院

30 **日本の湖沼, 貯水池におけるかび臭の実態**

橋本徳蔵*1, 一戸正憲*2, 常泉 裕*3, 八木正一*4, 堀 春雄, 小野沢亨*5, 佐谷戸安好: 水道協会雑誌, 531, 30 (1978)

全国の貯水量 50000 m³ 以上の水道水源である湖沼・貯水池を対象にして, かび臭発生障害についてアンケート調査を行い (アンケート発生数 129, 回答 71%, 貯水池数 133, 浄水場数 136) 次の結果を得た。水源のかびの発生は昭和 30 年代に増え始め, 40 年代に急増した。その発生は貯水池築造の年代に無関係であり, 地理的には北緯 35 度以南, 標高 300 m 以下の地域である。貯水池の形状によりかび臭の発生が異なるが, U 字型貯水池等では全層に着臭し, V 字型では表層のみにつくことが多いのが認められた。水質的には循環期の無機窒素 0.3 ppm 以上, リン酸態リン濃度は 0.006 ppm 以上, pH 9.0 以上, DO 飽和率が 120% 以上の貯水池にみられる。かび臭発生池の藍藻類は, *Phormidium* や *Oscillatoria* の出現頻度が高く, 季節的には 5 月と 8 月に多く発生する。このかび臭に対し 76% の浄水場が脱臭処理を行っており, 55% が粉末活性炭処

理を行っていることを認めた。

- *1 川崎市水道局 *2 東京都水道局
*3 千葉県水道局 *4 大阪市水道局
*5 日本水道協会

31 茶煎液中ニッケルの化学形について

佐谷戸安好, 中室克彦, 松井啓子: 食衛誌, 20, 425 (1979)

飲用に供する茶の中に含まれるニッケルの化学形について検討を行った。茶葉中ニッケルの約89%は茶煎液中に移行し, 各種有機溶媒では抽出されない水溶性ニッケルの形で90%以上存在した。この水溶性ニッケルは Sephadex G-25 によるゲルろ過からニンヒドリンあるいはフェノール・硫酸陽性物質と結合して存在しており, 遊離ニッケルの形では存在しないことを示した。また, シリカゲルによる薄層クロマトグラフから, 主な結合物質はニンヒドリン及びフェノール・硫酸陽性の低分子物質であることを認めた。

32 研究所・病院廃水処理の基本的考え方

[I], [II], [III]

佐谷戸安好: 日刊薬事, 21, 1419 (1979)

大学, 自然科学研究機関は, 昭和49年水質汚濁防止法施行令の一部改正により, また病院廃水は, 昭和50年5月より特定施設に指定された。そのため研究所や病院廃水処理について次のような基本的事項と情報について述べた。

すなわち, 廃水規制に関する法的背景, 病院廃水と研究所廃水の特徴, 廃水処理の基本的考え方, 実験室廃棄物の収集, 廃水処理計画の立案, 生物学的処理法(活性汚泥法, コミュニティ・プラント, 浄化槽), 凝集沈殿法, 各種化学物質の処理装置と原理などである。

33 上水道と低沸点有機塩素化合物の問題

佐谷戸安好: 変異原と毒性, 7, 28 (1979)

わが国の水道は総人口の約88%を越え, 年間の河川, 湖沼などからの取水量は129.3億 m³ に及ぶが, その汚濁が著しく, 汚染物質中には PCB, フタル酸エステル, アクリルアミドモノマー, トリクロロエチレンやテトラクロロエチレンなどがみられる。また, 水質的には全国的に, かび臭問題が無視できず, その発臭の原因物質は, 放線菌, 藍藻類, 真菌類などから産生し, その代表的なものは, geosmin と 2-methyl isoborneol である。また, 最近の水道では低沸点有機塩素化合物の発生が問題となっており, これについてア

メリカ環境保護庁の対応策とその汚染調査結果などについて述べた。

34 低沸点有機塩素化合物の一般毒性・発癌性・突然変異性

佐谷戸安好, 安藤正典, 中室克彦: 変異原と毒性, 7, 65 (1979)

水道水中には400種以上の有機化合物が存在することが知られており, その中でも低沸点有機塩素化合物は塩素処理によって, 多量に生成することが明らかとなっている。このため, これら物質について, 総合的にその毒性を検討した。

まず, ハロゲン化炭化水素の急性毒性・亜急性・慢性毒性について明らかにした。次に, 発癌性については既往の文献を詳細に検討し, クロロホルム, プロモホルム, 四塩化炭素, 塩化ビニル, 1,1-ジブromoエチレン, トリクロロエチレン, テトラクロロエチレンに発癌性を有することを認めた。また, クロロホルム, 四塩化炭素, 1,2-ジブromoエタンに催奇形性があることを観察した。

更に, 33種のハロゲン化炭化水素について突然変異性を検討し, その全体像を把握した。またこれら化合物の代謝について共通点をみだし, 系統的に整理し, これら物質の生体における代謝系路を推定した。

35 水銀化合物及びセレン化合物の同時処理によるヒトリンパ球の染色体異常誘起について

佐谷戸安好, 中室克彦, 衛生化学, 26, 99(1980)

水銀化合物とセレン化合物の同時処理によるヒトリンパ球の染色体異常について研究を行った。水銀化合物として CH₃HgCl (MMC) 及び HgCl₂ をヒトリンパ球に単独処理させると, MMC は比較的高い染色体異常を起すが, HgCl₂ は弱いことを示した。水銀化合物による染色体異常に与えるセレン化合物の影響に関しては, H₂SeO₃ が MMC あるいは HgCl₂ により生ずる染色体異常に対し防御効果を示した。しかし, Na₂SeO₄ は MMC や HgCl₂ による染色体異常誘起能を高める方向に作用することを示した。一方, MMC あるいは HgCl₂ は H₂SeO₃ によって生ずる染色体異常に対する防御効果を示した。

36 環境汚染物質と毒性, クロム

佐谷戸安好, 中室克彦, 化学の領域増刊, 126, 111 (1980)

クロムの毒性については, ほとんどが6価クロム(クロム酸塩)の生体影響について記述している。その

ため、著者らは、3価クロム及び6価クロムの毒性に関する比較を中心に考察した。すなわち、原子価数の異なるクロム化合物について、急性、亜急性、慢性毒性、なかでもクロム化合物について特長的な呼吸器系障害、皮膚障害（一次刺激性皮膚炎、アレルギー性湿疹性接触皮膚炎）に関してふれ、また、発がん性、突然変異性及び細胞遺伝毒性について記述した。更に、生体内運命として吸収・分布・排泄、とくに血液構成成分との相互作用について6価及び3価クロムにおける相違について論じた。

37 環境汚染物質と毒性、セレン

佐谷戸安好, 中室克彦, 化学の領域増刊, 126, 129 (1980)

セレンの毒性は家畜に発生した“alkali disease”や“blind staggers”などで知られている。しかし、環境汚染の観点からセレンの毒性を把握しておくことが重要である。そこで動物に対するセレン化合物の毒性及び生体内運命などを中心に記述した。すなわち、セレン化合物の急性、亜急性、慢性毒性、発がん性、細胞遺伝毒性、また、セレンの生体内運命として吸収・分布・排泄、生体内代謝としてセレンのたん白質代謝との関連性、とくに、肝臓中におけるセレンのメチル化機構について論じた。

38 Metabolic Fate of Chromium Compounds.

I. Comparative Behavior of Chromium in Rat Administered with $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ and $^{51}\text{CrCl}_3$.

Yasuyoshi SAYATO, Katsuhiko NAKAMURO, Sachiko MATSUI and Masanori ANDO: *J. Pharm. Dyn.*, 3, 17 (1980)

6価クロム ($\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$) と3価クロム ($^{51}\text{CrCl}_3$) を経口投与あるいは静注した時のラット肝臓、血液中における ^{51}Cr の生体内運命の比較研究を行った。これら化合物の腸管吸収は経口投与量の1%以下であった。しかし、3価クロムは6価クロムより体内残留性が高いことを示した。(生物学的半減期; CrCl_3 , 91.79日, Na_2CrO_4 , 22.24日) また、静注時においても同様の傾向を示した。更に、静注時の両クロム化合物とも、腸管排泄よりも腎臓経由の尿中への排泄が高いことを認めた。また、臓器親和性において、クロムの原子価数の相違によって差が見られ、特に、肝臓の細胞分画と血液構成成分で特異的であった。

これら血液中で見られるクロムの挙動の差は、3価クロムが血漿中トランスフェリンに対して高い結合性

を有するのに対し、6価クロムは赤血球膜を透過し、ヘモグロビンと結合するという事実起因することが考えられた。

39 食品基準について—安全性の確保とは—

内山 充: 保健の科学, 21, 863 (1979)

食品の安全性に関する危惧の念にはかなり根強いものがある。安全性の確保には食品の規格や基準を厳しく定めるのが第一だという意見が多い。

そこで、本論評では、食品が他の生活用物質にくらべて特殊な性質を有していることを論じ、有害の判定基準はどう考えるべきか、について述べた。食品の基準は食品の安全性を高める上で大切な一つの要因ではあるが、基準さえ定めれば食品が安全になるとはいえない。要は食品の持つ特殊性をよく理解すべきであることを示した。

40 食品汚染物

内山 充: 食品衛生研究, 30, 327 (1980)

食品汚染物をめぐる研究には、起源論、実態論、影響論及び対策論の四つの方向がある。その中で実態の調査研究は最も基本的な問題を提起し、地域と生活に直結し、更に研究の成果を評価する上でも大切な意味を有している。

実態調査の役割り、方法、得られる成果、及びわが国における現状を解説し、今後食品汚染の実態に関する調査研究のあるべき姿を論じた。

41 化学形と毒性

内山 充: 化学の領域増刊, 126, 25 (1980)

重金属の毒性は存在量だけからは判断し難い。存在化学形態によって作用や性質が大きく異なるからである。トキシコロジーにおいて重金属を正しく評価するための一助とすべく動植物体への金属の取込み、重金属の特性、各種リガンドと金属との錯体、無機・有機の差、酸化還元による価数の変化などについてこれまでの国内外の研究を紹介した。重金属の化学形の研究はようやく緒についたといえる段階であり今後の問題点などについて論じた。

42 食品中のパラフィン系炭化水素の分析法

武田明治: ぶんせき, 1979(7), 446

1974年に発生した瀬戸内海沿岸の石油コンビナートの重油貯蔵タンクの破損事故が原因で流出重油による瀬戸内海の海洋及び海産物の石油汚染が重大な社会問題となった。これを契機として海洋の石油汚染に起因

する各種海産食品の石油汚染の指標となりうるもの(物質, 現象)の検索に係わる研究が重点的に進められた。ここでは, 食品中の石油成分の系統分析, 特に石油成分のかなりの部分を占めているパラフィン系炭化水素の分析法について紹介している。また, パラフィン系炭化水素が食品中の石油汚染の指標となりうるかどうかについても考察している。

43 Separation of Normal Paraffins and Evaluation of Petroleum Contamination in Foods

Yukio SAITO, Mitsuharu TAKEDA, Mitsuru UCHIYAMA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62, 1327 (1979)

石油汚染をうけた食品中の微量の *n*-パラフィンを単離する方法を確立した。本法は, (1)試料のアルカリ分解, (2)シリカゲルカラムクロマトグラフィー, (3)モレキュラーシーブによる *n*-パラフィンの選択的吸着, (4)塩酸によるモレキュラーシーブの分解, (5)過マンガン酸による不飽和化合物の分解, の5ステップよりなる。55gのカキ(oyster)に0.36ppmの *n*-パラフィン(nC_{15} ~ nC_{30})を添加した際の回収率は *n*-ペンタデカン(nC_{15})が80%であったが他(nC_{18} 以上)は100%であった。

本法によれば, 食品ばかりでなく石油中の *n*-パラフィンとイソパラフィン群とを完全に分離することができるので, イソパラフィンのより正確な分析が可能である。またイソパラフィン群のGC-パターンは石油による食品汚染の指標としての可能性もある。

44 溶媒抽出-フレイムレス原子吸光法による粉乳中のビスマス, 鉛の定量

鈴木 隆, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 20, 193 (1979)

DDTC-溶媒抽出法と炭素管を用いたフレイムレス原子吸光法の併用により粉乳中のビスマス, 鉛を定量する方法について, 灰化条件, 原子化条件を種々検討した結果, 本法による1%吸収感度はビスマス3ppb, 鉛5ppbであった。DDTCとキレートを生成する金属は種々の干渉を示したが, 本法を粉乳中のビスマス及び鉛の分析に応用した場合検量線法で定量が可能であった。

45 小麦粉中の有機リン農薬について

河村葉子, 武田明治, 内山 充, 堺 敬一*, 石川英樹*: 食衛誌, 21, 70 (1980)

我々は昭和53年2月, market basket 方式によるtotal diet surveyを実施したが, この調査において調理後の食品群のいくつかから微量の malathion, fenitrothion が検出された。これらが小麦に由来することが明らかになったので, 市販の小麦粉, 小麦製品を検討したところ, 薄力粉において malathion が14検体すべてから0.028~0.266ppm(平均0.170ppm), fenitrothion は6検体から0.05~0.300ppm検出された。めん類は小麦粉の約1/10であったが, ビスケットにおいては小麦粉と同程度の残留がみられた。玄麦を製粉し各画分における malathion の分布を調べたところ, 85%ふすまに存在し, 通常小麦粉として使用される画分の malathion 濃度は玄麦の1/7~1/10であった。また貯蔵及び加熱による減少も検討した。

total diet survey における一日摂取量は malathion 1.44ppm(宮城), 1.82ppm(東京), 及び fenitrothion 1.19ppm(宮城), 0.02ppm(東京)であった。

*1 宮城県衛生研究所, *2 香川県丸亀保健所

46 ビール中の Polyvinylpyrrolidone の分析法

内山貞夫, 近藤龍雄, 内山 充: 食衛誌, 20, 462 (1979)

ビール中の polyvinylpyrrolidone(PVP)の分析に際し, 分離型ミニカラムを考案するとともに充てん法も検討して Vital Red(VR)法(カラムクロマトグラフ法)を改良した。また, 半定量的にPVPを肉眼で判定できる簡易定量法(1~10ppm)を開発した。一方, 国内で入手の容易な色素 Congo Red を VR の代用にする新法を検討した結果, 分析感度は改良 VR 法と変わらないが, 添加回収において添加量より若干多い値を示した。これらの方法によって市販ビール(国産4種, 外国産8種, 計36検体)からはいずれもPVPは検出しなかった。またGPC-高速液体クロマトグラフ法についても検討したが, 良好な結果が得られなかった。

47 γ -Irradiation of 5'-Inosinic Acid in Fish Meat Cake

Sadao UCHIYAMA, Mitsuru UCHIYAMA: *J. Food Sci.*, 44, 681 (1979)

魚肉製品の γ 線照射に対する健全性を評価するために, 呈味添加物である5'-イノシン酸(5'-IMP)の照射分解の研究を行った。pH6.5のリン酸緩衝液中の5'-IMPはG(-M)値3.12をもってヒポキサンチンに分解し, またこのプリン塩基であるヒポキサンチンも同

じ G(-M) 値で分解することが判明した。この分解において、タンパク質や不飽和脂肪酸は著しい防御効果を示し、また鉄のような金属イオンもわずかながら防御作用を示した。実際上の魚肉製品、カマボコ中での 5'-IMP は高線量にもかかわらずまったく安定であった。

なお、照射カマボコの有機溶媒抽出物は *Salmonella typhimurium* を用いる mutation assay において突然変異原性は示さなかった。

48 Free Radical Production in Protein-Rich Food

Sadao UCHIYAMA, Mitsuru UCHIYAMA: *J. Food Sci.*, 44, 1217 (1979)

魚肉製品であるカマボコを γ 線照射したり、加熱することにより、室温中で g 値 20030~20049 のフリーラジカルが生成されることが ESR 測定によって判明した。

これらのフリーラジカルは主にタンパク質部分に存在し、 γ 線の線量及び加熱温度の上昇によって増加した。加熱によるアミノ酸のラジカル生成能は L-lysine, L-tryptophan 及び L-phenylalanine が高く、中でも L-lysine に最も高い値を示した。

49 各種条件下ラットの組織 TBA 値の変化

三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充: 過酸化脂質研究, 2, 12 (1978)*

生体組織中の過酸化脂質測定法の1つである TBA (チオバルビツール酸)法を用いて CCl_4 投与と老化におけるラット肝の変化を検討した。

その結果 CCl_4 投与によって TBA 値に 24 時間後まで増加の傾向となり、共役ジエン量の変化より遅れて影響が現われることがわかった。更に肝分画を行い各分画中の TBA 値の変化を調べたところ、 CCl_4 投与によって各分画すべてが増加したが、特に 100000 $\times g$ 上清の増加が著しかった。

TBA 値は老化によって増加する傾向にあり、各分画中では 100000 $\times g$ 沈でん部の増加が顕著であり、他の分画にあまり変化がなかった。

* 1980年2月発行

50 生体組織中の過酸化脂質の化学的測定法

三原 翠, 内山 充: ビタミン, 53, 365 (1979)

現在までに報告されている過酸化脂質測定法を紹介し、生体組織中の過酸化脂質に適用する場合について

論じた。

通常の油脂分析とは異なり、生体組織の場合に量が少なく妨害物質が多いという問題点がある事から最上の方法はなく、複数のパラメーターを測定する必要がある。多く用いられている方法は TBA 法であり、他に過酸化物質測定、共役ジエン量が一般的である。最近注目されているのはエタン、ペンタン等の低分子炭化水素の分析であり、一方リポフスチンのような高分子化合物の分析も古くから行われている。また、TBA 法についての最近の知見について特に詳細に論じた。

51 鯉による食中毒の原因究明に関する研究

武田由比子, 天野立爾*1, 内山 充, 松本清司
降矢 強, 戸部満寿夫, 本田喜善*2, 中村幸男*3
食衛誌, 21, 50 (1980)

1976年から1978年まで宮崎、佐賀、鹿児島において17件の鯉摂取によるとみられる食中毒が発生し患者125名に達した。中毒症状は嘔吐、痙攣、麻痺などで、疫学調査により共通食品に鯉があげられ、食べ残りの鯉をイヌに与えたところ、人の場合と同様に発症した。この有毒鯉からの熱エタノール抽出物をエーテルに転溶し TLC を行った結果 R_f 値 0.5~0.7 (展開溶媒ベンゼン, アセトン, 酢酸, 90+5+5) で硫酸噴霧後加熱により特異な青緑色を呈するスポットに毒性を認めた。この物質をさらに精製し $\text{UV}_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 220, 282 nm, MS より分子量 575 を得たが化学構造などについてはなお検討中である。

*1 現在, 国民生活センター

*2 宮崎県衛生研究所

*3 福岡県衛生公害センター

62 Simultaneous Extraction and Fractionation and Thin Layer Chromatographic Determination of 14 Mycotoxins in Grains

Yuiko TAKEDA, Etsuko ISOHATA, Ryuji AMANO*,
Mitsuru UCHIYAMA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*,
62, 573 (1979)

発癌性あるいはその疑いのあるマイコキシンのうち、aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, sterigmatocystin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, neosolanolol, fusarenon X, zearalenone, ochratoxin A, citrinin, luteoskyrin, ruglosin の14種について、その簡易同時分析法を検討した。これらのマイコトキシンに 20% H_2SO_4 -4% KCl - CH_3CN (2+20+178) で抽出し、イソオクタンで脱脂後、 CH_2Cl_2 に転溶する。抽出液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画かつ精製する。最初の10

種のマイコトキシンは $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}(97+3)$ で溶離し、残りの4種はベンゼン-アセトン-酢酸(75+20+5)で溶離する。各々の画分は TLC によってマイコトキシンを検出する。この方法により精白米、玄米、トウモロコシ、小麦粉、ピーナッツ等でマイコトキシンのスクリーニングを行った。検出限界は試料食品、マイコトキシンの種類によってかなり異なり 10.0~800 ppb であった。

* 現在国民生活センター

53 Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Lipid Peroxidation in Rat Liver Microsomes

Masanori YONAHARA*, Yuko OHBAYASHI*, Nahoko NORO*, Emiko ITOH*, Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 893 (1980)

クロムイオン (Cr^{3+} 及び Cr^{6+}) のラット肝ミクロソーム (Ms) の脂質過酸化 (LPO) に及ぼす影響について TBA 反応を用いて検討した。 Cr^{3+} , Cr^{6+} とも 1~100 μM の低濃度ではアスコルビン酸 (V.C) 及び NADPH で誘導される Ms の LPO を阻害した。 V.C 共存下での阻害は SH 試薬の添加で減弱し、酒石酸の添加により一部回復した。このことからクロムイオンは恐らくタンパク質の SH 基と結合した Cr^{3+} の形で LPO を抑制しているのであろう。 NADPH 共存下では Cr^{6+} が非常に強い阻害を示した。 Cr^{6+} , Cr^{3+} とも Ms の電子伝達系は阻害しなかった。 Cr^{6+} は CCl_4 で促進される LPO を強く阻害し、EtOH のような還元剤の存在下で DPPH を幾分還元することが出来るし、また SH 化合物の共存下で NADPH で誘導される LPO を著しく阻害することから、 Cr^{6+} は恐らくラジカル捕捉剤として作用しているのであろう。

* 北海道薬科大学

54 食品中の亜硫酸塩の分析法

原田基夫: 食品衛生研究, 29, 965 (1979)

食品中の亜硫酸塩の分析法は最も困難な方法とされているが、多数の文献を調査した結果から分析上の問題点を指摘し、今後の方向と解説を行った。ついで確実性の高いランキン法による滴定法を市販サンプルについて検討し、32 μg 以上の含有試料における標準分析法の暫定法として提示し、またパラロザニン比色法による微量法の原案を提示した。

55 天然着色料の分析法について

神蔵美枝子: 食品衛生研究, 29, 997 (1979)

天然着色料は、近年タール色素に代って食品へ使用される傾向にある。そのため、諸外国の規制並びに FAO/WHO における安全性評価の状況並びに、わが国で現在流通している主要品目につき、性状、特性、分析法について記述した。特に、クルクミン、コチニールについては実際に食品中からの分析に応用できる方法を示した。また、天然着色料中に含まれる不純物の問題については、カラメルにつき、製造中に混入する 4-メチルイミダゾールを GLC, TLC 法によって分析した。なお、参考資料としてアメリカなど世界の 20 箇国における天然着色料の許可状況の表を作成して示した。

56 Transplacental Mutagenesis of Products Formed in the Stomach of Golden Hamsters Given Sodium Nitrite and Morpholine

Naomichi INUI*, Yoshisuke NISHI*, Masako TAKETOMI*, Makiko MORI*, Miyako YAMAMOTO, Takashi YAMADA and Akio TANIMURA: *Int. J. Cancer*, 24, 365 (1979)

妊娠して 11~12 日目のハムスターに NaNO_2 とモルホリンを同時に投与し、胎児の細胞について染色体異常、8-azaguanine (8AG) や ouabain (Oua) 耐性を指標とした突然変異等を調べた。その結果、8AG や Oua-耐性コロニー数は NaNO_2 とモルホリンを投与後著しく増加した。胎児の線維芽細胞についても micronucleation の著しい増加及び染色体異常のわずかな増加がみられた。また胎児の細胞にトランスフォーメーションもみられた。ニトロソモルホリン (NMOR) を経口投与した時にも同様の経胎盤効果を示した。しかしモルホリンのみの投与では効果はなかった。また NaNO_2 500 mg/kg の 1 回投与でもわずかな効果しか示さなかった。ハムスターにモルホリン NaNO_2 を同時に投与した時、胃内での NMOR の生成がみられた。

* 日本専売公社生物実験センター

57 **Detection of 8-Azaganine Resistant Mutants of Embryonic Cells Induced by Products Formed in the Stomach on Oral Administration of Sodium Nitrite plus Aminopyrine to Pregnant Golden Hamsters**

Naomichi INUI*, Yoshisuke NISHI*, Makiko MORI*, Masako TAKETOMI*, Miyako YAMAMOTO and Akio TANIMURA: *Proc. Japan Acad.*, 55, Ser. B (1979)

妊娠11~12日目の Syrian golden hamster にそれぞれ 25~100 mg/kg のアミノピリン (AP) 及び NaNO₂ を同時に投与して24時間後に、胎児の細胞をとって培養し、8-azaganine (8AG) 耐性をマーカーとして変異原性試験を行った。AP と NaNO₂ の投与量に比例して 8AG 耐性の突然変異体は増加した。また、ポジティブ・コントロールとしてニトロジメチルアミン (NDMA) を投与した時にも投与量に比例して突然変異体は増加した。AP と NaNO₂ をハムスターに同時に投与した時、胃内で NDMA の生成がみられた。

* 日本専売公社生物実験センター

58 **Food Safety Survey in Chanthaburi**

Amara VONGBUDDHAPITAK*, Chaweewon HALILAMIAN*, Achara MEEVASANA*, Masatake TOYODA, Hajimu ISHIWATA: *Interim Report of the Promotion of Provincial Health Services Project*, p. 99 (1980)

国際協力事業団とタイ国公衆衛生省との間による協力事業であるタイ国地域保健活動向上計画の一つとしてタイ東南部 Chanthaburi 県における食品の検査を行った。検査項目は汚染物 (残留農薬, アフラトキシン, 水銀), 添加物 (色素, 保存料, サッカリン, ホウ酸), 規格試験 (魚醬, グルタミン酸ナトリウム, 食用油, かんづめ, 清涼飲料), 飲料水, 微生物試験である。1978年及び1980年における検査件数は470件で、うち違反は110件であった。

* Department of Medical Sciences, Thailand

59 **Studies on the Formation of N-Nitroso Compounds. I Determination of Nitrate and Nitrite in Foods**

Prakai BORIBOON*, Laddawan VIRIYASIRIPAI-SARN*, Tasana KLINTRIMAS*, Chaweewon HALILAMIAN*, Achara MEEVASANA*, Hajimu ISHIWATA: *Interim Report of the Promotion of Provincial Health Services Project*, p. 85 (1980)

国際協力事業団とタイ国公衆衛生省との間による協力事業であるタイ国地域保健活動向上計画の一つとして Bangkok 市内における魚肉及び畜肉製品中の亜硝酸塩及び硝酸塩濃度の測定を行った。亜硝酸塩の使用基準は 133.3 ppm であるが基準をこえたものは肉製品 22 検体中 3, 魚製品では 44 検体中 6, また、硝酸塩の使用基準は 364.7 ppm であり、これをこえたものは肉製品 22 検体中 6, 魚製品 42 検体中 7 検体であった。亜硝酸塩の最高濃度は肉製品では乾燥牛肉で 393 ppm, 魚製品では雷魚干物で 3553 ppm, 硝酸塩は肉製品では乾燥牛肉で 3701 ppm, 魚製品は pla-riekiew の干物で 2932 であった。

* Department of Medical Sciences, Thailand

60 **Studies on the Formation of N-Nitroso Compounds (I) Determination of Nitrate and Nitrite in Foods**

Prakai BORIBOON*, Laddawan VIRIYASIRIPAI-SARN*, Tasana KLINTRIMUS*, Chaweewon HALILAMIAN*, Achara MEEVASANA*, Hajimu ISHIWATA: *Bull. Dept. Med. Sci.*, 21, 155 (1979)

タイ国における食品中の亜硝酸塩, 硝酸塩の濃度について測定を行った。試料は Bangkok 市内で購入した。野菜類では亜硝酸塩濃度は非常に低かった。硝酸塩は葉菜類で高く, 1000~3000 ppm, 果菜類は低く 10~500 ppm 程度であった。代表的葉菜である pak-kana は 3400 ppm の硝酸塩を含み, その濃度は葉, 幹, 葉柄の順に, また成育するにしたがって高くなった。一方, 加工食品では64検体について亜硝酸塩及び硝酸塩を測定したところ, 各々9検体, 13検体が使用基準をこえるものであった。

* Department of Medical Sciences, Thailand

61 **ポリエチレン, ポリプロピレン, ポリスチレン製器具・容器包装の規格について**

辰濃 隆: 食品衛生研究, 29, 977 (1979)

ポリエチレン, ポリプロピレン, ポリスチレンなど

の汎用樹脂について、ポリ塩化ビニル樹脂について個々の衛生規格を定めるために試験したデータをもとにして、厚生省告示第98号(昭和54年5月28日)の上記三樹脂の規格を解説、諸外国との関連にも触れている。

62 市販冷蔵惣菜類の酵母による汚染

小島満子, 倉田 浩: 食衛誌, 21, 189 (1980)

市販冷蔵サラダ及び餃子における酵母・細菌・糸状菌の生菌数測定, 分離微生物の同定, 3種微生物群による汚染状況, 低温での生育について検討した。サラダの酵母数は1g当り $10^4 \sim 10^5$, 細菌数は $10^3 \sim 10^5$, 糸状菌数は 10^3 以下であり, 餃子のそれらは, サラダより1~2オーダー低い値を示した。酵母は市販冷蔵惣菜類中では, 細菌に次ぐ微生物群であり, サラダには, *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* などの無孢子酵母が, 餃子には有孢子酵母である *Debaryomyces* が広く分布していた。惣菜類では酵母のほか *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, *Bacillus* などの細菌, *Penicillium*, *Phoma*, *Cladosporium* などの糸状菌によって汚染されていた。分離酵母の92.9%は 5° で2週間以内に生育する低温酵母であり, 分離糸状菌の47.1%は低温糸状菌であった。

63 市販冷蔵鮮魚介類の酵母による汚染

小島満子, 倉田 浩: 食衛誌, 21, 197 (1980)

生ウニ, マグロサシミ, パカ貝サシミにおける酵母・細菌・糸状菌の生菌数測定, 分離微生物の同定, 3種微生物群による汚染状況, 低温での生育について検討した。生ウニの酵母数と一般細菌数は1g当り $10^4 \sim 10^7$ を示す試料が多く, 糸状菌数は 10^4 以下であった。マグロ及びパカ貝サシミの酵母数は $10^1 \sim 10^4$, 細菌数は $10^3 \sim 10^6$, 糸状菌数は 10^2 以下であった。酵母は, 市販冷蔵鮮魚介類中に主要な微生物群として存在しており, その構成菌の主体は, *Rhodotorula*, *Candida*, *Trichosporon* などの無孢子酵母であったが, 特に病原酵母と同種の *Tr. cutaneum* の分布が注目された。試料は, これらの酵母のほか *Pseudomonas*, *Staphylococcus* などの細菌, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* などの糸状菌によって汚染されていた。分離酵母の94.6%は低温酵母であり, 分離糸状菌の55.0%は低温糸状菌であった。

64 液全卵製品の汚染原因の追求と小規模工場の調査(第2報)

鈴木 昭, 小沼博隆, 今井忠平*, 水谷 宏*, 指原信広*: 食衛誌, 20, 247 (1979)

前報における未殺菌液全卵の細菌汚染源を明らかに

するため, 原料殻付卵中の細菌汚染及び菌叢について検討した。その結果, 室温又は冷蔵で長期保管された殻付卵内容物には $10^7/g$ 以上の細菌数を示す殻付卵が存在し, これが汚染源の一つである。異常細菌数を示す卵殻内容物の菌叢は未殺菌液全卵の菌叢とよく一致し, グラム陰性菌であった。

液全卵中では卵殻由来菌は 19° , 製造所要時間1時間以内では顕著な増殖はみられなかった。製造規模, 管理方法の異なる2工場を調査した結果新鮮卵で衛生管理を厳重にした工場では細菌学的にすぐれていた。新鮮卵を使っても, 衛生管理の劣る工場では製品の細菌数は多かった。

* キュービー(株)研究所

65 未殺菌液全卵の低温における保存性について(第3報)

鈴木 昭, 小沼博隆, 高山澄江, 今井忠平*, 指原信広*: 食衛誌, 20, 442 (1979)

未殺菌液全卵の低温保存・流通時の適正温度を設定するための基礎資料を得るとともに低温での保有性を検討した。

10° で4日まで, 5° で8日まで品質劣化は殆んど認められなかった。しかし 10° では6日, 5° では10日で異臭の発生, 菌数の増加, pHの低下, グルコースの減少, 揮発性塩基窒素の増加等により品質の劣化が認められた。

低温で増殖した菌属は *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, 及び *Micrococcus* などでいずれも低温細菌に属するものであった。一方 25° 放置試験では, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* などが優勢菌で, 品質劣化もそれらによるもので, 低温保存の場合とは腐敗臭が異なった。

デソ赤変菌中の大腸菌群の割合は保存前は91.7%, 低温保存中に減少し 10° , 8日で31.2%, 5° , 12日で44%であった。

* キュービー(株)研究所

66 硝酸ナトリウム投与サル胃内における硝酸及び亜硝酸イオンの消長と微生物叢について

林 長男, 小高秀正, 谷村顕雄, 倉田 浩: 食衛誌, 20, 370 (1979)

1日絶食させたサル5匹に硝酸ナトリウム 5000 ppm を含む滅菌 BHI を 20 ml/kg の割合で胃内経口投与し, 投与 1, 3, 5, 7 時間後の各時間ごとの胃内容物中の NO_2^- 濃度, 微生物叢, pH について検索を行っ

た。NO₂⁻ 生成ピークは、投与5時間後に認められ、その最高濃度は、それぞれ 96.6, 94.1, 69.1, 3.2, 377.9 ppm を示し、嚥下された唾液中生成 NO₂⁻ の胃内でのめいりょうな蓄積は認められなかった。また胃内容物の pH と胃内 NO₂⁻ 生成量との間には、明らかな相関性が認められ、胃内 NO₂⁻ 生成には、嚥下された口腔内微生物叢のうち、特に嫌気性硝酸塩還元菌が強く関与しているものと思われた。

67 シクラミン酸ナトリウム投与動物の腸管内に生息するシクロヘキシルアミン生成菌の検索
松井道子, 林 長男, 小沼博隆, 谷村顕雄, 倉田 浩: 食衛試, 21, 129 (1980)

sodium cyclohexylsulfamate を cyclohexylamine に変換する菌を含有するサル糞便を変換性の低いウサギ, モルモットの盲腸内に接種し, 更に変換菌の定着性を強める条件としてサル飼料を投与する方法を併用して, 変換性の相違の比較, 変換菌の挙動, 飼料と変換菌の定着性の関係などを検討し, 変換菌の検索を最終目的としての実験を行った。その結果, 両動物の cyclohexylamine 尿中排泄量は, サル便注入グループのサル飼料群が最も多くなり, サル由来の変換菌及び飼料による影響が明らかに認められた。sodium cyclohexylsulfamate から cyclohexylamine への変換には *Clostridium* sp., Propionibacteriaceae 及び *Lactococcaceae* が関与しているという結果を得た。

68 生活環境をとりまく真菌の諸問題—一般食品の汚染かび

宇田川俊一: 真菌と真菌症, 20, 171 (1979)

1960年にアフラトキシンが発見されて以来, 食品のかび汚染は世界的に注目をうけるところとなった。食品上におけるかびの発育は以下のような生理的性質において細菌とは異なる。1) 好気性, 2) 生育速度, 3) 温度, 4) 湿度, 5) 酸度 (pH)。多くの食品原料は自然でかびの侵入にまず暴露される。農作物の場合, かびの一次汚染源は作物である植物及びその環境, 例えば土壌とに分けることができよう。二次汚染として食品製造の機械, 包装材料, 作業従事者から持ち込まれることがあっても, 一次汚染菌はしばしばそのまま食品の流通加工段階を通じて生存する。環境汚染源から由来したかびの残存からみて, 食品の一次汚染に対する正しい評価が更に必要であると思われる。

69 *Poroconiochaeta*, a New Genus of the Coniochaetaceae

Shun-ichi UDAGAWA and Kouhei FURUYA*: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 20, 5 (1979)

子の菌類核菌綱コニオケータ科に属する新属 *Poroconiochaeta* について記載した。本属は *P. discoidea* (タイプ種), *P. punctulata* の2種から構成され, いずれも *Coniochaeta* と同様に暗色, 1細胞, 発芽スリットのある子の胞子を形成するが, *Coniochaeta* と違ってともに胞子表面に小孔が認められるという特長がある。分生子世代は *P. discoidea* のみにみられ, 簡単な構造のフィアロ型分生子を形成する。*P. discoidea* の子の胞子は円盤形, 一方 *P. punctulata* の子の胞子は楕円形, 表面構造は前者に比し微小である。両種ともに日本国内土壌から分離されたが, 特に *P. punctulata* は環境汚染の進行した河川底質から発見されている。

* 三共醸酵研究所

70 Some Interesting Species of Ascomycetes from Imported Spices

Shun-ichi UDAGAWA and Tetsuo MUROI*: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 20, 13 (1979)

1976~1978年の3箇所にわたって輸入香辛料の真菌汚染を調査した際, 多数の興味ある菌が分離された。これらは香辛料の原産地において一次汚染菌として侵入し, そのまま輸入されたものと推測され, 本邦未知種が少なくない。今回は次の子の菌類5種を報告した。不整子の菌類コウジカビ科新種として中国産フェンネル種子より分離された *Emericella foeniculicola* (分生子世代 *Aspergillus foeniculicola*), 輸入タイム葉より分離された *Thielavia microspora*, スーダン産ハイビスカス花より分離された *Thielavia subthermophila*, 輸入デイル種子より分離された *Achaetomium luteum*, 及び U. S. A. 産セージ葉より分離された *Podospora inaequalis* である。新種以外の4種も本邦未記録種である。

* 現, 塩野義製菓

71 ウリ類の健全根部から分離される糸状菌とそれらが炭そ病発病に及ぼす影響

石破知加子*, 谷 利一*, 宇田川俊一, 一戸正勝, 村田雅彦*: 日菌報, 20, 220 (1979)

外観健全なウリ科植物, キュウリ, マスクメロン, スイカ, カボチャの根部組織に潜在する糸状菌を分離, 同定したところ, 17属34種以上に及んだ。最も高頻度で分離されたのは *Fusarium* で *Rhizopus*, *Chaetomium*,

Thielavia, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* 属菌がそれについて、キュウリ子菌に対する毒性試験では、供試215菌株のうち、わずかに *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp. 各1株, *Mycelia Sterilia* 4株の接種で萎凋又は子葉の褐変がみられたにすぎなかった。無害菌中8株の菌体懸濁液をキュウリの断根育苗時に与えて後に子葉又は本葉に炭そ病菌を接種したところ、発病に影響がみられた。

* 香川大学農学部

72 ***Chaetomium udagawae*: a New Producer of Sterigmatocystin**

Shun-ichi UDAGAWA, Tetsuo MURAI*, Hiroshi KURATA, Setuko SEKITA, Kunitoshi YOSHIIHARA, and Shinsaku NATORI: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 20, 475 (1979)

Chaetomium 及びその関連属の種についてマイコトキシン生産性を検索し、すでに *C. thielavioideum* の4株が発癌性マイコトキシンの1種ステリグマトシチンを生産することを発見した。その後の検索において、更に *C. udagawae* の3株が同様に白米を用いた固体培養においてステリグマトシチンを生産することが明らかとなったので、ここに生産菌の菌学的性質を中心に研究結果をまとめて報告した。これによって少なくとも2種以上の *Chaetomium* がステリグマトシチン生産性を示すことが確認されたため、農産物におけるステリグマトシチン自然汚染に *Chaetomium* が関与する可能性も示唆される。

* 現, 塩野義製薬

73 **Coprophilous Pyrenomycetes from Japan (V)**

Shun-ichi UDAGAWA and Tetsuo MURAI*: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 20, 453 (1979)

Cercophora 属はつい最近まで *Bombardia* として知られてきた子うの菌類核菌綱のカビである。1972年、スウェーデンの Lundqvist が Nordic Sordariaceae. lat. において、子うの果がストロマ的なものを旧来の *Bombardia* に残して、非ストロマ的なものを Fuckel が1870年にたてた *Cercophora* 属に移した際、一部の糞生 *Bombardia* が再検討され、現在に及んでいる。今回は日本産糞生核菌類分類研究の一環として新種 *C. samala* を含む糞生 *Cercophora* 6種を報告した。*C. samala* の子うの殻部には単生又は束生の剛毛を生じ、殻壁の表面は炭質化した菌糸様のものが網目状に

密着している。培地上でよく子うの殻を形成するとともに、他種と異なり分生子として *Bahupaathra* 世代が観察された。

* 現, 塩野義製薬

74 ***Arnium macrotheca* 子うの胞子の飛散・付着によるカーネーションの生育障害**

宇田川俊一, 都崎芳久*, 上原 等*: 日菌報, 20, 357 (1979)

1978年6月に香川県農業試験場のカーネーション茎頂培養育苗成ガラス室で糞生子の菌類の1種, *Arnium macrotheca* の子うの胞子飛散・付着が原因と思われるカーネーションの生育障害が発生した。被害は用土のスチーム消毒によって土壤中の微生物が選択的に死滅し、耐熱性の糸状菌の1つとして本菌が残存し、用土上で子実体を多数形成するに至った結果であると判断された。農作物のハウス栽培において土壌のスチーム消毒が多用された場合に今回のような事故が人為的に発生する要因は十分考えられ、食糧の一次汚染防止の観点から貴重な経験の1つとなった。

* 香川県農業試験場

75 **Mite fauna and fungal flora in house dust from homes of asthmatic children**

Akira ISHII*, Masatoshi TAKAOKA*, Masakatsu ICHINOE, Yasuhiro KABASAWA*, and Tadayuki OUCHI: *Allergy*, 34, 379 (1979)

小児喘息患者の家庭の屋内塵におけるダニ相及びカビ相について、室内塵エキスピ内反応陽性区(11点)、陰性区(10点)及び対照の非喘息家庭(11点)の三区に分けて検討した。ダニ相では *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae* が三区に共通して優先したが、皮内反応陽性区では平米あたりのダニ量が他区より多かった。カビ相では分離菌数では三区の間にほとんど差がみられず、*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* などが優先し、10属28種を検出した。喘息患者の家庭屋内塵では対照区に比べて *Wallemia sebi* を多く検出したことが注目された。

* 東京医科歯科大学医学部

76 **埼玉県の麦類を汚染する *Fusarium* とそのトリコセシン生産性について**

鈴木敏正*, 栗栖 誠*, 星野府二*, 一戸正勝, 能勢憲英*, 徳丸雅一*, 渡辺昭宜*: 食衛誌, 21, 43 (1980)

埼玉県内産の麦類のトリコテセン類及び *Fusarium* の汚染調査を行うと共に *Fusarium* 分離株のトリコテセン生産性につき検討した。小麦16点, 大麦3点からは既知のトリコテセン類6種は検出されなかった。 *Fusarium* 汚染率は平均8.2%で, 分離810株中 *F. graminearum* が73.7%と最優先し, ついで *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. semitectum* など12種を分離同定した。分離株のトリコテセン生産性は *F. graminearum* は主に nivalenol (NIV), fusarenon-X (F-X) *F. acuminatum*, *F. poae* は T-2 toxin, neosolaniol (NS) を *F. equiseti*, *F. semitectum* では diacetoxyscirpenol の他 NS, NIV, F-X を同時に生産するものが得られた。

* 埼玉県衛生研究所

77 ラット組織から分離生細胞の調製と肝生細胞によるメタ重亜硫酸カリウムの酸化

新村寿夫, 澤田敦行, 望月左弓, 時枝利江, 山羽 力: 食衛試, 20, 338 (1979)

亜硫酸の解毒にもっとも重要な肝及び腎から, コラゲナーゼ/ヒアルロニダーゼによる分離生細胞の調製法と分離生細胞によるメタ重亜硫酸カリウムの酸化を検討した。透析した血清アルブミンは, 肝生細胞の生存率を維持するのに有効であった。亜硫酸オキシダーゼは生細胞中では安定であったが, 凍結触解した破壊細胞の浮遊液中では活性が低下した。メタ重亜硫酸カリウムによる肝細胞の生存率の低下は 10^{-3} M 以下の濃度では認められなかった。肝生細胞のメタ重亜硫酸カリウム酸化能は腎細胞の約2.2倍であった。ラット肝生細胞当たり亜硫酸オキシダーゼ活性と体重との間に正の相関関係がみられた。

78 Comparative Binding Studies on 1,1'-Ethylene-Bis(1-Nitrosoarea) and Some 1-Alkyl-Nitrosoareas with Nucleic Acids and Proteins in vitro

Kazushige MORIMOTO, Akira TANAKA, and Tsutomu YAMAHA: *Gann*, 70, 693 (1979)

発癌性及び制癌性 N-ニトロソ尿素について, タンパク質, 核酸との結合性を比較し, 更に結合性に及ぼす各種アミノ酸の影響についても調べた。また, モノ N-ニトロソ尿素(モノ体)とビス N-ニトロソ尿素(ビス体)の生体高分子との反応性について考察した。モノ体として 1-methyl-(MNU), 1-ethyl-(ENU), 1-propyl-1-nitrosoarea(PNU) を, ビス体として 1,1'-ethylenebis(1-nitrosoarea) (EBNU) を用いた。car-

bonyl- 14 C 基の結合はモノ体間に反応性の差異はほとんど認められず, poly(Lys), poly(His) 及び histone において高かった。また, EBNU はモノ体の2倍以上の結合性を示した。alkyl- 14 C 基の核酸への結合は EBNU や MNU の10分の1以下, PNU ではほとんど結合を認めなかった。一方, たん白質への結合は EBNU においてのみ認められた。EBNU の alkyl- 14 C 基の poly(Lys) や poly(G) への結合はシステインの添加によって完全に阻害されたが, MNU の結合性に対するシステインの阻害はわずかであった。

79 Renal Imaging with a New Agent, 99m Tc-di-DMS

Akira TANAKA, Toyohi MACHIDA*1, Makoto MIKI*1 and Isao IKEDA*2: *Radionuclides in Nephrology, Proceedings of the IVth International Symposium Boston*, p. 17 (1980)

99m Tc-ジメルカプトコハク酸 (DMS) は腎スキャン剤として, もっとも一般的に使用されている薬剤であるが, 分子中に2箇の不斉炭素があるため, ラセミ体, メソ体, d-体, l-体の4種の立体異性体が存在する。

現在はメソ体が主として使われているが, 99m Tc-DMS 錯体の構造は不明である。錯体生成の際, 化合物の立体構造が, 腎親和性, 腎イメージ, 血中クリアランス, 尿中排泄などに及ぼす影響を研究する目的で, DMS のラセミ体を合成して, メソ体との比較検討を行った。

動物とヒトの実験から, ラセミ体はメソ体と同じような挙動を示し, 臨床的にも充分使用しうる有用な化合物であることを明らかにした。

* Department of Urology, Jikei University, School of Medicine

** Dainabot Radioisotope Laboratories

80 Comparative Blood Values of *Macaca Mulatta* and *Macaca Fascicularis*

Kiyoshi MATSUMOTO, Hiroshi AKAGI, Toshiaki OCHIAI, Keiko HAGINO, Kiyoshi SEKITA, Yasushi KAWASAKI and Tsuyoshi FURUYA: *Exp. Anim.*, 29(3), 316 (1980)

アカゲザル及びカニクイザルの血液生化学的検査を, コールターカウンター, オートアナライザー及び電解質自動分析機を用い測定した。白血球数, 赤血球数については雌雄とも, アカゲザルに比べカニクイザルが高値を示し, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, MCV, MCH, MCHC については逆にカニクイザルが

低値を示した。総蛋白量及び AIP については雌でアカゲザルに比べカニクイザルで高値を示したが、アルブミン量及びクレアチニン量については雌雄ともカニクイザルで低値を示した。性差が認められた項目は、アカゲザルでは、MCV、無機リン、総蛋白、アルブミン、クレアチニンであったのに対して、カニクイザルでは、クレアチニン、リン脂質、トリグリセライドであった。

81 Drug-Nitrite Interactions: Species and Sex Differences in the Formation of Dimethyl-nitrosamine and Its Effects on the Hepatic Enzyme Activities

Yoshito OMORI, Atsushi TAKAHASHI, Yasuo OHNO, Hajime ISHIWATA, and Akio TANIMURA: *Arch. Toxicol., Suppl.*, 2, 349 (1979)

アミノピリンはラット及びモルモットの胃内で亜硝酸ナトリウムと反応し、ジメチルニトロソアミンを生成し、これが肝の薬物代謝及び他の数種の肝酵素活性を変化させた。アミノピリン単独又はアミノピリンと亜硝酸ナトリウムを同時経口投与した場合の諸酵素活性の変動には性差及び種属差がみられた。また、ジメチルニトロソアミンの *in vivo* における生成はアスコルビン酸及び α -トコフェロールの同時投与によって抑制された。第3級アミノ基を有する抗生物質及び抗ヒスタミン薬について、*in vivo* におけるジメチルニトロソアミンの生成も検索した。

82 Effects of Dietary Administration of Propyl Gallate during Pregnancy on the Prenatal and Postnatal Developments of Rats

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Shigeyuki NAGAO and Yoshihito OMORI: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 20, 378 (1979)

没食子酸プロピルを0.4, 1及び2.5%の割合に添加した固形飼料を妊娠ラットに与え、没食子酸プロピルの妊娠母体、胎仔及び出産仔の発育に及ぼす影響を催奇形性を中心に無処置対照群と比較検索した。

2.5%濃度では母ラットの体重増加抑制が認められ、胎仔の化骨遅延を示唆した成績が得られ、生産仔に喰殺例が観察された。しかし、没食子酸プロピルに起因したと考えられる奇形発現は認められず、喰殺例を除き、出産仔の発育にも特に悪影響は認められなかった。

83 Induction of Hepatic Mixed Function Oxidases by Photomirex

Harihara M. MEHENDALE*, Kinichi ONODA, Lawrence R. CURTIS* and Ing Kang Ho*: *J. Agric. Food Chem.*, 27(6), 1416 (1979)

Photomirex は、米国東南部地域において主に 'fire ant' 駆除の目的で繁用されていた殺虫剤 mirex の、光分解による主たる生成物である。Photomirex を添加 (50 ppm) した粉末飼料を、S. D. 系雄ラットに15日間任意に摂取させた結果、肝重量の体重比及び肝ミクゾーム分画における薬物代謝活性、NADPH-依存性電子伝達系の活性、cyt. P-450 の含有量並びに基質結合差スペクトルは、いずれも対照群に比較して著しく増加した (約 1.5~3 倍)。Mirex 及び構造類似の殺虫剤 Kepone による肝薬物代謝酵素系の誘導作用については、既に著者らを含む研究者達により明らかにされている。本報の成績は、mirex の分解生成物である photomirex もまた、肝薬物代謝酵素系に対して mirex や Kepone とほぼ同程度の誘導作用を保持していることを示している。一方、著者らは先に、photomirex で前処置したラットでは四塩化炭素による肝毒性が増強されることを認めている。これらの知見から、この種の環境汚染物質は、他の化学物質と共存した場合生体に対して何らかの相互作用を惹起する可能性が考えられる。

* Department of Pharmacology and Toxicology, The University of Mississippi Medical Center; Jackson, Miss., U. S. A.

84 Hepatic Changes in Male ACI/N Rats on Low Dietary Levels of Sterigmatocystin

Akihiko MAEKAWA, Tadataka KAJIWARA, Shigeyoshi ODASHIMA and Hiroshi KURATA: *Gann*, 70, 777 (1979)

各群36匹の雄性 ACI/N ラットに10, 1及び0.1 ppm のステリグマトチスティンを含有する飼料を一生涯投与した。各群の発生率及び生存日数には用量相関は認められなかったが、実験群の肝細胞に毒性及び hyperplastic foci の様な前癌性病変が用量相関をもってみとめられた。然しながら肝細胞癌は10 ppm 群のたった1例、中濃度群29例中1例にみとめられた。実験群及び対照群を含め他の腫瘍発生には差異をみとめなかった。

85 **Carcinogenic Effect of N-Ethyl- and N-Amyl-N-Nitrosourethans on Female Donryu Rats**

Masao HIROSE*, Akihiko MAEKAWA, Shozo KAMIYA and Shigeyoshi ODASHIMA: *Gann*, **70**, 653 (1979)

N-ニトロソウレタン及びN-アシルニトロソウレタンを雌性呑竜ラットに連続的に経口投与する事によりまた皮下滴下することによりその発癌性を検討した。100 ppm の N-ニトロソウレタン水溶液の経口投与により前胃の腫瘍が100%, 口腔及び咽頭, 食道, 十二指腸, 及び肝の腫瘍がそれぞれ46%, 8%, 71% 及び51%にみとめられた。一方N-アシルニトロソウレタン 400 ppm 水溶液の経口投与では前胃の腫瘍発生率は78%であったのに対し口腔及び咽頭, 食道腫瘍がそれぞれ93%及び98%と高率にみとめられた。またN-エチルニトロソウレタンの滴下実験では皮と共に前胃, 肝にも腫瘍の発生をみた。

* 名古屋市立大学

86 **Induction of Duodenal Tumors in F344 Rats by Continuous Oral Administration of N-Ethyl-N-nitrosourea**

Masaki TAKEUCHI, Toshiaki OGIU, Masahiro NAKADATE and Shigeyoshi ODASHIMA: *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 613 (1980)

F344 ラット雄雌各40匹に400 ppm の N-エチル-N-ニトロソ尿素溶液を飲料水として投与した。この結果, 雄32匹 (発生率80%) 雌28匹 (発生率70%) に消化管腫瘍が発生しその内, 十二指腸腫瘍が最も高率に発生した。これらの殆んどは, 腺腫あるいは腺癌であった。この他, 雄15匹 (発生率38%) 雌17匹 (発生率43%) に造血臓器の腫瘍が発生した。

87 **Mammary Tumorigenic Effect of a New Nitrosourea, 1,3-Dibutyl-1-nitrosourea (B-BNU), in Female Donryu Rats**

Toshiaki OGIU, Tadataka KAJIWARA, Kyoko FURUTA, Masaki TAKEUCHI, Shigeyoshi ODASHIMA and Keizo TADA*: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **96**, 35 (1980)

雌ドンリュウラットの4群 (1~4群) に連続的に400, 200, 100 及び 0 ppm の 1,3-ジブチル-1-ニト

ロソ尿素 (B-BNU) 溶液を飲料水として投与し, 腫瘍の発生を検索した。乳腺腫瘍の発生率は1, 2, 3, 4群それぞれ, 15/19 (79%), 20/24 (83%), 21/26 (81%), 8/25 (32%) であった。更に, 69匹の処置動物の中で, 造血器系腫瘍, 13例, 子宮腫瘍, 11例, 陰腫瘍6例が見られた。他の腫瘍は少数であった。

* 共立薬科大学

88 **Induction of Duodenal Tumors and Thy-momas in Fischer Rats by Continuous Oral Administration of 1-Propyl-1-nitrosourea:**

Masaki TAKEUCHI, Toshiaki OGIU, Masahiro NAKADATE and Shigeyoshi ODASHIMA: *Gann*, **71**, 231 (1980)

雄雌の F344/DuCrj ラットに 400 ppm の 1-プロピル-1-ニトロソ尿素溶液を飲料水として連続投与した。消化管の腫瘍の発生率は雄雌, 各々 32/36匹 (86%), 33/39匹 (85%) であった。これらの中で, 十二指腸腫瘍が最も多く, それらの殆どは腺癌で次いで, 腺腫と血管由来の腫瘍であった。胸腺腫は27匹 (75%) の雄と, 14匹 (36%) の雌に見られた。リンパ性の胸腺腫が最も多く, 上皮型, あるいは混合型のものは, 雌の8匹にのみ認められた。他に発生した腫瘍としては, 耳管や肺に見られたが, その発生率は13%以下であった。

89 **発癌過程における上皮間葉相互作用**

黒川雄二: 遺伝, **34**(1), 62 (1980)

生体において上皮が増殖, 分化する際に, 間葉の影響を強力に受けることは, 周知の事実である。

この「上皮間葉相互作用」の概念は, 近年発癌の分野に実験的に導入されてきた。

1951年の Billingham と Orr による実験は, 発癌剤による間葉の形態的, 機能的变化が上皮に癌化を引き起こすという重大な結果を導いたが, 後の追試により間葉中の上皮が既に癌化していたことが判明した。

その後, Dawe によりポリオーマウイルスと胎児マウス唾液腺を用いて, 膨大な実験が行われた。その結果, 上皮の悪性化は, 器官形成完成以後に生ずること。上皮は, 単独では悪性化せず, 必ず間葉と再結合させて「上皮間葉相互作用」を保持する必要があることが明らかとなった。更に, 発生した腫瘍の組織像生物学的悪性度などにも, 間葉の状態の大きな影響を及ぼしており, この見地から発癌実験を検討することが今後

の課題であろう。

90 変異原スクリーニング・システムの国際動向

石館 基：変異原と毒性，5，4 (1979)

1969年に米国環境変異原学会が設立されて以来，欧州・日本等に於ても同様の学会が設立され，国際協力による試験法の比較も行われている。これらと相前後して，変異原スクリーニングについての行政的立場からの取り組みも各国で進められ，いくつかの提案が為されている。スクリーニングの技術が多岐多様で，しかも，単独の手法では最終的な評価が困難なため，いずれの国でも簡便な方法を第一段階とし，段階を追って生体に近づこうとする姿勢が見られる。試験項目には，データの蓄積が不充分なものや，学問的進歩によって改良・発展の途次にあるものも含まれているので，かなりの柔軟性を持たされている。主要国いずれも変異原性試験の指針の骨格はできているが，必ずしも法的に規制するまでに至っていないのが現状である。

91 培養細胞を用いる染色体異常の検出法

石館 基：組織培養，5，115 (1979)

染色体レベルでの変化は，微生物その他を用いる突然変異現象と比較し，非特異的でかなりマクロな現象を対象としている。しかし，環境中には哺乳動物細胞を用いて初めて危険性を疑うことのできる物質も含まれている。微生物とヒトを結ぶ橋渡しの意味においても，培養細胞の染色体異常を指標とする細胞遺伝学的検索は今後も重要な役割を荷なうものと考えられる。

化学物質による染色体異常誘発試験について，標本の作製，異常の分類と観察，ラット肝 S-9 による代謝活性化法の導入などを具体的に述べた。

92 変異原性試験法による癌原性物質のスクリーニング

石館 基：フレグランス・ジャーナル，7(4)，6 (1979)

癌原性物質のスクリーニングとしてどの様な試験法を採用すべきかは，本邦はもとより国際的レベルで検討されている問題である。また，試験結果を定性的のみならず，如何にして定量的に評価するかということも当面の問題である。本報では，厚生省がん研究班で種々の材料を用いて実施された変異原性の比較実験データをもとに，Ames 法による突然変異試験の結果と，チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常誘発試験の結果とを比較した。特に，被験物質間の

誘発性の強弱を定量的に評価したうえで比較検討することを試みた。

93 Effect of N-Carboxymethyl-N-nitrosourea on Viability and Mutagenic Response of Repair-Deficient Strains of *Escherichia coli*

Kunie YOSHIKAWA, Harumi UCHINO, Miyako YAMAMOTO, Takashi YAMADA, Akio TANIMURA and Sohei KONDO: *Gann*, 70, 705 (1979)

肉類に含まれるグリコシアナミンは，人間の胃腔内と同様の条件下で，亜硝酸ナトリウムと反応して N-カルボキシメチル-N-ニトロソウレア (CMNU) に変わることが知られている。同一の栄養要求性マーカーをもつ，DNA 修復能の異なる大腸菌の同一遺伝子系株を用いて，CMNU の変異原性及び致死作用について検討した。NG 30 (*recA*⁻) と R 15 (*polA*⁻) の両株は，H/r 30 R (野生型) 及び Hs 30 R (*uvrA*⁻) 株より，CMNU による致死作用に関して高感度であった。*uvrA*⁻ 株は突然変異誘発について，野生株及び *polA*⁻ 株より感受性が高かった。*recA*⁻ 株では突然変異は誘発されなかった。ここでの知見から，大腸菌に対する CMNU の致死作用の主原因は，突然変異誘発の原因とは異なっている。

94 Differential Mutagenesis of Triamino Benzens against *Salmonella typhimurium* TA98 in the Presence of S9 Fractions from Polychlorinated Biphenyls-Phenobarbital-or 3-Methylcholanthrene-Pretreated Rats, Hamsters and Mice

Kunie YOSHIKAWA, Takehiko NOHMI, Ryuichiro HARADA, Yoshiyuki INOKAWA and Motoi ISHIDATE JR.: *J. Tox. Sci.*, 4, 317 (1979)

6種類のアミノベンゼン誘導体について，*Salmonella typhimurium* TA98 に対する変異原性を種々の S9 存在下で比較検討した。ポリ塩化ビフェニール，フェノバルビタール，3-メチルコランスレンで前処理したラット，ハムスター，マウスの肝臓から調製した S9 を代謝活性化酵素系として用いた。3-メチルコランスレンで前処理したラット及びマウスの S9 がどのアミノベンゼン誘導体についても最も効果があった。その変異原活性は，明らかに，3-メチルコランスレンで誘導されたチトクローム P-450 と相関していた。しかし，アニリン水酸化酵素の活性と変異原性とのあいだには，有意な相関は見られなかった。

95 代謝活性化からみた Ames 試験の再検討

吉川邦衛: 変異原と毒性, 6, 35 (1979)

突然変異試験, 特に Ames 試験などにおいては, 試験管内での代謝活性化法としていわゆる“S9”を用いることがごく一般的な手法となっている。そこで生化学的, 薬物代謝的観点から S9 の性状を把握しておく必要がある。今回, S9 中のチトクローム P-450 含量, アリニン水酸化酵素活性及び DMN 脱メチル化酵素活性を測定した結果, S9 調製に用いた動物種並びに誘導剤の違いによってかなりの差が見られた。またこれらの S9 を用いて行った Ames 試験の結果でも, 復帰株数にかなりの差が生じた。Ames 試験の再現性を高めるうえでも, 研究所間で結果を比較するうえでもこうした検討は極めて重要である。

このほか, S9 の貯蔵, プレートあたりの至適 S9 量, プレインキューベーションの必要性, 突然変異性の判定基準などの問題についても述べた。

96 ジバルミトイルレシチン-コレステロール 混合単分子膜へのトリフルペラジンの侵入

岡田敏史, 中垣正幸*: 薬誌, 99, 976 (1979)

フェノチアジン系向精神薬の一つであるトリフルペラジン (TFPEZ) のジバルミトイルレシチン (DPL)-コレステロール (CH) 混合単分子膜中への侵入性を表面圧 (F)-平均分子面積 (\bar{A}_{34}) 曲線をもとに検討した。

変形 Gibbs 吸着式を用いて吸着量を求めた結果, \bar{A}_{34} 一定の下で Langmuir 型の吸着等温線が得られた。Langmuir 式の直線プロットより飽和吸着量 Γ_2^∞ 及び Langmuir 定数 k が得られた。

種々の膜組成でのこれらのパラメーターと \bar{A}_{34} の関係について考察した。いずれの膜組成においても \bar{A}_{34} の減少につれ Γ_2^∞ は減少する。また, \bar{A}_{34} 一定の下での Γ_2^∞ と膜組成の関係は混合膜の状態によく対応している。即ち, LPL rich な膨脹性の膜 ($X_{DPL} > X_{CH}$) で Γ_2^∞ は小さく, X_{DPL} の減少につれ $X_{DPL} = 0.5$ までは Γ_2^∞ は増加する。 X_{DPL} の減少につれての Γ_2^∞ の増加は液体膨脹膜から固体凝縮膜へという混合膜の状態変化によく対応している。混合膜が固体凝縮膜状態となる $X_{DPL} = 0.5$ 以下では Γ_2^∞ は膜組成の如何にかかわらず一定となる。

更に, 侵入した TFPEZ 分子と不溶性膜成分 (DPL 及び CH) との膜中における混合性についても考察し

た。

97 漢方製剤の薬剤学的品質評価について—麻黄配合製剤を中心にして—

野口 衛, 谷口サチ子*: 医薬ジャーナル, 15, 1753 (1979)

麻黄配合漢方製剤を例に取り, 漢方エキス製剤の規格設定の基準となる煎剤中のエフェドリン型アルカロイド (I) 含量とエキス製剤製造工程における (I) の挙動を検討し, 煎剤中へは原料麻黄中の約 60% の (I) が溶出し, 残りは一たん煎剤中へ溶出したのち共存する他の生薬残渣に再吸着もしくは保持されること, エキス製剤製造の第一段階の抽出工程では原料中の 90% 以上の (I) が溶出するが, 減圧濃縮工程で, 濃厚エキスの一部が装置内壁に附着し取り出せないため, エキス製剤中への (I) 移行率は 60~70% となることを明らかにし, あわせて市販漢方エキス剤の中に極端に (I) 含量の低いものがあることを指摘した。

* 細野診療所薬剤部

98 生薬の品質に関する研究 (I) 文献調査

野口 衛, 布浦由樹*: 漢方研究, 202 (1979)

厚生省が指定した漢方製剤 210 品目に使用される生薬の使用頻度とそれぞれの日本薬局方あるいは局方外生薬基準収載の有無を調査し, 生薬 259 品目中, 定量法確認法がともに記載されるものが全体の 25% 以下であることを明らかにした。

* 大阪府立公衛研薬事指導部

99 スルホン酸のガスクロマトグラフィー

岡 恒, 小島次雄*: 分析化学, 28, 410 (1979)

スルホン酸塩を五塩化リンと反応させてスルホンクロリドに変え, 次いでテトラヒドリアルミン酸リチウム (LiAlH_4) で還元し, 揮発性のチオール誘導体に変換してガスクロマトグラフ (GC) 分析する方法について検討した。カラムは 3%OV-1/Chromosorb W, 1 m × 3 mm, ガラス製を使用し, 芳香族及び脂肪族スルホン酸塩を比較的低温で容易に GC 分析することができた。更に, チオール誘導体で分離困難な異性体は, *N,O*-ビス(トリメチル)アセトアミドでトリメチルシリル誘導体に導くことによって完全に分離することができた。

* 京都大学工学部

* 京都大学薬学部

100 **Application of Gas Chromatography for the Separate Determination of Free and Combined Sulphites in Foods. I.**

Takashi HAMANO*1, Yukimasa MITSUHASHI*1, Yukio MATSUKI*1, Makiko IKUZAWA*2, Koichi FUJITA*2, Tetsuo IZUMI*2, Tadao ADACHI*3, Hiroko NONOGI*3, Tazu FUKU*3, Hideyo SUZUKI, Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 195 (1979)

FPD-ガスクロマトグラフィーとヘッドスペース法を組合せて食品中の遊離及び結合型亜硫酸を分別定量した。結合型亜硫酸の存在下で遊離亜硫酸を選択抽出するには0.1M 酒石酸の使用が効果的であった。一方、酒石酸カリウムナトリウム及び硫酸第一鉄を含むNアルカリ抽出液は総亜硫酸の完全抽出に有効であった。ろ液1mlに10%りん酸5mlを加え、10秒間激しく振り混ぜた後、0°に10分間放置し、再び10秒間振り混ぜて亜硫酸を気化し、その一定量をガスクロマトグラフに注入した。干しパイナップル、ほしあんず、白並びに赤ぶどう酒からの10~20ppmの遊離亜硫酸と100~200ppmの結合型亜硫酸の回収率はそれぞれ92.5~104.0及び93.5~98.0%であった。

*1 神戸市環境保健研究所

*2 サントリー(株)中央研究所

*3 日本食品分析センター大阪支所

101 **On the Combination of Sulphite with Food Ingredients (Aldehydes, Ketones and Sugars). II.**

Tadao ADACHI*1, Hiroko NONOGI*1, Tazu FUKU*1, Makiko IKUZAWA*2, Koichi FUJITA*2, Tetsuo IZUMI*2, Takashi HAMANO*3, Yukimasa MITSUHASHI*3, Yukio MATSUKI*3, Hideyo SUZUKI, Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 200 (1979)

3種類の結合型亜硫酸(アセトアルデヒド、ビルビン酸とD-マンノースを重亜硫酸塩と結合させたもの)で結合力の異なるものを調製し、結合型亜硫酸の各種測定法を適用して測定精度を比較した。その結果、改良 Monier-Williams 法、よう素法及び蒸留比色法は結合型亜硫酸の測定に有効であるが、微量拡散法と塩化第二水銀を使う直接比色法は不適当なことがわかった。結合型亜硫酸は弱酸性~微アルカリ性のpHで室温で速やかに形成する。亜硫酸水素ナトリウムとアセ

トアルデヒド又はビルビン酸との等モル反応で約50%の結合型亜硫酸が形成する。

*1 日本食品分析センター大阪支所

*2 サントリー(株)中央研究所

*3 神戸市環境保健研究所

102 **Establishment of a Modified Rankine Method for the Separate Determination of Free and Combined Sulphites in Foods. III.**

Koichi FUJITA*1, Makiko IKUZAWA*1, Tetsuo IZUMI*1, Takashi HAMANO*2, Yukimasa MITSUHASHI*2, Yukio MATSUKI*2, Tadao ADACHI*3, Hiroko NONOGI*3, Tazu FUKU*3, Hideyo SUZUKI, Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 206 (1979)

ランキン法原法に著しい改良を加えた。吸引をバブル注入式にかえることにより装置は著しく簡略化され、再現性も向上した。注入ガスは空気でも不活性ガスでも結果に差を認めなかったため空気を使用した。流量は1.0l/minとした。亜硫酸水素ナトリウム(遊離型亜硫酸)及び3種の結合型亜硫酸(アセトアルデヒド、ビルビン酸及びD-マンノースの重亜硫酸塩との結合物)を用いて亜硫酸の分別定量のための最適条件を追求した。0°で30分間通気することにより遊離亜硫酸を留出させることができた。この条件では結合型亜硫酸は解離しない。亜硫酸の分離にはりん酸濃度が重要な役割を果たすことが知られる。25%りん酸を用いた場合には、冷時通気で遊離亜硫酸の99%以上が留出し、その後10分間加熱すると結合型亜硫酸の99%以上が回収される。改良ランキン法を濃縮オレンジ果汁の亜硫酸の測定に適用した。

*1 サントリー(株)中央研究所

*2 神戸市環境保健研究所

*3 日本食品分析センター大阪支所

103 **Occurrence of Orthophenylphenol During Manufacture of Lemon Marmalade**

Yoshio ITO, Masatake TOYODA, Shunjiro OGAWA, Masahiro IWAIDA and Fujiharu YANAGIDA*: *J. Food Protect.*, **42**, 292 (1979)

オルトフェニルフェノール(OPP)を含むレモン果皮を脱苦味処理したとき、その含量は1/2以下に減少することを確かめた。果皮のOPP含量は、水に浸漬した場合にほとんど減少しなかった。マーマレード中のOPP含量はレモンのほぼ3割の含量に比例した。常

法により調製したレモンマーマレードの OPP 含量は 0.39 ppm であって、原果中の含量 (2.3 ppm) の約 17%であった。

* 東京農業大学

104 Elution of Artificial Colors from Card-board and Wrapping Paper Used for Food Packages

Shunjiro OGAWA, Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO and Masajiro IWAIDA: *J. Food Protect.*, **42**, 297 (1979)

わが国では食品包装紙には合成着色料及び顔料は溶出ししないような加工処理が施されている場合のみ使用することができる。段ボール10試料と包装紙5試料について溶出試験を行った。100 cm² の試料紙を40°で30分間浸漬したところカードボード(段ボール)のすべてから合成着色料が溶出した。カードボード(段ボール)を表面、中間及び裏面に3分割し、別々に溶出試験を行ったところ、1試料では裏面のみから溶出したが、その他の9試料では3面からの溶出が認められた。ペーパークロマトグラフィー及び最大吸収の測定により溶出色素をクロセインオレンジと断定した。包装紙1検体よりクロセインオレンジとコンゴレッドが溶出した。

105 Colorimetric Microdetermination of Sulphites in Foods by Use of the Modified Rankine Apparatus. IV.

Shunjiro OGAWA, Hideyo SUZUKI, Masatake TOYODA, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA, Hiroko NONOGI*¹, Tazu FUKU*¹, Kazuo OBARA*¹, Tadao ADACHI*¹, Koichi FUJITA*², Makiko IKUZAWA*², Tetsuo IZUMI*², Takashi HAMANO*³, Yukimasa MITSUHASHI*³, and Yukio MATSUKI*³: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 293 (1979)

食品中の微量の亜硫酸を改良ランキン装置とパラローザニン比色法を組合せて測定した。アルカリ滴定を比色に変えることにより検出限量は 30 µg (滴定法) から 2 µg に低下した。クリンアナリシスの立場から、亜硫酸の吸収剤としては塩化第二水銀の使用をとりやめ、0.1 N 水酸化ナトリウムを用いた。操作中の酸化による亜硫酸の分解を防ぐために空気かわりに窒素を用いた。呈色阻害物質としてのアルデヒドと亜硝酸を除去するためにそれぞれジメドンとアジ化ナ

トリウムを添加した。本改良法の使用により、冷凍むきえび、甘納豆などの低亜硫酸食品についても、残留亜硫酸を正確に測定することが可能になった。

*¹ 日本食品分析センター

*² サントリー(株)中央研究所

*³ 神戸市環境保健研究所

106 Comparative Determination of Free and Combined Sulphites in Foods by the Modified Rankine Method and Flame Photometric Detection Gas Chromatography. V.

Yukimasa MITSUHASHI*¹, Takashi HAMANO*¹, Akihiko HASEGAWA*¹, Kisaku TANAKA*¹, Yukio MATSUKI*¹, Tadao ADACHI*², Kazuo OBARA*², Hiroko NONOGI*², Tazu FUKU*², Misako SUDO*³, Makiko IKUZAWA*³, Koichi FUJITA*³, Tetsuo IZUMI*³, Shunjiro OGAWA, Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 299 (1979)

改良ランキン法(MR)、ガスクロマトグラフィー(GLC)及び改変 Monier-Williams 法を各種食品の亜硫酸分析に適用した。一般に、3法による亜硫酸の測定値はきわめてよく一致した。ただし、改変 Monier-Williams 法による測定値はわずかに高い傾向を示した。硫黄化合物の共存する場合には、改変 Monier-Williams 法では顕著な妨害効果が認められた。これに対して MR 及び GLC は共存硫黄化合物による影響を受けない。両法により、食品中の遊離型及び結合型亜硫酸の分布を実態調査した結果、大部分の食品では 65%以上が結合型で存在することを確めた。両法ともにその迅速簡便性故に日常分析への応用が可能である。

*¹ 神戸市環境保健研究所

*² 日本食品分析センター大阪支所

*³ サントリー(株)中央研究所

107 Gas-Liquid Chromatographic Determination of Adipic Acid in Crackling Candy and Soft Drinks

Yoshio ITO, Shunjiro OGAWA, and Masahiro IWAIDA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 937 (1979)

クラックリングキャンデー及びソフトドリンク中のアジピン酸の迅速簡易測定法を開発した。試料のアルカリ溶液をエーテルと振り混ぜて脂質を除去した後、硫酸を加えて pH を 2 以下に下げる。食塩で飽和し

て再びエーテル抽出する。乾燥脱水した後、エーテル層を濃縮し、濃縮液中のアジピン酸をジアゾメタン試薬でメチル化する。メチル化物の一定量を水素炎検出器付きガスクロマトグラフに注入して分析する。200 ppm レベルでの添加回収率は96%であった。オレンジソフトドリンクを用いてクロスチェックを行った結果、6機関の測定値は理論値の91~100%の範囲にあった。

108 Colorimetric Determination of Boric Acid in Prawns, Shrimp, and Salted Jelly Fish by Chelate Extraction with 2-Ethyl-1,3-Hexanediol

Shunjiro OGAWA, Masatake TOYODA, Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 610 (1979)

n-ヘキサノール・酢酸 n-ブチル混液 (8:2) に 2-エチル-1,3-ヘキサジオール(EHD)を5%の割合で溶かした溶液でホウ酸を直接キレート抽出した後、抽出液からホウ酸のみを選択的に1% NaOH 中に移行させる (EHD でキレートされたホウ素はクルクミン呈色が阻害されるためにこの操作を行う)。最後に、アルカリ溶液の一定量を塩酸で酸性化し、ロータリーエバポレーター中で、クルクミンと反応させる。16 mmHg の減圧下で80°で8分加熱することにより良好な呈色を得る。本法を冷凍むきえび、同殻つきえび及び塩蔵くらげに適用し、現行標準法である灰化物についてのクルクミン呈色法と比較した、提案法によりホウ酸(H₃BO₃)の20 ppmの添加において90%以上の回収率を得た。標準法にくらべて提案法の方が殻つきえび及び塩蔵くらげでは高い値を得た。検出限界は1 ppmであり、1試行の所要時間は約1時間なので日常試験法に適している。

109 Studies on the Toxicity of Coal-Tar Dyes I. Photodecomposed Products of Four Xanthene Dyes and Their Acute Toxicity to Fish

Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA, Masatomo TATI*¹, Youki Ose*² and Takahiko SATO*²: *J. Toxicol. Sci.*, **4**, 115 (1979)

エリスロシン、エオシン、フロキシン及びローズベンガル水溶液の魚毒性は光照射により上昇することが知られたので、分解物の急性毒性について検討した。

各色素の光分解物を分離し、NMR, IR, UV スペク

トルをとって同定し、又 TL_m 試験により毒性を評価した。その結果、脱ハロゲンした光分解物の毒性は元の化合物よりも低いことが知られた。光照射によるキサントン色素の毒性の増加は、照射により解離したハロゲンによることがわかった。

*¹ 岐阜大学

*² 岐阜薬科大学

110 Fluorescence in Candies Caused by Methyl Anthranilate, a Flavoring Agent

Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *J. Food Protect.*, **42**, 658 (1979)

輸入キャンデー中のけい光物質について検討した。公定法によるけい光物質の溶出試験ではけい光染料と同一挙動を示したが、更に追跡した結果、けい光は使用したグループフレーバーに由来することが知られた。そこで原材料グループフレーバーのけい光スペクトルを調べたところ、アンスラニル酸メチルと完全に一致した。ガスクロマトグラフィーによる測定の結果、キャンデー及びグループフレーバーのアンスラニル酸メチル含量はそれぞれ40.0及び33000 ppmであった。これよりグループフレーバーの使用量を0.12%と算出した。

111 新しく指定された食品添加物(合成保存料)チアベンダゾール

慶田雅洋: 日本化粧品技術者会誌, **13**, 40 (1979)

本品は1961年に、ポリりん酸中で4-チアゾールカルボキシアミドと o-フェニレンジアミンを反応させることによって新たに合成された化合物である。本品は数多くの有機溶剤に可溶であるが、水にはほとんど溶けない。本品は当初は家畜の胃腸の寄生虫に対する駆虫薬として開発されたものであったが、後になって病原性のかびに対する広い抗菌性スペクトルを有することが明らかになり、保存料又は農薬としての用途が開けた。

数種実験動物について長期間にわたる経口急性及び慢性毒性試験を行ってその安全性を確かめた。吸入実験による亜急性毒性も極めて低いことが知られた。皮膚毒性及び眼粘膜に対する刺激は臨床的に何等見るべきものがなかった。本品は今日、一定の残留量の範囲内でバナナの軸腐れ病及びかんきつ類の灰色かび病の防止に用いることができる。

かんきつ類の残留チアベンダゾールの分析については、ジフェニル、o-フェニルフェノールをも含めた3種保存料の FID 及び FPD ガスクロマトグラフィー

による系統的分析法が著者らによって報告されている。この他にも、チアベンダゾールはポリ塩化ビニルフィルム、PVC 被覆電線、ペンキ、皮革、繊維、たたみなどに使用されてかびによる品質の劣化を防止する作用を有する。

112 ベルガモット油並びに本品含有化粧品よりの光学的皮膚炎惹起物質ベルガブテンの選択的抽出・定量法について

鈴木英世：日本化粧品技術者会誌, 13, 57 (1979)

ベルガブテンの抽出・定量法を確立した。疎水性のベルガブテンをアルカリ処理するとラクトン環の開環により水溶性となる。エーテル洗浄により可溶性の疎水性物質を除去した後、10%硫酸と加熱してラクトンリングを再閉環し、クロロホルムで抽出する。クロロホルム層の一定量を 5% SE-30 カラムをつけた FID ガスクロマトグラフに注入し、クリセンを内部標準として定量する。5~500 µg/ml のベルガブテン量の範囲で検量線は良好な直線性を示した。33.3 µg/ml レベルにおける変動係数は 4.6% であった。ベルガモット油に 100 µg/g 添加した際の回収率は 92.6% であった。市販製品 7 種の最高ベルガブテン量は約 1000 ppm であった。

113 Comparison of Two Methods and Improvements for Colorimetric Determination of Nitrite in Cod Roe

Yoshio ITO, Michiyo YODOSHI, Jun-ichi TANAKA* and Masahiro IWAIDA: *J. Food Protect.*, 42, 715 (1979)

たらこ中の亜硝酸を測定するための高感度で再現性の優れた方法を作成するための検討を行った。厚生省標準分析法 (第 1 法) 及び ISO 標準法 (第 2 法) の 2 つのジアゾ化カップリング反応について比較した。たらこの亜硝酸含量は食肉製品にくらべてはるかに低いために、第 2 法を改良し、NO₂ として 1 ppm レベルで測定するのに適当なマイクロ法とした。発色液の量を減じ、発色行程も改め、吸光度を 4 倍に高めることに成功した。20 及び 2 ppm レベルにおける添加回収率はそれぞれ 94.7 及び 88.1% であって、再現性は変動係数で 7.9% であった。改良法による測定値は、全般的にいって原法にくらべて 37.1% 高い値を示した。第 1 法による亜硝酸の測定値は第 2 法原法よりも低いことが知られた。これは pH を調整せずに亜硝酸抽出を行っているために生じたロスであると考えられる。輸入たらこの NO₂ 含量は 0.16~1.03 ppm の範囲であっ

た。

* 日本冷凍食品検査協会関西総合試験所

114 Detection of Adulterated Milk Fats by Gas Liquid Chromatographic Determination of Butyrate and Caproate

Masahiro IWAIDA, Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI, Masatake TOYODA and Takako WATANABE: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 20, 328 (1979)

酪酸メチル及びカプロン酸メチルのガスクロマトグラフィー (GLC) について考案した。最終的に確定した方法を純乳脂肪及び乳・乳製品から抽出した 18 種の脂肪サンプルの分析に適用し、公定法による測定結果と比較した。乳脂肪中の酪酸及びカプロン酸含量はメチルエステルとしてそれぞれ 2.5~5.0 及び 1.7~3.5% の範囲にあるので C₄/C₆ 比は 3.0 を超えることはない。酪酸とカプロン酸の GLC から 5 試料は純乳脂肪ではないと判定されたが、これらは現行公定法では偽和物と鑑定できなかった。しかしながら一方では酪酸とカプロン酸の GLC では偽和が行われたことを検出できないが、従来法 (ステロールの GLC 及び半微量酪酸価法) で検出できる試料もあった。結局、乳脂肪の純粋性の鑑別には 3 法の併用が必要であると結論する。

115 Gas-Liquid Chromatographic Determination of Thiourea in Citrus Peels

Masatake TOYODA, Shunjiro OGAWA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62, 1146 (1979)

かんきつ果皮中のチオ尿素の検出・定量法を開発した。果皮をエーテル抽出し、エーテル層を水と共に硫酸ナトリウムに吸着させる。チオ尿素を硫酸ナトリウムと果皮残さから酢酸エチル・アセトン混液 (2:1) で回収する。回収液をアルミナカラムでクリンアップし、溶出液を減圧濃縮した後、濃縮液からチオ尿素を炭酸ナトリウム溶液で抽出する。チオ尿素のベンゾイル誘導体を調製した後、ガスクロマトグラフィで定量する。レモン果皮よりの 1, 10, 100 ppm レベルでの添加回収率はそれぞれ 85.3, 93.1 及び 97.6% であった。検出限界は 0.08 ppm,

116 **Studies on the Toxicity of Coal-Tar Dyes II. Examination of the Biological Reaction of Coal-Tar Dyes to Vital Body**

Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO, Masahiro IWAIDA, Masatomo TATI^{*1}, Youki OSE^{*2}, and Takahiko SATO^{*2}; *J. Toxicol. Sci.*, **4**, 211 (1979)

キサンテン色素と生体内化合物との相互作用による毒性について検討した。

(1) 魚のえらに吸着したローズベンガル量がふえると赤血球数が増加することを認めた。魚の死因は無酸素血症によるものと推定する。

(2) キサンテン色素の牛血清アルブミンとの結合力はローズベンガル, フロキシシン, エリスロシン, エオシン, ウラニンの順に減少した。この順序は TL_m 値による毒性順位と全く一致した。

(3) *Bacillus subtilis* を用いる rec-assay 試験の結果から, フロキシシンとローズベンガルは DNA を破壊する変異原性のあることを認めた。

^{*1} 岐阜大学

^{*2} 岐阜薬科大学

117 **Detection and Determination of Bergapten in Bergamot Oil and in Cosmetics**

Hideyo SUZUKI, Keizo NAKAMURA and Masahiro IWAIDA; *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **30**, 393 (1979)

ベルガプテンの抽出・定量法を完成した。ベルガプテンをアルカリ処理するとラクトン環が開環して水溶性となる。エーテルで疎水性の不純物を除去した後、10%硫酸処理して閉環し、再生したベルガプテンをクロロホルムで抽出する。その一定量をクリセンを内部標準としてガスクロマトグラフに注入する(5% SE-30 カラム, FID)。15~1500 ng のベルガプテン量で良好な検量線を得た。33.3 ng における変動係数は 4.6% であった。100 μg/g レベルでの添加回収率は 92.6% であった。市販ベルガモット油に最高 1000 μg/g のベルガプテンを検出した。

118 **Detection and Determination of Sodium Silicoaluminate in Commercial Coffee Cream Powder**

Shunjiro OGAWA, Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA; *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **21**, 148 (1979)

本品は微細な白色無定形の粉末又は粒であって、

Na₂O, Al₂O₃ 及び SiO₂ 比は約 1:1:13.2 である。本品は諸外国では固結防止剤として繁用されているが、わが国では食品添加物としての使用は認められていない。けい素とアルミニウムは原子吸光法では感度が低いので、希釈く粉末についてけい光 X 線分析を行った。標準粉末コーヒークリームのアルミニウムとけい素含量は市販粉乳と同じレベルであった。これに対して疑いのもたれた試料ではアルミニウム含量は標準よりもやや高く、けい素含量は約 2 倍の値を示し、けいアルミン酸ナトリウムを添加したものであることが認められた。

119 **マイクロ波を利用した加熱方式による牛乳などの総固形分の迅速測定法について**

慶田雅洋, 吉年美千代, 白石賀洋子^{*}; 食衛誌, **21**, 150 (1980)

自動ひょう量装置並びに計算装置の組み込まれたマイクロ波加熱装置 (TMS チェッカ) を使用して乳などの総固形分を測定した結果について公定法 (常圧加熱乾燥法) と比較検討した。

1. TMS チェッカによるマイクロ波オープン加熱時間と測定値の関係について調べた結果、生乳及び飲用牛乳では 2~2.5 分で恒量になることを認め、調整粉乳還元物、コーヒークリームも含めて、加熱時間を 3 分にセットすることに定めた。この条件下では TMS チェッカによる 1 試料の測定所要時間は約 4 分であり、公定法 (約 4 時間) の 1/60 に短縮される。

2. 同一試料について、両法による 25 回の反覆測定を行い、変動幅、標準偏差及び変動係数を求めて比較した。繰返し精度は生乳及び飲用牛乳では標準偏差で 0.10 以下であって、公定法に比べて遜色なく、むしろ精度は若干良好であるという結果を得た。調整粉乳還元物及びコーヒークリームでは非乳成分及び砂糖の存在のために焦げの影響が出て測定精度はかなり落ちるが、この傾向は公定法においても認められ、やはり同一検体については TMS チェッカの方が繰返し精度が優れていることが知られた。

3. 飲用牛乳について両法による測定値の相関係数を求めた結果は 0.9804 であって、高い相関のあることを認めた。なお、TMS チェッカは標準試料を用いて、その測定値が公定法と差を生じないように調整した後、使用することが必要である。

4. 公定法は測定者の習熟度、室内の湿度などにより測定値が影響を受けやすいが、TMS チェッカではこのような危険性は少ない。

5. 生乳ではミルコテスターとの併用によって無脂

乳固形分の測定作業はさらに迅速化される。

* 神戸女子薬科大学

120 Inspektionssystem importierter Lebensmittel in Japan und das Problem der Benzoesäure im Käse

Masatake TOYODA, Yoshio ITO and Masahiro IWAIDA: *Deut. Molkeri. Ztg.*, **13**, 390 (1980)

わが国では厚生省の食品衛生監視員が輸入港に駐在し、輸入食品の監視並びに検査を行っている。複雑な検査は国立衛生試験所で行われる。チーズの製造において安息香酸又はその塩類を用いることは禁止されている。安息香酸の定量にはガスクロマトグラフィーが適用される。安息香酸は発酵乳製品においては乳酸菌の作用によっても形成される。1971年以降チーズ中の100 ppm までの安息香酸は自然含量として認められている。ホエーチーズについてはより高い限度値を定めることが必要であろう。

121 地衣類の抽出成分・ウスニン酸とその利用

井上哲男, 慶田雅洋: 日本化粧品技術者会誌, **14**, 57 (1980)

地衣類は他の高等生物と異なる化学物質を含んでいるので、生物有機化学上注目される。特にウスニン酸は地衣類に広く分布する抗菌性物質として多くの研究者の対象となっており、初期には結核に対する著しい抗菌活性から治療薬としての応用も考えられたが、現在ではそのグラム陽性菌に対する広範囲の抗菌性から医薬品、医薬部外品及び化粧品に対する防腐剤としての添加効果が注目される。本品はぶどう球菌に対して32万倍の希釈でその発育を抑制することができる。特にヘキサクロロフェンの添加が自主規制されているパウダー、軟膏類にはこれに代る製品として注目される(添加量は約0.36%)。本品の検出・定量法としては古くから Ehrlich 試薬による呈色法が知られているが、最近では液体クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィーによる方法が開発されている。

122 内毒素による体温上昇とレセルピンの体温降下作用との関係について

加納晴三郎, 西尾 晃: 日薬理誌, **75**, 527 (1979)

ウサギを用いて内毒素による発熱機構をその媒体と考えられる内因性発熱物質の産出について検討すると共に、レセルピンによる体温降下が内因性発熱物質と

如何なる関係があるかについて研究を行い、以下の結果を得た。1) ウサギに内毒素を静注すると発熱に伴って内因性発熱物質が遊離された。2) 内毒素を微量(0.01 µg/body) 大槽内に注射すると著しい発熱をおこすが内因性発熱物質の産出は認められなかった。3) 内毒素を大槽内(0.01 µg/body) または静脈内(0.5 µg/body) に注射しておこる発熱に対してレセルピン(1 mg/kg) は著しい解熱効果を示した。この度合は正常ウサギに対する効果より大であった。4) レセルピン(1 mg/kg) 前処置したウサギに内毒素(0.5 µg/kg) を静注したときは体温上昇は認められなかったが、明らかに内因性発熱物質の存在は対照群と同程度に認められた。以上の結果から、内毒素による発熱は主として内毒素の直接の作用であり、内因性発熱物質は主要な媒体となりえないのではないかと推論を得た。

123 Studies on the Relationship between Pyrogen and Febrile Reaction on Fetal Development. I. Effect of LPS on Pregnant Rabbit

Seizaburo KANOH, Akira NISHIO: *Jap. J. Pharmacol.*, **29**, Suppl. 63p (1979)

内毒素の多様な生理作用のうち、妊娠動物に対する流産作用が知られている。馬流産菌感染による馬の流産がその菌の内毒素によることが明らかにされてより、妊娠動物に対する内毒素の効果が検討され、主因は胎盤におけるシュワルツマン様の出血性障害であろうと推定されてきた。しかし、内毒素による発熱がどのように胎仔発育に影響するかは実際的にも興味のある点である。我々は、妊娠家兎を用い、末梢より大量の内毒素を与えて発熱させた場合と、中枢に微量の内毒素を与えて発熱させた場合とを胎仔発育を指標として検討した。内毒素は大腸菌より hot-phenol 法により抽出したものをを用い、妊娠日の算定は交配日を妊娠0日とした。現在までに以下の成績を得た。

1) 10 µg/kg の LPS を家兎に皮下注(sc)したときの発熱度は 2°前後で、0.1 µg/kg の LPS を大槽内注射したときとはほぼ同程度になることを認めた。

2) 妊娠の経過日数を4群におけ、第I群(4, 5, 6日)、第II群(11, 12, 13日)、第III群(19, 20, 21日)及び第IV群(25, 26, 27日)として、LPS を10 µg/kg, sc あるいは LPS を0.1 µg/kg, ic を夫々の群に3日間連投した。いずれの群において母体重は減少したが、末期の投与群ほど体重減少は著しかった。また、この度合は ic 投与群に強く認められた。

3) 末期胎仔の体重は LPS 処置群ではいずれも対

照に比べて少なく、特に ic 投与群では低体重仔が多発し、死亡胎仔又は水頭症の事例がみられた。すなわち、ic 投与によって胎仔毒性が著しく強く現われた。

4) LPS を sc 処置した家兎より開腹により得た末期胎仔の LPS 反応性を検討したところ、処置群の胎仔の発熱度は対照より著しく低いことを認めたが、LPS を ic 処置して得た末期胎仔のそれは対照との差を認めなかった。

以上の実験成績から、妊娠家兎に LPS を反復投与して発熱させた時には、胎仔の発育不全をもたらすと共に、胎仔の LPS への発熱反応性にも影響を及ぼすことが明らかとなった。

124 Studies on the Relationship between Fetal Toxicity and Maternal Functions. (1) Fetal Toxicity of Aspirin.

Seizaburo KANO, Takafumi ITAMI and Makoto EMA: *Teratology*, 20, 172 (1979)

前報において著者らは aspirin(ASA) を 1 回投与した時妊娠ラットに対する毒性について検討し、胎仔毒性は薬物濃度とある程度相関性を有し、また各臓器内の ATP レベルの減少が認められることを明らかにしたが、今回は妊娠の各時期に ASA 50 又は 250 mg/kg を 3 回投与し、胎仔毒性の発現と母体肝-胎盤-胎仔系における生化学的変化を測定し、毒性との相関性を明らかにしようとして試み、以下の知見を得た。

(方法) ウィスター系ラットを用いた。ASA は 0.5% アルギン酸ソーダに懸濁させ、胃ゾンデで投与した。ASA は 50 又は 250 mg/kg/day を初期 (5, 6, 7 日)、中期 (8, 9, 10 日) あるいは後期 (16, 17, 18 日) の妊娠ラットに投与した。胎仔への影響は、妊娠 20 日に開腹し、常法に従い、外表異常を観察し、Dawson 氏法により骨格異常を観察した。ATP 及び alkaline phosphatase (ALP) 活性の測定は、それぞれ B. L. Strehler 及び Bessey-Lowry 法に準じた。

(結果) 1) 母体体重増加の抑制、胎仔体重の低下は ASA 250 mg/kg の妊娠初期及び中期投与群で著しく、後者では胎盤重量の低下も認められた。2) ASA 250 mg/kg の中期投与群では外脳、脊椎裂、臍帯脱出及び口唇裂などの外表奇形が 10% の高率で認められた。3) 上記の群では骨格異常 (腰肋、仙椎前椎骨数の過剰、椎体分離などが最も多く (78%))、次いで ASA 250 mg/kg 初期投与群 (28%) であった。4) ASA を 3 日間投与した後 24 時間の ATP レベルは母体肝、胎仔肝では低下したが胎盤では著明な変化はなかった。5) 胎

盤 ALP 活性は妊娠の経過とともに増加するが、ASA 投与により著明に抑制され、妊娠 20 日目でなお著しい減少が認められた。6) この ALP 活性の Sephadex G-200 カラムでの溶出位置は対照群と差は認められず、活性の回復も認められなかった。

以上の結果より、胎仔毒性と肝 ATP レベル及び胎盤 ALP 活性との相関性が示唆されたが、今後、詳細に検討する予定である。

125 Studies on the Relationship between Fetal Toxicity and Maternal Functions (2) Effect of P-450.

Seizaburo KANO, Makoto EMA and Takafumi ITAMI: *Teratology*, 20, 172 (1979)

薬物代謝酵素は薬物の作用に重要なかわりを持ち、妊娠中の薬物代謝酵素を検討することは薬物の催奇形性、胎仔毒性を検討する上で重要な問題である。我々はこの様な視点にたち、薬物代謝酵素誘導剤として phenobarbital (PB) を用いて以下の実験を行った。ラットの妊娠中期 (7, 8, 9 日) に PB (50 mg/kg, ip) を投与後 1 日目に有機リン剤 phosvel (PV: 50 mg/kg, po) を投与したとき毒性の低減を認めたが、PB 投与後 4 日以後の投与では毒性の変化はなかった。妊娠後期 (15, 16, 17 日) の PB 投与によっても同様の結果であった。妊娠後期は PB と PV との投与群でのみ胎仔体重の低下を認めた。また PB 投与ラットの新生仔発育は何れも良好であった。母体肝、胎盤を病理組織学的に検査した結果、肝では著明な変化を認めなかったが、有機リン剤投与群の胎盤にかなりの頻度で絨毛部の壊死像が観察された。妊娠後期の投与群において低体重仔がみられたことより、妊娠後期に酵素誘導を行ったときの有機リン剤の毒性の変化を更に明らかにする目的で、母体肝の P-450 レベルを調べたところ、妊娠中の母体肝の P-450 レベルには PB による著明な変動を認めなかった。更にこれらの母体肝のアミノピリン-N-脱メチル酵素活性及びアニン水酸化酵素活性について検討した結果、PB 投与によって妊娠 18, 20 日ともに両酵素活性の上昇がみられた。PB 投与により有機リン剤の毒性が低減したことより、その target enzyme であるコリンエステラーゼ (ChE) 活性がどのような変動を受けるかを ChE 阻害剤として知られている DFP (diisopropyl fluorophosphate) を 0.5 mg/kg, po 投与して活性を測定した結果、PB 前処置による活性の著しい変動を認めなかった。以上より、PB 前処置により有機リン剤の毒性の低減が認められ、これは PB による母体肝の酵素活性上昇が一因である

ことが示唆された。今後、これらを含め、胎仔毒性における薬物代謝酵素の意義について更に検討して行きたいと考える。

126 発熱物質

加納晴三郎：総合臨床，29，453（1980）

実験薬理的な立場から発熱物質に関する現在までの著者の研究室における成績を中心として研究の概要を述べた。すなわち、発熱物質の構造と活性については細菌性発熱物質（LPS）の発熱活性の担手と考えられている Lipid A の諸性質について記述し、発熱物質による発熱機構に関しては、現在まで発熱機構として提出されている白血球性発熱物質媒体説、カテコールアミン説、LPS の直接作用説、イオン説、PGE₁ 媒体説またセットポイント説などについて解説した。最後に、発熱物質による発熱反応の種属特異性については、種属特異性が発熱機構を明らかにする上で重要な手がかりであり、神経鞘 Myelin 分画の主成分である Proteolipid と LPS との相互作用について、ウサギ、ラット及びニワトリを用いた著者らの実験例をあげ、Proteolipid が種属特異性に重要な役割を担うと考えられる結果について詳細に解説し、更に分子レベルでの研究の必要性を説いた。

127 胎盤由来の耐熱性アルカリフォスファターゼ

森山郁子*，加納晴三郎：臨床化学，8，257（1979）

アルカリ性フォスファターゼ（ALP）は動植物界に広く分布し、古来その研究は多い。しかし、現在まで結晶化されたり、生理的意義の明確に定まったものはほとんどない。

ヒト胎盤由来の ALP は酵素学的な意味では一般的な ALP の範疇に入るものの、56° 30 分の加熱にも失活しないという物性面での特徴を有し、妊娠の進行とともに血中に遊出しその濃度が増加する。したがって、母体血中の胎盤由来の ALP のみ容易に測定可能であり、妊娠中の臨床診断の有力な手段となり得る。

本稿では、ALP の基質特異性、至適 pH、阻害剤及び各種臓器のアイソザイムについて概説し、胎盤由来の ALP について、その精製法、アミノ酸組成、アミノ酸による阻害あるいは金属イオンによる活性化の機構及びアイソザイムの分析法について詳細に解説した。更に、胎盤機能検査法として血中 ALP 測定を利用し、異常妊娠を判定する著者らの方法について述べ、臨床診断上の重要性について強調した。

* 奈良医科大学

1. 末吉祥子, 神谷庄造: **Pyridylmethylnitroso-urea** 類におけるニトロソ基の転位反応について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
2. 丹野雅幸, 神谷庄造: シアノトリアツェン類のメチル化について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
3. 宮原 誠, 神谷庄造: **1,3-Diarylnitroso-urea** 類の反応(1) ベンゼン中の分解反応について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 30)
4. 中館正弘, 福代香子: 発癌性アシル型 **N**-ニトロソ化合物の反応性について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 30)
5. 中館正弘, 福代香子, 吉川邦衛, 能美健彦, 石館基: **Phenylhydroxylamine** 類の変異原性について
日本癌学会第38回総会 (1979. 9. 27)
6. 宮原美知子, 神谷庄造, 前川昭彦, 小田嶋成和: 2-クロロエチルニトロソウレイドアルキル基及びメチルニトロソウレイドアルキル基を有するピリジン **N**-オキサイド類の抗腫瘍性について
日本癌学会第38回総会 (1979. 9. 27)
7. 宮原美知子, 宮原 誠, 神谷庄造, 前川昭彦, 小田嶋成和: 3-ニトロソ-2-オキサゾリドン誘導体の抗腫瘍性について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
8. 末吉祥子, 丹野雅幸, 神谷庄造: **Pyridylmethylnitroso-urea** 類におけるニトロソ基の転位反応について(2)
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 4)
9. 宮原 誠, 神谷庄造: 1, 3-ジアリル尿素類のニトロソ化反応について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 4)
10. 松田りえ子, 仁木喜治, 立沢政義, 江島 昭: 高速液体クロマトグラフィーによる消炎剤の定量
日本分析化学会第28年会 (1979. 10. 7)
11. 松田りえ子, 仁木喜治, 立沢政義, 江島 昭: 高速液体クロマトグラフィーによる感冒剤中の解熱鎮痛剤及び鎮咳・祛痰剤の定量
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
12. 松田りえ子, 仁木喜治, 立沢政義, 江島 昭, 堀内 孝*1, 山田 豊*1, 大坪 修*1, 稲生綱政*1, 高井信治*2: 高速液体クロマトグラフィーによる腎移植患者尿の分析
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
*1 東大医科学研究所
*2 東大生産技術研究所
13. 柴崎利雄, 堀井幸江, 池田辰男, 石橋無味雄, 江島 昭: 高速液体クロマトグラフィーによるサリチル酸エステル類の純度試験及びサリチル酸エステル類混合剤の分離定量
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
14. 緒方宏泰, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 鯉淵昌信, 柴崎利雄, 江島 昭, 渡辺 康*1, 本橋 清*1, 辻昭治郎*2, 川津泰仁*2: 固形剤の人での **bioavailability** と溶出速度との関連性について: 人の胃液酸度と **bioavailability**
第11回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム (1979. 11. 7)
*1 国立療養所東京病院
*2 国立横須賀病院
15. 青柳伸男, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 鯉淵昌信, 柴崎利雄, 江島 昭: 固形剤の溶出試験法の検討(9), グリセオフォルビン錠の溶出試験法と **Bioavailability**
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 5)
16. 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰, 鯉淵昌信, 柴崎利雄, 江島 昭: 固形剤の溶出試験法の検討(10), **TDS** 糖衣錠の溶出試験法と **Bioavailability**
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 5)
17. 谷本 剛, 早川寛夫, 川村次良: **20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase** (第3報) 補酵素との相互作用
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 28)

18. 谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: 酵素製剤の定量試験における問題点
第16回全国衛生化学技術協議会 (1979. 10. 3)
19. 徳永祐司, 木村俊夫, 川村次良: ピロールによるヒドロコルチゾン, プレドニゾン及びコルチゾンのけい光定量
日本分析化学会第28年会 (1979. 10. 7)
20. 谷本 剛, 早川堯夫, 川村次良: 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase の作用機序 (第4報) 基質特異性と基質類縁体による阻害
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
21. 早川堯夫, 谷本 剛, 川村次良: 20 β -Hydroxysteroid dehydrogenase の作用機序 (第5報) 酵素の触媒部位との相互作用における 20-oxo-steroid の構造要求性
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
22. 押沢 正, 早川堯夫, 山村雅一*: 抗炎症剤のヒト好中球 (多形核白血球) 機能に及ぼす影響
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
* 国立相模原病院 (現在 佐賀医科大学)
23. 池淵秀治, 城戸靖雅, 山根靖弘*: 投与方法の違いによる鉛のポルフィリン生合成に与える影響の差異について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
* 千葉大学薬学部
24. 池淵秀治, 城戸靖雅, 寺尾允男, 山根靖弘*: 投与方法の違いによる鉛の生体に及ぼす影響の差異について (鉛の細胞分布と存在形)
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 4)
* 千葉大学薬学部
25. 永松国助, 城戸靖雅, 土岐 智*: Codeine 代謝物の毒性並びに薬理作用について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 28)
* 福岡大学薬学部
26. 加藤玲子, 斎藤マリ子*, 大沢利昭*, 井川洋二*: マウス赤血球膜主要シアロ糖蛋白の精製及び赤血球分化におけるその蛋白の挙動について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
*1 東京大学薬学部
*2 癌研究所
27. 加藤玲子, 永松国助, 城戸靖雅, 寺尾允男: ¹⁴C-エチレンチオウレアの吸収・分布・排泄・代謝
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
28. 城戸靖雅: 薬剤のラジオイムノアッセイ—非生理的ハプテンを中心にして—
第18回 Radioimmunoassay 研究会 (1979. 10. 18)
29. 関田節子, 義平邦利, 名取信策: *Chaetomium thielavioideum* の代謝産物について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
* 食品薬品安全センター
30. 福岡正道, 義平邦利, 名取信策, 坂本京子*, 岩原繁雄*: 香辛料蔘蘿 (イノンド) からの突然変異原性物質の分離, 構造について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
* 食品薬品安全センター
31. 黒柳正典*, 福島清吾*, 義平邦利, 名取信策, Thaweephol DECHATIWONGSE*, 三橋国英*, 西正敏*, 原 周司*: タイ国民間薬 *Zingiber cassumunar Roxb.* の成分研究 (I)
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
*1 静岡薬科大学
*2 Department of Medical Science, Thailand
*3 福岡大学薬学部
32. 神田博史, 佐竹元吉: セリ科生薬「前胡」(I) 中国産前胡の成分
日本生薬学会第26回年会 (1979. 11. 9)
33. 黒柳正典*, 福島清吾*, 義平邦利, 名取信策, Thaweephol DECHATIWONGSE*, 三橋国英*, 西正敏*, 原 周司*: タイ国民間薬 *Zingiber cassumunar Roxb.* の成分研究 (II)
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
*1 静岡薬科大学
*2 Department of Medical Science, Thailand
*3 福岡大学薬学部
34. 関田節子, 義平邦利, 名取信策, 宇田川俊一, 倉田 浩, 室井哲夫*, 梅田 誠*: *Chaetomium* 及

- び関連菌類のマイコトキシンの産生
日本薬学会第100年会(1980.4.2)
- *1(現在)塩野義製薬(株)
*2横浜市立大学医学部
35. 佐竹元吉, 神田博史*: セリ科生薬「前胡」(II)
市場品前胡の生薬学的研究
日本薬学会第100年会(1980.4.4)
- * (現在) 広島大学総合薬学科
36. 新谷英晴, 水町彰吾, 菊池寛, 辻 楠雄, 大場琢磨: 医療用具に残留するエチレンオキサイドに関する研究(第2報), MBTHを用いたエチレンオキサイドの微量比色定量法
第54回日本医科器械学会大会(1979.6.2)
37. 辻 楠雄, 菊池 寛, 新谷英晴, 大場琢磨: 医療用具の残留エチレンオキサイドに関する研究(第3報), サンプルングによる残留エチレンオキサイド値の差異について
第54回日本医科器械学会大会(1979.6.2)
38. 大場琢磨: 縫合材料の規格の現状と問題点
第12回縫合材料研究会(1979.7.14)
39. 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭, 佐藤洋子*1, 観照雄*2: 輸入靴クリーム中の有機水銀化合物
第16回全国衛生化学技術協議会(1979.10.3)
- *1 横浜市衛生研究所
*2 東京都立衛生研究所
40. 岡本光美*, 山田不二造*, 中村晃忠: Mesitylene-sulfonyl 化によるナフチルアミンの高速液体クロマトグラフィー
日本薬学会第99年会(1979.8.29)
- * 岐阜県衛生研究所
41. 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: 消炎剤トリス(2,3-ジプロモプロピル)ホスフェート(通称 TRIS)のガスクロマトグラフィー
日本薬学会第100年会(1980.4.4)
42. 松村年郎, 樋口英二, 谷村顕雄, 亀谷勝昭: 空気中のホルムアルデヒド自動計測器の評価
日本分析化学会第28年会(1979.10.7)
43. 松村年郎, 樋口英二, 谷村顕雄: 室内空気における窒素酸化物濃度について
第20回大気汚染学会(1979.11.6)
44. 木嶋敬二, 松橋啓介, 狩野静雄, 谷村顕雄: 化粧品及び化粧品原料の分析法に関する研究, 配伍許可ホルモンの安定性について
日本薬学会第100年会(1980.4.3)
45. 佐谷戸安好, 中室克彦, 松井啓子: ニッケルの生体内における存在形態に関する研究
日本薬学会第99年会(1979.8.30)
46. 安藤正典, 清水素行, 佐谷戸安好: カドミウム連続経口投与時のカルシウム代謝調節機構に及ぼす影響
第6回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム(1979.10.5)
47. 佐谷戸安好, 中室克彦: 化学形の相違による金属関連化合物のヒトリンパ球の染色体異常について
日本組織培養学会第48回研究会(1979.11.14)
48. 佐谷戸安好, 中室克彦, 松井啓子: トリハロメタンの生成機構に関する研究(I) フミン酸とクロロホルム生成の関係について
日本薬学会第100年会(1980.4.3)
49. 佐谷戸安好, 安藤正典, 菊池志保子: トリハロメタンの生体運命に関する研究(I) CHCl_2Br , CHClBr_2 及び CHBr_3 の吸収, 排泄について
日本薬学会第100年会(1980.4.4)
50. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 食品中の石油汚染の指標としてのイソパラフィン類について
日本薬学会第99年会(1979.8.29)
51. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 環境汚染性化学物質の生化学的評価法について——アクリジンの代謝——
日本薬学会第100年会(1980.4.3)
52. 内山貞夫, 近藤龍雄, 内山 充: 食品の加熱によるフリーラジカル生成
日本薬学会第99年会(1979.8.29)

53. 内山貞夫, 内山 充: 生体成分の TLC-けい光濃度法における増けい光法
第4回生体成分の分析化学シンポジウム (1979. 10. 17)
54. 三原 翠, 近藤龍雄, 内山 充: ラットの老化・ CCl_4 中毒・ビタミン E-欠乏症における組織脂質過酸化の測定
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 28)
55. 三原 翠, 内山 充: 生体内脂質過酸化の各種測定法による検索
第3回過酸化脂質研究会 (1979. 10. 2)
56. 五十畑悦子, 天野立爾*, 内山 充: 動物組織中の **Sterigmatocystin** とその関連化合物の分析
第41回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (1979. 5. 15)
-
- * (現在) 国民生活センター
57. 五十畑悦子, 天野立爾*, 内山 充: 高速液体クロマトグラフィーによる **Sterigmatocystin** 分析 (生体試料中の **Sterigmatocystin**)
第6回カビ毒研究会 (1979. 9. 7)
-
- * (現在) 国民生活センター
58. 五十畑悦子, 天野立爾*, 内山 充: マイコトキシンの化学分析に関する研究 XIV タンパク質類とマイコトキシンの分離分析
日本食品衛生学会第38回学術講演会 (1979. 11. 21)
-
- * (現在) 国民生活センター
59. 酒井綾子, 谷村顕雄: スルピリンと亜硝酸との反応による N-ニトロソ化合物の生成
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
60. 酒井綾子, 吉川邦衛, 谷村顕雄, 富田 勲*: スルピリンと亜硝酸との反応により生成する N-ニトロソ化合物及びその関連化合物の変異原性
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
-
- * 静岡薬科大学
61. 山田 隆, 山本 都, 谷村顕雄: ピログルタミン酸と亜硝酸塩の反応について
日本食品衛生学会第39回学術講演会 (1980. 5. 22)
62. 辰濃 隆, 井上たき子, 谷村顕雄: ポリオレフィンからの **BHT** の長期溶出試験について
第16回全国衛生化学技術協議会 (1979. 10. 2)
63. 加藤三郎, 阿佐美章治*: サッカリン及びグリチルリチンなどの逆相分配型高速液体クロマトグラフィー
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
-
- * 聖徳短大
64. 神蔵美枝子, 江口浩子: 食用青色1号の付随色素について
日本食品衛生学会第37回学術講演会 (1979. 5. 17)
65. Hajimu ISHIWATA: **Nitrite and nitrate in foods**
6th Annual Meeting of Chief Provincial Health Laboratory (1979. 3. 7)
66. 石関忠一: コラーゲンペプチド及びその誘導体の各種防腐剤に対する影響
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 28)
67. 関 利仁*¹, 大塚藤男*¹, 紫芝敬子*¹, 滝沢清宏*¹, 山口英世*², 奥住捷子*³, 小島満子, 倉田 浩: **Trichosporon cutaneum** 皮膚感染症の1例
第23回日本医真菌学会総会 (1979. 10. 28)
-
- *¹ 東京大学皮膚科
*² 東京大学細菌
*³ 東京大学附属病院中検
68. 小島満子, 倉田 浩, 曾根田正己*: 惣菜類及び鮮魚介類から分離した酵母
日本菌学会第24回大会 (1980. 5. 24)
-
- * 東京家政大学
69. 鈴木 昭, 河西 勉, 小沼博隆, 高山澄江, 今井忠平*, 斎藤純子: 未殺菌, 殺菌液全卵(凍結)のサルモネラ及び黄色ブドウ球菌汚染について
日本食品衛生学会第39回学術講演会 (1980. 5. 22)
-
- * QP 研究所
70. 寺岡葉子, 林 長男, 小高秀正, 牛嶋峰子, 谷村顕雄, 倉田 浩: 硝酸ナトリウム並びにジメチルアミン投与サルのジメチルニトロソアミン胃内生成
日本食品衛生学会第38回学術講演会 (1979. 11. 22)

71. 小高秀正, 林 長男, 寺岡葉子, 牛嶋峰子, 谷村 顯雄, 倉田 浩: サル胃内容物中のジメチルニトロソアミン生成に関与と思われる分離株の検討
日本食品衛生学会第38回学術講演会 (1979. 11. 22)
72. 牛嶋峰子*, 林 長男, 寺岡葉子, 小高秀正, 谷村 顯雄, 倉田 浩: サル胃内から分離されたニトロソジメチルアミン生成菌種—好気性菌について—
日本食品衛生学会第39回学術講演会 (1980. 5. 22)
- * 実践女子大学
73. 宇田川俊一, 倉田 浩, 関田節子, 義平邦利, 名取信策: ステリグマトシスチン生産菌としての *Chaetomium udagawae* の菌学的性質
第10回マイコトキシン研究会 (1979. 10. 6)
74. 宇田川俊一: 輸入香辛料から分離された子のう菌類数種について
第23回日本菌学会大会 (1979. 5. 26)
75. 室井哲夫, 箕浦久兵衛*, 宇田川俊一: 日本産の糞生 *Cercophora* 属について
第23回日本菌学会大会 (1979. 5. 26)
- * 広島大学工学部
76. 高島浩介*¹, 坂本京子*¹, 宇田川俊一, 一条 茂*²: 動物被毛の真菌 I 牛及び馬の被毛について
第23回日本菌学会大会 (1979. 5. 26)
- *¹ 食品薬品安全センター
*² 帯広畜産大学
77. 津田貴子*¹, 仲嶋正一*¹, 宇田川俊一, 鶴沢 洵*²: 菌類生産物質の研究 (第6報) *Myrothecium* sp. の菌体成分について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
- *¹ 星薬科大学
*² 理化学研究所
78. 一戸正勝, 倉田 浩, 高島浩介*: 臨床例由来の *Fusarium* 属菌の形態学的, 生理学的性質について
日本医真菌学会第23回総会 (1979. 10. 27)
- * 食品薬品安全センター-秦野研究所
79. 石橋康久*, 所 敬*, 香川三郎*, 一戸正勝: 角膜に対する *Fusarium* の病原性について
日本医真菌学会第23回総会 (1979. 10. 28)
- * 東京医科歯科大学医学部
80. 森 税男*, 小川時彦*, 山本順昭*, 田中幸生*, 小野勝美*, 頭本藤雄*, 一戸正勝, 倉田 浩: 果実類の糸状菌による変敗とかび毒に関する研究—II. 果実及び果実製品中のパツリンの検出について
日本食品衛生学会第38回学術講演会 (1979. 11. 22)
- * 川崎市衛生研究所
81. 一戸正勝, 天野立爾*¹, 諸岡信一*², 芳沢宅実*², 鈴木敏正*³, 栗栖 誠*³: *Fusarium* トキシン生産菌の地域的分布差
第11回マイコトキシン研究会 (1980. 2. 2)
- *¹ 国民生活センター
*² 香川大学農学部
*³ 埼玉県衛生研究所
82. 嶺岸謙一郎, 山羽 力: ラットにおける BHA 抱合体の分布について
日本食品衛生学会第38回学術講演会 (1979. 11. 21)
83. 新村寿夫, 小野寺 章, 山羽 力, 兼敏明夫*: ラットにおける没食子酸プロピルの代謝
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
- * 北海道衛生研究所
84. 高橋昭江, 山羽 力: アジピン酸エステル類のラット臓器酵素による加水分解
第52回日本生化学会大会 (1979. 10. 7)
85. 田中 彰, 土屋利江, 佐藤道夫, 足立 透, 新村寿夫, 山羽 力: 染色助剤 1,2,4-トリクロルベンゼンのラットによる代謝
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
86. 土屋利江, 新村寿夫, 山羽 力: 1,2,4-トリクロルベンゼンの腸内細菌による嫌氣的脱クロルについて
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
87. 嶺岸謙一郎, 森本和滋, 南原精一, 高橋昭江, 紅林秀雄, 山羽 力: *Tris* (2,3-dibromopropyl)-phosphate (*Tris*-BP) の代謝 (吸収, 分布, 排泄) について

- 日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
- 54年度東京獣医畜産学会 (1979. 9. 1)
88. 森本和滋, 田中 彰, 山羽 力: **1,1'-Ethylenebis-(1-nitrosoarea) (EBNU)** に関する生化学的研究(第5報) EBNU の DNA 及び Poly (Lys) との反応
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
96. 川俣一也, 吉本浜子, 門馬純子, 会田喜崇, 高田幸一, 小林和雄, 戸部満寿夫: **Disodium Edetate** の毒性に関する研究
第53回日本薬理学会総会 (1980. 3. 29)
89. 森本和滋, 田中 彰, 山羽 力: **1,1'-Ethylenebis-(1-nitrosoarea) (EBNU)** と Poly (Lys) の反応生成物について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
97. 松本清司, 赤木 博, 落合敏秋, 萩楚恵子, 関田清司, 川崎 靖, 降矢 強: **アカゲザル及びカニクイザルの血液生化学値の差異について**
第14回日本実験動物学会 (1979. 8. 31)
90. 渡辺光夫*, 田中 彰: 白血病誘発剤 **PNU** の妊娠ラットによる臓器分布に関するオートラジオグラフィの研究
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
98. Ing Kang Ho*, Bryan A. FLINT* and Kin-ichi ONODA: **Potentialiation of Pharmacologic Responses to Barbiturates by Dopram^R and Its Preservative**
The American Society of Toxicology 第18年会(1979. 3. 14, New Orleans, La., U.S.A.)
- * 帝京大学薬学部
91. 田中 彰, 渡辺光夫*: **N-Propyl-N-nitrosoarea** のラットによる代謝 (そのII)
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
- * Department of Pharmacology and Toxicology, The University of Mississippi Medical Center; Jackson, Miss., U.S.A.
- * 帝京大学薬学部
92. 上田正山*¹, 三木 誠*¹, 町田豊平*¹, 大石幸彦*¹, 木戸 晃*¹, 柳沢宗利*¹, 田中 彰, 川上憲司*², 勝山直文*²: ^{99m}Tc-dl-DMS (DMS のラセミ体) による腎イメージング 320 例の経験
第19回日本核医学会総会 (1979. 11. 27)
99. 川島邦夫, 田中 悟, 長尾重之, 中浦慎介, 大森義仁: 妊娠期投与 **Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate** のラット胎仔及び新生仔発達に及ぼす影響
第6回毒作用研究会 (1979. 6. 1)
- *¹ 東京慈恵会医科大学泌尿器科
*² 東京慈恵会医科大学放射線科
93. 紅林秀雄, 田中 彰, 山羽 力: シクロヘキシルアミン及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反応の機構
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
100. 中浦慎介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟, 高橋 惇, 大森義仁, 中館正弘: 化学物質による肝障害と血液障害との関連性(1) ジアルキルニトロソアミン類について
第60回日本薬理学会関東部会 (1979. 6. 18)
94. 小林広茂*, 渡辺邦子*, 田中 彰: チメロサル耐性菌による ²⁰³Hg-チメロサル及び ²⁰³HgCl₂ の気化
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
101. 井上和秀, 溝上敬之助, 藤森観之助, 籾内桃子, 高仲 正, 大森義仁: ラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性に及ぼす PCB (KC-400) の母体投与による影響
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
- * 千葉県血清研究所検定室
95. 内藤克司, 内田雄幸, 安原加寿雄, 三原康夫, 小林和雄, 戸部満寿夫: **ウサギの Nosematosis** について
102. 中浦慎介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟, 高橋 惇, 粕谷 豊, 大森義仁, 中館正弘: 化学物質による肝障害と血液障害との関連性(2) ニトロソウレア類について
第61回日本薬理学会関東部会 (1979. 11. 18)
103. 籾内桃子, 高仲 正, 溝上敬之助, 井上和秀,

- 粕谷 豊, 大森義仁: ラット胎仔肝の薬物代謝酵素系に及ぼす **Methylcholanthrene** と **Phenobarbital** の誘導について
第53回日本薬理学会総会 (1980. 3. 27)
104. 大野泰雄, 川西 徹, 高橋 惇, 粕谷 豊, 大森義仁: 腎における薬物代謝(1) **Cyt. P₄₅₀** 及び **Aminopyrine** と **N-Nitrosodimethylamine** 代謝活性の種差
第53回日本薬理学会総会 (1980. 3. 27)
105. 前川昭彦, 小田嶋成和, 中館正弘, 神谷庄造: **N-ブチルニトロソウレタン** 及び **N-ブチルウレタン** の **ACI/N** ラット, 経胎盤及び新生仔発癌実験
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
106. 前川昭彦, 荻生俊昭, 小田嶋成和: 医療用高分子材料のラット皮下への長期埋没による癌原性の検討
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
107. 荻生俊昭, 竹内正紀, 古田京子, 小田嶋成和: **1-プロピル-1-ニトロソ尿素(PNU)** によるラット白血病発生に対する放射線前照射の影響
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 28)
108. 宮原美知子, 荻生俊昭, 小田嶋成和: 可移植性ラット赤芽球性白血病の研究(III) **EDEN-5** の生物学的特性と化学・免疫化学療法による治療効果
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 28)
109. 荻生俊昭: ラット白血病発生に関する病理学的研究
日本病理学会第25回秋期特別総会 (1979. 10. 30)
110. 高橋道人, 小久保 武, 小田嶋成和, 白井智之, 津田洋幸: 実験胃癌発生における異った部位の影響
第38回癌学会総会 (1979. 9. 27)
111. 黒川雄二, 高橋道人, 小田嶋成和: *In vitro* で癌原性物質の処理を受けた消化管の移植実験 (II) ラット膵腺の器管培養法の検討
第38回癌学会総会 (1979. 9. 27)
112. 高橋道人, 小久保 武, 小田嶋成和, 新井 均, 篠原良孝: ハムスターによる実験的膵臓癌 α 発生と前癌変化としての膵管の変化について
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 28)
113. 小久保 武, 高橋道人, 宮原美知子, 黒川雄二, 小田嶋成和, 降旗千恵: ウイスター系ラットに移植可能な移植胃癌 (**SG-2B**) の特性について
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
114. 竹内正紀, 高橋道人, 荻生俊昭, 小田嶋成和: 異った方法によって発生させたラットの十二指腸腫瘍の病理学的特性
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 28)
115. 高橋道人: 腹部臓器を主とする疾患モデルとしての実験がん-膵臓
がん研究助成金によるがんシンポジウム (1980. 1. 16)
116. Michihito TAKAHASHI: **Enhancing effects of sodium chloride or gastric carcinogenesis**
US-Japan Cooperative Workshop on GI Tract Cancer (1980. 3. 5)
117. 小久保 武: 腎髄質構造よりみた尿濃縮機構について
第22回日本腎臓学会総会 (1979. 10. 25)
118. 沢田 稔, 石館 基: 癌原性物質の *in vitro* スクリーニングに関する研究(V) チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる突然変異試験
第38回日本癌学会総会 (1979. 9. 27)
119. 松岡厚子, 沢田 稔, 畑中みどり, 斎藤行生, 石館 基: 石油成分中の窒素化合物群による染色体異常誘発について
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
120. 林 真, 原田隆一郎*, 祖父尼俊雄, 石館 基: マウス小核試験に及ぼす時間的要因
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)

* 東京農工大学

121. 吉川邦衛, 渡部 烈*, 磯部正和*, 高島英伍*²: **Styrene** の代謝的活性化とサルモネラ菌に対する突然変異原性

- 第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
- *1 東京薬科大学
*2 国立公衆衛生院
122. 能美健彦, 宮田ルミ子, 斎藤文一*, 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 その IV. 7, 8-benzoflavone, SKF525-A の S-9 に及ぼす効果
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
* 日本食品分析センター
123. 長原 歩*1, 能美健彦, 原田隆一郎*2, 宮田ルミ子, 吉川邦衛, 石館 基, 井之川芽之*3: 突然変異試験法に用いられる S-9 の検索 その V. 長期低温保存の影響
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
*1 学習院大学
*2 東京農工大学
*3 東京薬科大学
124. 宮田ルミ子, 中嶋 円, 能美健彦, 石館 基, 中村佐栄子, 吉川邦衛, 中箱正弘: Phenylhydroxylamine 類の変異原性と *in vitro* 形質転換 DNA 不活化能の比較検討
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
125. 渡辺光夫*, 茂木正行*, 石館 基: トリプトファン代謝産物及びヒト尿の染色体異常誘発作用について
第8回日本環境変異原学会 (1979. 11. 27)
* 帝京大学
126. 渡辺光夫*, 茂木正行*, 石館 基: ヒト尿の培養細胞染色体異常誘発作用について
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
* 帝京大学
127. 石館 基: 染色体異常誘発性を指標とする細胞毒性試験
日本薬学会第100年会薬理学会シンポジウム (1980. 4. 4)
128. 岡田敏史, 中垣正幸*: フェノチアジンの会合体形成に及ぼす共存物質の影響
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 30)
* 京都大学薬学部
129. 四方田千住子, 岡田敏史, 持田研秀: アラビアゴムを用いたエマルジョンの顕微鏡電気泳動
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 30)
130. 中原 裕, 岡田敏史, 持田研秀: 胆汁酸塩水溶液の pH について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 3)
131. 野口 衛, 浅香 睦*, 鹿野美弘*, 木島正夫*: Diberberine-monoglycyrrhizinate の腸管吸収 (*in vitro*) について
日本薬学会北海道支部例会 (1979. 6. 17)
* 北海道薬科大学
132. 野口 衛: ウワウルシ, ソヨウ, シャゼンソウについて—生薬試験法に関する研究 第11報
第8回生薬分析討論会 (1979. 7. 13)
133. 野口 衛: 漢方製剤の薬剤学的品質評価に関する研究 (V) Berberine-Glycyrrhizinate の湯液中での挙動
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 28)
134. 古謝紀和, 柴田 正, 持田研秀: 起炎症性レクチン: リシン及びコンカナバリン A の酵素免疫測定法
日本薬学会第99年会 (1979. 8. 29)
135. 柴田 正, 古謝紀和, 持田研秀: デキサメタゾンのスピン標識免疫定量法
第29回日本薬学会近畿支部総会 (1979. 11. 11)
136. 岡 恒: スルホン酸のガスクロマトグラフィー
第16回全国衛生化学技術協議会年会 (1979. 10. 3)
137. 岡 恒, 小島次雄*: ガスクロマトグラフィー及び GC-MS 法によるアルキルベンゼンスルホン酸塩の分析
日本化学会第41春季年会 (1980. 4. 2)
* 京都大学工学部
138. 野口 衛, 谷口サチ子*1, 難波恒雄*2: 漢方製剤の薬剤学的品質評価に関する研究 (VI) 漢方エキス剤製造時の麻黄中のアルカロイドの挙動について
日本薬学会第100年会 (1980. 4. 2)
*1 細野診療所
*2 富山医科薬科大学和漢薬研究所

139. 慶田雅洋, 伊藤蒼志男, 豊田正武: 化粧品 of 保存料ウスニン酸のクロマトグラフィーによる検出・定量
第6回日本化粧品技術者会 (1979. 6. 21)
140. 鈴木英世, 小川俊次郎, 豊田正武, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 輸入しらす干しに違反して添加された蛍光染料の同定
第16回全国衛生化学技術協議会 (1979. 10. 3)
141. 小川俊次郎, 鈴木英世, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 輸入高麗人参茶, シナチク及びタケノコ中の安息香酸が添加されたものか, 自然由来かの判別方法について
第16回全国衛生化学技術協議会 (1979. 10. 3)
142. 吉年美千代, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 昭和52・53年度における九州地区の輸入おもちゃの試験成績について
第16回全国衛生化学技術協議会 (1979. 10. 3)
143. 伊藤青史*1, 田中靖志*1, 中西 弘*1, 加藤太郎*2, 荒谷幸夫*2, 藤原孝行*2, 若松順子*2, 外海泰秀, 小川俊次郎, 豊田正武, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 食用色素の系統的分析法に関する研究 III. セライトカラム法及び液・液分配法を用いる各種色素の定性試験
第38回日本食品衛生学会 (1979. 11. 21)
- *1 滋賀県環境衛生センター
*2 ニッカウキスキー(株)西宮工場
144. 長谷川明彦*1, 浜野 孝*1, 三ツ橋幸正*1, 田中喜作*1, 松木幸夫*1, 小原一雄*2, 木船信行*2, 峯 孝則*3, 鈴木登紀子*3, 田嶋克彦*3, 伊藤蒼志男: 食用色素の系統的分析法に関する研究 IV. セライトカラム法及び液・液分配法を用いる各種色素の定量試験
第38回日本食品衛生学会 (1979. 11. 21)
- *1 神戸市環境保健研究所
*2 日本食品分析センター大阪支所
*3 サントリー(株)中央研究所
145. 鈴木英世, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: アルミナカラムクロマトグラフ-紫外吸光度法によるかんきつ類中のペノミル, チオファネートメチル及び MBC (methyl benzimidazole carbamate) の迅速測定法
第39回日本食品衛生学会 (1980. 5. 22)
146. 加藤太郎*1, 荒谷幸夫*1, 藤原孝行*1, 若松純子*1, 峯 孝則*2, 鈴木登紀子*2, 田嶋克彦*2, 伊藤青史*3, 田中靖志*3, 中西 弘*3, 伊藤蒼志男: 食用色素の系統的分析法に関する研究 V. セライトカラム法と液・液分配法による食品中天然色素の定性・定量法
第39回日本食品衛生学会 (1980. 5. 23)
- *1 ニッカウキスキー(株)西宮工場
*2 サントリー(株)中央研究所
*3 滋賀県環境衛生センター
147. 木船信行*1, 小原一雄*1, 長谷川明彦*2, 浜野孝*2, 三ツ橋幸正*2, 田中喜作*2, 松木幸夫*2, 外海泰秀, 小川俊次郎, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 食用色素の系統的分析法に関する研究 VI. セライトカラム法と液・液分配法による各種市販食品中の色素の分析
第39回日本食品衛生学会 (1980. 5. 23)
- *1 日本食品分析センター大阪支所
*2 神戸市環境保健研究所
148. 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋: 粉末コーヒークリームなどに含まれているモノグリセリド乳化剤“グリセリンジアセチル酒石酸エステル”の検出・定量法について
第39回日本食品衛生学会 (1980. 5. 23)
149. 小川義之, 加納晴三郎: 細菌性発熱物質 (LPS) と脳 Proteolipid の相互作用 (第5報) —Proteolipid による LPS 発熱活性不活化の特異性について—
第55回日本薬理学会近畿部会 (1979. 6. 8)
150. 伊丹孝文, 江馬 真, 加納晴三郎: 妊娠ラットにおける薬物の胎仔毒性と母体機能との関係 (1) Aspirin の胎仔毒性について
第19回日本先天異常学会総会 (1979. 7. 12)
151. 江馬 真, 伊丹孝文, 加納晴三郎: 妊娠ラットにおける薬物の胎仔毒性と母体機能との関係 (2) 薬物代謝酵素の役割について
第19回日本先天異常学会総会 (1979. 7. 12)
152. 江馬 真, 伊丹孝文, 西尾 晃*, 加納晴三郎: 薬物の胎仔毒性と母体機能との関係 (3) 薬物代謝酵素について
第56回日本薬理学会近畿部会 (1979. 10. 13)
- * 鹿児島大学農学部獣医学科家畜薬理

153. 加納晴三郎, 江馬 真, 伊丹孝文: 薬物の胎仔
毒性と母体機能との関係 (IV) 絶食時のアルカリ性
フォスファターゼの動態
第53回日本薬理学会総会 (1980. 3. 27)
154. 本間尚治郎: 北海道におけるシャクヤクの栽培
法
日本生薬学会北海道支部 芍薬の栽培・調製・使い
方に関する研究会 (1979. 9. 23)
155. 本間尚治郎, 堀越 司, 石崎昌吾: 北海道にお
けるゲンチアナの栽培研究
日本生薬学会北海道支部 生薬の栽培と品質に関す
る研究会(ゲンチアナ属植物について) (1980. 3. 15)
156. 堀越 司, 本間尚治郎, 石崎昌吾: ハナトリカ
ブトの栽培条件と生育収量について
日本生薬学会第26回年会 (1979. 11. 9)
157. 大野忠郎, 木下考三*, 小峰常行: ケシ (*Papa-
ver somniferum* L.) の生産力に及ぼす気象要因
の影響について (III) 一貫種及び早生型系統の収量
予測
日本生薬学会第26回年会 (東京) (1979. 11. 9)

* 前和歌山薬用植物栽培試験場長

所員の研究、試験及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54年4月から昭和55年3月までの演題等は下記のとおりである。

第207回(昭和54年5月8日)

1. ラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性について
薬 理 部 井 上 和 秀
2. *Chaetonium* 及びその関連属における *Chaetoglobins*, *Sterigmatocystins* などの生産性の検索
生 薬 部 ° 関 田 節 子
義 平 邦 利
名 取 信 策
衛生微生物部 宇田川 俊 一
室 井 哲 夫
倉 田 浩
3. メトトレキサート標準品の赤外吸収スペクトルについて
生 物 化 学 部 太 田 美 矢 子
4. 鉛の投与方法の違いによる生物効果の差異について(主に鉛のポルフィリン生合成に与える影響の差異について)
放 射 線 化 学 部 池 淵 秀 治
5. 分離肝生細胞によるメタ重亜硫酸カリウムの酸化及び分離肝生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
医 化 学 部 ° 新 村 寿 夫
望 月 左 弓

第208回(昭和54年6月12日)

1. 防炎加工剤の催奇形性に関する研究(第I報)妊娠期投与 *Tris* (2,3 dibromopropyl) phosphate のラット胎仔及び新生仔に及ぼす影響
薬 理 部 川 島 邦 夫
2. 防炎加工剤の催奇形性に関する研究(第II報)妊娠期投与 *Tris* (2,3 dibromopropyl) phosphate のラット新生仔行動に及ぼす影響
薬 理 部 長 尾 重 之
3. 硝酸ナトリウム投与サルの胃内における硝酸及び亜硝酸イオンの消長と微生物叢について
衛生微生物部 ° 林 長 男
倉 田 浩
食品添加物部 谷 村 顕 雄
4. スルピリンの安定性(IV) 水溶液中におけるブド

ウ糖との反応

- 薬 品 部 吉 岡 澄 江
5. Opiate receptor と鎮痛作用について
放 射 線 化 学 部 永 松 国 助

第209回(昭和54年7月10日)

1. 小麦中のマラチオン、フェニトロチオンについて
食 品 部 河 村 葉 子
2. 等速電気泳動(イソタコホレス)による食品中EDTAの検出、定量について
大 阪 支 所 食 品 部 豊 田 正 武
3. FDAによる医療用具中の残留エチレンオキサイドの規制並びに定量法について
療 品 部 辻 楠 雄
4. 医療用具に残留するエチレンオキサイドに関する研究(第2報) MBTH を用いたエチレンオキサイドの微量比色定量
療 品 部 新 谷 英 晴
5. 化学物質による肝障害と血液障害との関連性(1) ジアルキルニトロソアミン類について
薬 理 部 中 浦 楨 介
6. EBNU 及び 1-アルキル-1-ニトロソ尿素の核酸及びタンパク質への *in vitro* における結合性の比較
医 化 学 部 ° 森 本 和 滋
田 中 彰
山 羽 力

第210回(昭和54年9月11日)

1. アカゲザルとカニクイザルの血液生化学値の差異について
毒 性 部 松 本 清 司
2. 尿中酵素活性の測定による薬物性腎障害の検索
薬 理 部 大 野 泰 雄
3. ニッケルの生体内における存在形態に関する研究
環 境 衛 生 化 学 部 ° 中 室 克 彦
松 井 啓 子
佐 谷 戸 安 好
4. ピロールによるコルチコイドの定量(IV) 17-ヒドロキシコルチコイドのけい光定量
生 物 化 学 部 徳 永 祐 司
5. けい光デントンメトリーにおける増けい光の実例と機構
食 品 部 内 山 貞 夫

6. グリチルリチンなど人工甘味料の高速液体クロマトグラフィー
食品添加物部 加藤三郎

第211回(昭和54年10月9日)

1. ヒト血液中に検出される N-ニトロソ化合物について
食品添加物部 山本 都
2. Pyridyl methyl nitrosoarea 類におけるニトロソ基の転位反応について
合成化学研究部 末 吉祥子
3. ピラゾロン, ピラゾリジン系薬物のヒト多形核白血球機能に及ぼす影響
生物化学部 °押 沢 正
早川 堯夫
4. チャイニーズハムスター培養細胞を用いる突然変異誘発試験
変異原性部 °沢 田 稔
畑 中 みどり
石 館 基
5. ラットの絶食時間の違いによる血清生化学値の変動
毒 性 部 中 路 幸 男
6. ラット胎仔肝の薬物代謝酵素活性に及ぼすPCB(KC 400)の母体投与による影響
薬 理 部 簾 内 桃 子
7. Pentobarbital 耐性マウスの肝薬物代謝活性に及ぼす Procarbazine の影響
薬 理 部 小野田 欽一

第212回(昭和54年11月13日)

1. シクロヘキシルアミン及び類縁化合物のウサギ肝ミクロゾームによる酸化脱アミノ反応の機構
医 化 学 部 紅 林 秀 雄
2. カドミウムのカルシウム代謝調節機構に及ぼす影響—その1—
環境衛生化学部 °安 藤 正 典
清 水 素 行
佐 谷 戸 安 好
谷 村 顕 雄
毒 性 部 戸 部 満 寿 夫
3. スルピリンと亜硝酸との反応による N-ニトロソ化合物の生成
食品添加物部 °酒 井 綾 子
谷 村 顕 雄
4. スルピリンの安定性(V) 固体状態における分解

- 薬 品 部 吉 岡 澄 江
5. 1,3-Diaryl nitrosoarea 類の反応—ベンゼン中の分解反応について—
合成化学研究部 宮 原 誠

6. *Chaetomium Thielavioideum* の代謝産物について

生 薬 部 °関 田 節 子
義 平 邦 利

第213回(昭和54年12月11日)

1. JOIS による文献検索について
附属図書館調査室 加 納 直 子
2. 香辛料, 蒟蒻からの突然変異原性物質の分離・構造について
生 薬 部 °福 岡 正 道
義 平 邦 利
名 取 信 策
3. 小核試験について
変異原性部 °林 真
松 岡 厚 子
石 館 基
4. カドミウムのカルシウム代謝調節機構に及ぼす影響について—その2—
環境衛生化学部 °安 藤 正 典
清 水 素 行
佐 谷 戸 安 好
谷 村 顕 雄
毒 生 部 戸 部 満 寿 夫
5. *Fusarium* 属菌による国産ムギ類のマイコトキシン汚染について
衛生微生物部 一 戸 正 勝

第214回(昭和55年1月8日)

1. 「タイ地域保健活動向上計画」に参加して
食品添加物部 石 綿 肇
2. アメリカの毒性情報機関
附属図書館調査室 竹 中 祐 典
3. ウサギの Nosematosis について
毒 性 部 内 藤 克 司
4. 化学物質による肝障害と血液障害との関連性(2) ニトロソウレア類について
薬 理 部 中 浦 慎 介
5. 20 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase の作用機序: 基質特異性と基質類縁体による阻害
生物化学部 °早 川 堯 夫
谷 本 剛
川 村 次 良

6. グリセオフルビン錠の溶出速度と Bioavailability
薬品部 青柳伸男

合成化学研究部 中館正弘

第215回(昭和55年12月12日)

1. ミニコンによる定量分析感度の向上
療品部 叶多謙蔵
2. 食用青色1号の付随色素について
食品添加物部 神蔵美枝子
3. リン酸ピリドキサール腸溶剤の Bioavailability と
溶出試験
薬品部 鹿庭奈保子
4. EBNU の DNA 及び Poly(Lys) との反応
医化学部 °森本和滋
田中彰
山羽力
5. T細胞幼若化反応に及ぼす抗炎症例の影響
生物化学部 °押沢正
早川堯夫
6. Phenylhydroxylamine 類の変異原性と *in vitro* 形
質転換 DNA 不活化能の比較検討
変異原性部 宮田ルミ子
中村佐栄子
中島円
°能美健彦
吉川邦衛
石館基

第216回(昭和55年3月11日)

1. 照射米のアカゲザルによる慢性毒性試験について
毒性部 落合敏秋
2. 腎における薬物代謝(I) Cyt. P 450, 及びアミ
ノピリンとニトロソジメチルアミン代謝活性の種
差
薬理部 大野泰雄
3. アジピン酸エステルの子ラットによる代謝
医化学部 高橋照江
4. スチレンの代謝的活性化及び不活性化とサルモネ
ラ菌株に対する突然変異原性
変異原性部 °吉川邦衛
石館基
東薬大 渡部烈
5. 輸入靴クリーム中の有機水銀化合物
療品部 °小島茂雄
中村晃忠
鹿庭正昭
6. プラスチックからのアクリロニトリル (AN) の溶
出について
食品添加物部 °辰濃隆
井上たき子
7. 食品中の残留農薬の現状
食品部 武田明治

支 所 例 会

昭和54年4月24日

1. N-ニトロ化合物に関する一考察
井上哲男
2. ジギトキシン(D)錠の溶出試験
薬品部 伊阪博
3. スルホン酸のガスクロマトグラフィー
薬品部 岡恒
4. ラット肝ミクロゾーム P-450^oに対する細菌性発熱物質の作用について
薬理微生物部 吉田稔
5. LPS を加熱処理した時の Limulus test に対する影響
薬理微生物部 川崎浩之進
6. 製品検査の色素試験法改訂について
食品部 中村恵三
7. 食品中のホウ素の微量定量法について
食品部 伊藤誉志男

昭和54年5月22日

1. 麻黄中のアルカロイドの漢方製剤製造時の挙動について
薬品部 野口衛
2. デキサメタゾンのスピリン標識および酵素標識免疫定量法
薬品部 柴田正
3. 2-1 型塩酸フェノチアジンの水溶液中における導電率
薬品部 岡田敏史
4. 胎生期発育に及ぼす発熱及び発熱物質の影響について I 内毒素の妊娠家兎に対する効果
薬理微生物部 西尾晃
5. 細菌性発熱物質(LPS)と脳 Proteolipid の相互作用(続)
薬理微生物部 小川義之
6. 妊娠ラットに対する Acetylsalicylic acid (ASA) の作用について
薬理微生物部 伊丹孝文

昭和54年6月19日

1. 酵素免疫測定法: 起炎性レクチンへの適用
薬品部 古謝紀和
2. ジギトキシンの酸加水分解
薬品部 辻澄子
3. 細菌内毒素(LPS)と血漿リポタンパクとの相互

作用(I)

- 薬理微生物部 小室徹雄
慶田雅洋
4. タール色素の環境代謝とその魚類影響
食品部 外海泰秀
伊藤誉志男
5. 等速電気泳動(イソタコホレシス)による食品中 EDTA の検出, 定量について
食品部 豊田正武
6. 輸入穀類のヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド, クロルダン(Chlordane), エンドスルファン(Benzoepin)の定量
食品部 鈴木英世

昭和54年7月16日

1. 妊娠ラットにおける胎仔毒性と母体機能との関係 薬物代謝酵素の役割について
薬理微生物部 江馬真
2. リパーゼ活性に及ぼす界面活性剤の影響
薬品部 中原裕
3. アラビアゴムの分子量分布及びその溶液中での添加イオンの導電率
薬品部 四方田千佳子
4. Cytochrome P-450 モデルとしての Fe(II)又は Hemin-Thiol 錯体による水酸化反応について
食品部 小川俊次郎
5. 輸入 Candy 中の蛍光物質について
食品部 吉年美千代

昭和54年9月21日

1. 地衣類の抽出成分ウスニン酸とその利用
慶田雅洋
2. Cyclandelate の diastereoisomeric pair について
持田研秀
3. Studies on Alkaline phosphatase in pregnant rats (1). Effect of starvation.
加納晴三郎
4. 医薬品の溶出と添加物の影響に関する一知見
井上哲男

昭和54年12月25日

1. ラナトシドC(LC)錠の溶出試験
薬品部 伊阪博
2. ガスクロマトグラフィー及び GC-MS 法によるア

ルキルベンゼンスルホン酸塩の分析

薬品部 岡 恒

3. Poly (2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline):
TMDQ の催奇形性試験について

薬理微生物部 吉田 稔

4. 妊娠ラットに対する内毒素の影響について III
Shwartzman 様反応を指標とした内毒素の分割投与の効果

薬理微生物部 川崎 浩之進

昭和55年1月23日

1. 黄連甘草配合漢方湯液中での *diberberine-monoglycyrrhizinate* の存在様式について

薬品部 野口 衛

2. 輸入しらす干し中の蛍光物質の同定

食品部 伊藤 啓志男

3. 食用黄色4号中の原料物質、反応中間物及び副色素の分析法について

食品部 中村 恵三

昭和55年3月18日

1. デキサメタゾンのスピリン標識及び酵素標識免疫定量法 スピリン標識試薬の架橋鎖長について

薬品部 柴田 正

2. フェノチアジンの会合体形成におよぼす共存物質の影響

薬品部 岡田 敏史

3. 薬物の胎仔毒性と母体機能との関係 (IV) 絶食等によるアルカリ性フォスファターゼの動態

薬理微生物部 伊丹 孝文

所内講演会

- | | |
|--|--|
| 1. 新しい化学情報の動き
昭和54年5月11日
(財)化学情報協会主任研究員
時 実 象 一 | 4. ESR の生物化学分野への応用
昭和54年9月26日
日本電子(株)技術本部 河 野 雅 弘 |
| 2. 殺虫剤開発のこの頃
昭和54年6月1日
東京農業大学教授 山 本 出 | 5. 私のしてきた2,3の動物実験—マイコトキシンを
中心として—
昭和54年10月26日
元東京大学教授 浦 口 健 二 |
| 3. 行動薬理研究における現状と問題点
昭和54年7月2日
群馬大学教授 田 所 作太郎 | 6. 生理活性, ペプチドの生物化学—消化管ホルモン
を中心として—
昭和55年3月26日
静岡薬科大学教授 矢内原 昇 |

昭和54年度に行った主な研究課題

特別研究 (厚生省)

- 1) 生活関連諸物質の微量分析新技術の開発研究 (食品, 食添, 環境, 療品, 医化, 変異原, 食品(支所))
- 2) 医薬品, 食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究 (毒性, 薬理, 病理, 変異原, 医化)

国立機関原子力試験研究費関係 (科学技術庁)

- 1) 標識化合物による医薬品・食品添加物等の安全性を予測する *in vitro* 試験法の開発研究 (薬理, 医化)
- 2) パブ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 (放射線)
- 3) 短半減期放射性医薬品の品質に関する研究 (放射線)
- 4) 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 (療品, 衛徴)
- 5) 放射線照射による医薬品と化粧品の微生物汚染防止に関する研究 (衛徴)
- 6) 電子線照射によるみかんの毒性試験 (毒性)
- 7) 照射食品の突然変異原性試験 (変異原)
- 8) 障害防止に必要な経費 (放射線)

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 (放射線)

特別研究促進調整費 (科学技術庁)

- 1) 消化管微生物叢の化学物質代謝機能に関する研究 (衛徴)
- 2) 研究資材に関する総合研究 (衛徴)
- 3) バクテリアを用いる試験法に関する研究 (変異原)
- 4) 毒性評価システムの研究 (情報調査室)
- 5) 高分子材料による吸着分離に関する研究 (療品, 衛徴)
- 6) 薬用植物の育種に関する総合研究 (生薬, 筑波)
- 7) 発生生物学的手法による毒性検査法に関する研究 (薬理)

国立機関公害防止等試験研究費関係 (環境庁)

- 1) PCB の生体機能に及ぼす影響に関する研究 (薬理, 毒性)
- 2) 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 (食品, 放射線, 環境)
- 3) 人工水棲生態系における環境汚染物質の動態に関する研究 (食品, 変異原, 食品(支所))

- 4) 環境汚染化学物質の変異原性並びにその試験法の開発に関する研究 (変異原)
- 5) 低沸点性有機塩素化合物の生体影響に関する研究 (環境, 毒性, 変異原)
- 6) 公共用水域における有機塩素化合物の発生メカニズムとその除去に関する研究 (環境)

科学研究費補助金関係 (文部省)

- 1) 次世代動物の肝機能異常に関する基礎的研究 (薬理)
- 2) マクロフェージ走化機構の分子論的研究 (放射線)
- 3) 天然食品汚染物のイムノアッセイ (食品)

厚生科学研究費補助金関係 (厚生省)

- 1) 内容固型医薬品の製剤学的有用性に関する研究 (薬品)
- 2) 局方収載薬局製剤の審査基準に関する研究 (毒性)
- 3) 家庭用化学製品の事故防止対策に関する研究 (毒性, 療品)
- 4) 日本における中毒情報センターに関する研究 (情報調査室)
- 5) 毒物劇物監視指導の効率化に関する研究 (毒性)
- 6) 家庭用品に使用される化学物質の吸入毒性に関する研究 (毒性)
- 7) RIA キットによる定量値の精度の実態調査及び精度の向上に関する研究 (放射線)
- 8) 食品中におけるスズ化合物の生体に及ぼす影響に関する調査研究 (食品)
- 9) 注射剤の局所刺激性に関する研究 (センター長, 薬理, 毒性)
- 10) 食品中の各種汚染物質の実態に関する調査研究 (食品)
- 11) 解熱鎮痛剤の安全性に関する研究 (病理)
- 12) 化粧品中のニトロソ化合物に関する研究 (環境)
- 13) 器具等の分析法の標準化に関する研究 (食添)
- 14) 食品添加物の安全性評価指標に関する研究 (食品, 食添, 毒性, 病理, センター長, 変異原)
- 15) 畜産食品中の有害物質に関する調査研究 (食品)
- 16) 生薬に対する滅菌法確立に関する研究 (衛徴, 生薬)
- 17) 自然食品中に含有される固有の有害成分による人体影響に関する研究 (食品, 衛徴)
- 18) 医薬品の安定性に関する試験法確立のための研究 (薬品)

- 19) 染毛剤の安全性に関する研究 (病理)
 - 20) 持続性インシュリン製剤の低亜鉛化に関する研究 (生物化学)
 - 21) 薬物性腎障害の発生機序及びその予防治療に関する研究 (センター長, 薬理)
 - 22) 水中における微量物質の検索・分析システムに関する研究 (環境)
 - 23) 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 (薬品, センター長, 薬理)
 - 24) 食品添加物分析における妨害物質に関する研究 (食添)
 - 25) 化粧品品の製品規格に関する研究 (環境)
- 科学研究費補助金関係 (文部省)
- 1) 化学物質の経口投与による消化管発癌 (病理)
 - 2) インド亜大陸及びその周辺山岳地域の微生物調査 (衛微)
 - 3) ヒト脳神経腫瘍の発生と病態の特異性についての研究 (病理)
 - 4) 生体内に存在する発癌性因子に関する研究 (変異原)
 - 5) ニトロソ化合物を主とするがん原性化学物質の代謝と生体成分の相互作用に関する研究 (合成, 医化, 病理)
 - 6) 環境汚染物質 (有機ハロゲン化合物を中心として) 毒性の体系的研究 (食品)
 - 7) 生活環境水に存在する発がん性ある N-ニトロソ化合物の研究 (食添)
 - 8) 合成制癌剤開発に関する研究 (合成)
 - 9) がん細胞変異の細胞病理学的研究 (変異原)
 - 10) 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 (変異原)
 - 11) 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 (薬理)
 - 12) 化学発癌過程における初期変化, 特に前癌病変の解析 (病理)
 - 13) 白血病の発生と進展に関する基礎的研究 (医化, 病理)
- がん研究助成金関係 (厚生省)
- 1) 蛋白質加熱分解物による *in vivo* 発癌テストの研究 (病理)
 - 2) 実験犬胃がんによる化学療法の研究 (病理)
 - 3) フラボノイド等植物成分中の発がん物質に関する研究 (生菜)
 - 4) 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 (食添)
 - 5) 生活環境下の発がん (原) 物質の研究 (食添, 薬理)
 - 6) 微生物代謝産物の発がん性に関する研究 (衛微, 環境, 食品)
 - 7) 変異原性物質の動物発癌テストに関する研究 (病理, 合成, 薬品, 食添)
 - 8) 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 (変異原)

国家検定及び検査等の処理状況

Survey of the Results of National Tests

昭和54年度における検定及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4.5%（103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80%を占め、そのほかでは塩酸エタンブトール錠が4%、塩酸エタンブトールが4%、インシュリン亜鉛水性懸濁注射液が3%、オキシトシン注射液が2%となっており、前年度とほぼ同

様な状況であった。

次に製品検査20%、特別審査試験8%と前年度に比べてそれぞれ増加している。反面輸入食品検査は58%、輸出検査36%、特別行政試験12%一斉取締試験3%の減少となった。

なお、総処理件数は5549件（下表のとおりで前年度に比べて730件、12%の減少）であった。

区 分	昭和54年度試験件数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	1045件	1165件	2210件
製 品 検 査	426	571	997
輸 出 検 査	36	0	36
特 別 審 査 試 験	360	0	360
輸 入 食 品 検 査	319	178	497
特 別 行 政 試 験	522	91	613
一 般 依 頼 試 験	2	0	2
一 斉 取 締 試 験	783	51	834
計	3493	2056	5549

国家検定及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54年度国家検定品目別月別判定別実績表.....	256頁
○昭和54年度製品検査月別判定別件数実績表...	258頁
○昭和54年度輸出検査月別判定別件数実績表...	258頁

○昭和54年度特別審査試験月別判定別件数実績表.....	258頁
○昭和54年度輸入食品検査品目別月別判定別件数実績表.....	260頁
○昭和54年度特別行政試験月別件数実績表.....	262頁
○昭和54年度一斉取締試験判定別件数実績表...	262頁

昭和54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	
プロチオナミド	東京 大阪	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
プロチオナミド錠	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	0	1	3	0	3	2	0	2	—	—	—
塩酸エタンブトール	東京 大阪	13	0	13	8	0	8	13	0	13	9	0	9	11	0	11	7	0	7
塩酸エタンブトール錠	東京 大阪	17	0	17	7	0	7	9	0	9	11	0	11	10	0	10	7	0	7
避妊用ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルゼリー	東京 大阪	3	0	3	4	0	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
避妊用ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル錠	東京 大阪	1	0	1	3	0	3	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—
避妊用メンフェゴール錠	東京 大阪	2	0	2	—	—	—	2	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
避妊用メンフェゴールクリーム	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
インシュリン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	0	1	3	0	3	3	0	3	1	0	1
プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
インフュエンインシュリン水性懸濁注射液	東京 大阪	1	0	1	3	0	3	1	0	1	1	0	1	4	0	4	2	0	2
インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	3	0	3	6	0	6	5	0	5	5	0	5	6	0	6	8	0	8
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	1	0	1
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	1	0	1	2	0	2
二相性インシュリン水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	2	0	2
中性インシュリン注射液	東京 大阪	—	—	—	1	0	1	—	—	—	1	0	1	1	0	1	—	—	—
オキントシン注射液	東京 大阪	4	0	4	3	0	3	4	0	4	3	0	3	4	0	4	5	0	5
バソプレシン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
タンニン酸バソプレシン油性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
フェリブレン注射液(塩酸プロビトカイン3%を含むもの)	東京 大阪	—	—	—	1	0	1	3	0	3	—	—	—	4	0	4	—	—	—

月別判定別件数実績表 (No. 1)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
1	0	1	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	0	3
3	0	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	2	0	2
—	—	—	8	0	8	5	0	5	3	0	3	—	—	—	4	0	4	81	0	81
6	0	6	7	0	7	—	—	—	7	0	7	10	0	10	1	0	1	92	0	92
3	0	3	2	0	2	4	0	4	—	—	—	2	0	2	2	0	2	20	0	20
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	6	0	6
2	0	2	—	—	—	1	0	1	2	0	2	—	—	—	2	0	2	11	0	11
1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
2	0	2	3	0	3	1	0	1	3	0	3	—	—	—	2	0	2	19	0	19
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	24	0	24
5	0	5	3	0	3	4	0	4	5	0	5	2	0	2	4	0	4	56	0	56
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	3	0	3
—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	2	0	2	8	0	8
—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	1	0	1	—	—	—	6	0	6
—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	5	0	5
1	0	1	7	1	8	1	0	1	4	0	4	2	0	2	3	0	3	41	1	42
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1	—	—	—	—	—	—	1	0	1
—	—	—	—	—	—	2	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	2
2	0	2	—	—	—	5	0	5	1	0	1	—	—	—	—	—	—	16	0	16

昭和54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
ブドウ糖注射液	45	0	45	40	0	40	39	0	39	48	0	48	58	0	58	66	0	66
	88	0	88	96	0	96	106	0	106	82	0	82	120	0	120	85	0	85
リンゲル液	—	—	—	2	0	2	—	—	—	3	0	3	—	—	—	1	0	1
	2	0	2	1	0	1	1	0	1	1	0	1	2	0	2	1	0	1
計	90	0	90	80	0	80	80	0	80	85	0	85	105	0	105	102	0	102
	90	0	90	98	0	98	108	0	108	86	0	86	122	0	122	86	0	86
合計	180	0	180	178	0	178	188	0	188	171	0	171	227	0	227	188	0	188

昭和54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	6	0	6	5	0	5	52	0	52	2	0	2	48	0	48	54	0	54
大阪	52	0	52	37	0	37	39	0	39	50	0	50	61	0	61	61	4	65
合計	58	0	58	42	0	42	91	0	91	52	0	52	109	0	109	115	4	119

昭和54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	0	1	1	4	0	4	1	0	1	3	0	3	3	0	3	2	0	2

昭和54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	33	0	33	43	0	43	40	0	40	22	0	22	53	0	53

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
60	0	60	65	0	65	53	0	53	40	0	40	53	0	53	66	0	66	633	0	633
73	0	73	99	0	99	131	0	131	73	0	73	93	0	93	93	0	93	1,139	0	1,139
—	—	—	2	0	2	1	0	1	1	0	1	—	—	—	1	0	1	11	0	11
1	0	1	2	0	2	2	0	2	2	0	2	—	—	—	2	0	2	17	0	17
85	0	85	102	1	103	82	0	82	69	0	69	73	0	73	91	0	91	1,044	1	1,045
77	0	77	101	0	101	133	0	133	75	0	75	94	0	94	95	0	95	1,165	0	1,165
162	0	162	203	1	204	215	0	215	144	0	144	167	0	167	186	0	186	2,209	1	2,210

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
72	0	72	10	0	10	65	0	65	1	0	1	53	0	53	58	0	58	426	0	426
32	0	32	59	0	59	65	0	65	31	0	31	21	0	21	59	0	59	567	4	571
104	0	104	69	0	69	130	0	130	32	0	32	74	0	74	117	0	117	993	4	997

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
2	0	2	4	0	4	4	0	4	5	0	5	4	0	4	3	0	3	35	1	36

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
36	0	36	21	0	21	17	0	17	16	0	16	40	0	40	10	0	10	360	0	360

昭和54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	—	—	—	3	0	0	3	—	—	—	0	0	0	(5) 5	0	0	0	(1) 1	—	—	—			
	大阪	2	7	0	9	8	0	0	8	—	—	—	—	—	—	8	2	0	10	1	2	0	3		
水産物	東京	0	0	3	3	2	4	3	9	1	4	0	5	16	0	16	32	8	0	2	(6) 16	33	4	0	37
	大阪	—	—	—	—	1	1	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	0	2	—	—	—	—
畜産物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	0	0	(40) 44	4	0	0	4		
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
かんびん詰類	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
添加物	東京	0	1	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(2) 2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒精飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	1	1	(3) 5	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	1	0	1	—	—	—	—	—	—
清涼飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	0	2	0	2	3	1	0	(3) 7	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	—	—	—	—
その他の飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	0	0	0	(1) 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器具・容器包装おもちゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	0	1	0	1	0	0	0	(2) 2	—	—	—	—	—	—	—	—
上記いずれにも属さないもの	東京	—	—	—	0	0	0	(4) 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
計	東京	0	1	3	4	5	4	3	(4) 16	1	4	0	5	16	0	16	(5) 37	12	0	2	(47) 61	37	5	1	(3) 46
	大阪	2	9	0	(1) 12	12	2	0	(3) 17	0	2	0	(2) 4	1	1	0	(2) 4	9	5	0	14	1	2	0	3
	計	2	10	3	(1) 16	17	6	3	(7) 33	1	6	0	(2) 9	17	1	16	(7) 41	21	5	2	(47) 75	38	7	1	(3) 49

[] 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	0	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	0	0	(6)
4	1	0	5	7	0	0	7	1	1	0	2	10	0	0	10	3	0	0	3	8	2	0	10	52	15	0	67	(6)
13	0	0	13	75	0	3	78	0	7	2	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	148	19	29	202	(1)
1	0	0	1	5	0	0	(1)6	39	4	0	43	—	—	—	—	2	0	0	2	1	0	0	1	50	6	0	(1)57	(40)
2	0	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0	2	3	7	1	0	8	18	1	2	(1)61	(1)
—	—	—	—	10	0	0	10	—	—	—	—	1	0	0	1	—	—	—	—	0	0	0	(1)1	11	0	0	(1)12	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)1	3	0	0	3	—	—	—	—	4	0	0	(1)5	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	1	0	1	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(2)2	—
0	0	0	(5)5	3	2	0	5	0	0	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	2	(8)16	—
—	—	—	—	4	0	0	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	1	0	5	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	0	(1)1	3	6	0	(4)13	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(2)4	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	0	(3)5	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	0	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	0	(1)1	—	—	—	—	2	1	0	(3)6	—
0	0	0	(4)4	0	0	0	(3)3	2	0	2	(4)8	—	—	—	—	0	0	0	(4)4	0	0	0	(5)5	2	0	2	(24)28	—
—	—	—	—	6	0	0	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	0	0	6	—
17	0	0	(9)26	78	2	3	(3)86	2	7	5	(4)18	—	—	—	—	1	0	2	(4)7	7	1	0	(5)13	176	24	35	(84)319	—
7	1	0	8	32	0	0	(1)33	40	5	0	45	11	0	0	(1)12	10	0	0	(3)13	9	2	0	(2)13	134	29	0	(15)178	—
24	1	0	(9)34	110	2	3	(4)119	42	12	5	(4)63	11	0	0	(1)12	11	0	2	(7)20	16	3	0	(7)26	310	53	35	(99)497	—

昭和54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	43	87	129	1	150	0	20	4	0	21	0	67	522
大 阪	5	0	0	17	69	0	0	0	0	0	0	0	91
計	48	87	129	18	219	0	20	4	0	21	0	67	613

昭和54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	762	21	783
大 阪	51	0	51
計	813	21	834

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, 注射用コルチコトロピン, 持続性コルチコトロピン注射液の定量法
2	安息香酸エストラジオール	20mg入 1本	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, 酢酸ヒドロキソ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	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	パ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	トロンビン	500単位入 2本	12,600	トロンビンの定量法
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パ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パ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パルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
29	パラアミノ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	バレイショデンプン	100g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	各1g入 6本	18,100	融点測定用温度計, 同装置の補正
	{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}			
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6B	1g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6Bの確認試験
13	アシッドレッド	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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 AB	1g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 OB	1g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 SS	1g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 XO	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g入 1本	1,270	食品,医薬品,化粧品および製剤中のニューコクシンの確認試験
34	パーマネントオレンジ	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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	1g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54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 個	製造数量 個	売払数量 個	自家消費 数量 個	年度末 在庫数量 個	備考
アスコルビン酸	51	200	180	3	68	
安息香酸エストラジオール	33	0	8	1	24	
インシュリン	66	0	38	7	21	
エストラジオール	39	0	3	1	35	
エストロン	47	0	1	0	46	
塩酸チアミン	12	697	555	1	153	
塩酸チアミン液	85	48	79	5	49	
塩酸ピリドキシン	47	200	214	1	32	
含糖ペプシン	50	0	22	0	28	
ギトキシン	40	0	1	2	37	
血清性性腺刺激ホルモン	102	0	83	0	19	
酢酸コルチゾン	24	0	8	1	15	
酢酸デソオキシコルトン	0	0	0	0	0	
酢酸ヒドロコルチゾン	20	50	21	1	48	
酢酸ブレドニゾロン	19	0	1	1	17	
シアノコバラミン	146	187	235	1	97	
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	
ジギトキシン	13	100	26	1	86	
ジゴキシン	26	100	30	4	92	
酒石酸水素エピネフリン	0	0	0	0	0	
酒石酸水素ノルエピネフリン	1	0	0	0	1	
G-ストロファンチン	37	0	1	1	35	
胎盤性性腺刺激ホルモン	24	166	56	0	134	
チロジン	74	150	79	0	145	
デスラノシド	36	0	3	2	31	
トロンビン	43	0	22	0	21	
ニコチン酸	55	0	18	0	37	
ニコチン酸アミド	72	200	76	12	184	
脳下垂体後葉	37	84	51	2	68	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	41	0	19	0	22	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	74	0	12	0	62	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	19	56	9	0	66	
バレイショデンブン	0	0	0	0	0	
ヒアルロニダーゼ	10	35	5	0	40	
ビタミンA油	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	51	0	18	1	32	
ブレドニゾロン	41	0	20	1	20	
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	31	0	0	0	31	
ヘパリンナトリウム	26	148	116	0	58	
マレイン酸エルゴメトリン	38	204	99	0	143	
融点測定用	38	0	15	1	22	

標準品名	前年度末 在庫数量 個	製造数量 個	売払数量 個	自家消費 数量 個	年度末 在庫数量 個	備考
葉酸	132	0	33	1	98	
ラナトシドC	41	0	20	3	18	
リゾチーム	50	193	183	1	59	
リボフラビン	110	397	323	2	182	
硫酸プロタミン	15	0	0	0	15	
リン酸ヒスタミン	31	50	59	0	22	
ルチン	50	0	6	0	44	
レセルピン	71	94	56	1	108	
メトトレキサート	0	45	0	0	45	
計	2,125	3,404	2,804	58	2,667	

(色素試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量 個	製造数量 個	売払数量 個	自家消費 量 個	年度末 在庫数量 個	備考
アッシュバイオレット6B	146	0	3	0	143	
アッシュレッド	35	0	6	0	29	
アズルビンエキストラ	154	0	4	0	150	
アマランス	0	0	0	0	0	
インジゴ	157	0	5	0	152	
インジゴカルミン	62	0	10	0	52	
エオシン	154	0	14	1	139	
エリスロシン	69	0	15	1	53	
オイルエローAB	288	0	3	0	285	
オイルエローOB	297	0	2	0	295	
オイルオレンジSS	297	0	4	0	293	
オイルレッドXO	279	0	2	0	277	
オレンジI	346	0	4	0	342	
オレンジII	183	0	4	0	179	
ギネアグリーンB	143	0	4	0	139	
サンセットエローFCF	0	0	0	0	0	
タートラジン	0	0	0	0	0	
テトラクロルテトラブROMフ ルオレセイン	177	0	5	0	172	
テトラブROMフルオレセイン	144	0	11	0	133	
トルイジンレッド	100	0	4	0	96	
ナフトールエローS	240	0	16	0	224	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマネントオレンジ	61	0	10	0	51	
ハンサエロー	96	0	2	0	94	
ファストグリーンFCF	128	0	8	0	120	
ファストレッドS	219	0	4	0	215	
ブリリアントブルーFCF	35	0	14	0	21	
フルオレセイン	213	0	4	0	209	
フロキシソ	465	0	10	1	454	
ボンソーR	283	0	2	0	281	
ボンソーXR	227	0	2	0	225	
ボンソー3R	237	0	2	0	235	
リソールルビンBCA	396	0	13	0	383	
レーキレッドC	411	0	5	0	406	
レーキレッドCBA	149	0	10	0	139	
レーキレッドDBA	177	0	3	0	174	
ローズベンガル	31	0	8	1	22	
計	6,399	0	213	4	6,182	

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。そのほか誌上发表、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、製造又は調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 - 誌上发表：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：衛生試験所所定の前稿用紙を用い、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。
 - 誌上发表：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きし、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿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。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

1. 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。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。また、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	ムド (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	(°C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
($m\mu$ 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 ASAHINA

7. 報文, ノート, 資料の記載要領:

7・1 記載順序: 7・2~7・5 の順に書く。

7・2 題名, 著者名: 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) 神藏美枝子, 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か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 55 年度 図書 編集 委員

鈴木郁生	山羽力	竹中祐典
末吉祥子	緒方宏泰	木村俊夫
亀谷勝昭	義平邦利	中村晃忠
安藤正典	関田寛	石綿肇
柳町きみゑ	田中彰	松本清司
川島邦夫	小久保武	沢田稔
岡恒	佐竹元吉	

衛生試験所報告 第 98 号

昭和 55 年 9 月 25 日 印刷
昭和 55 年 10 月 1 日 発行

発行所 国立衛生試験所化学物質情報部
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