- (17) W. J. Whelan : *Biochemical Society Symposia*, No. 11, Cambridge at the University Press, 1953, p. 17.
- (18) W. J. Whelan, P. J. P. Roberts : *Nature*, 170, 748 (1952).
- (19) K. H. Meyer, W. F. Gonon : *Helv. Chim. Acta*, 34, 308 (1951).
- (20) K. Myrbäck, B. Örtenblad, K. Ahlborg : *Biochem. Z.*, 315, 240 (1943).
- (21) K. V. Giri, V. N. Nigam, K. Saroja : *Naturwiss.*, 40, 484 (1953).
- (22) J. T. Kung, V. M. Hanrahan, M. L. Caldwell : *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 5548 (1953).
- (23) J. H. Pazur : *J. Biol. Chem.*, 205, 75 (1953).

有機水銀化合物のペーパークロマトグラフィー*

金沢 純, 古山 清, 綾 正弘, 佐藤六郎 (農林省農薬検査所)

昭和 32 年 5 月 21 日 受 理

ま え が き

農業用殺菌剤として数多くの有機水銀剤が市販せられ、主要病害の防除、種子消毒、土壌殺菌等非常に広範囲に卓効が認められ、使用量は殺菌剤中の主位を占めている。これらの有機水銀剤は有効成分である有機水銀化合物の種類により、病原菌に対する効力は勿論、作物に散布後の消長、土壌中や製剤後の安定性等その性質を異にしている。有機水銀剤の有効適切な使用法を確立するためにはこのような有機水銀化合物の諸性質を解明することが急務と考えられる。然るに個々の有機水銀化合物の適確な分離検出法が見出されていない。著者はこのような見地から有機水銀化合物のペーパークロマトグラフィーを試み、有機水銀化合物相互の分離と共に無機水銀とも分別できる展開溶媒、感度の高い検出法を見出し、これを製剤中の有効成分の検出に応用した。

操 作

1. 使用濾紙 東洋濾紙 No. 51, 20×20 cm.

2. 検出法

化学的方法 : 1% ジフェニールカルバゾンのエタノール溶液を噴霧すると有機水銀化合物のスポットは室温で直ちに紫赤色を呈する。

生物的方法 : 水銀剤の寒天拡散法に用いて明瞭な阻止円を得た当所分離の細菌 (H 菌)^{(1)**} によるバイオオートグラフィーを行った。即ち、キャビネ判の写真用バットに 1.5% 寒天液 100~200cc を流して水平床を作り、充分固化した後に清潔なガラス板 (16.5×12 cm) を敷く、次いで 50° 内外の融解馬鈴薯寒天培養基 50~60 cc にペプトン-蔗糖培養基 (ペプトン 10 g, 蔗糖 20 g, 寒天 20 g, 水 1000 cc) に 26° で 3 日間斜面培養した H 菌の培養試験管 1 本分を約 10 cc の殺菌水に懸濁して接種したものをガラス板上なるべく均一に固化させて試験床を作る。充分固化した時に展開終了後 50~60° で溶媒を完全に除いた濾紙を試験床に平に張りつけ、寒天培養基の水分が濾紙に一樣に滲透してから約 10 分間置いた後取り去り、26~30° の定温器に 15 時間以上保つ時はスポットに相当する位置に阻止円を生ずる。

3. 試料溶液

ジフェニールカルバゾンによる検出には有機水銀化合物の 2000 γ/cc 水溶液を、H 菌には 500 γ/cc 水溶液を調製した。2000 γ/cc 水溶液の調製に当り、水に難溶性のフェニール塩化水銀、エチル塩化水銀、メチル塩化水銀には溶媒としてピリジン：水 (1:5) を用いた。

4. 試料の塗布及び展開

濾紙の一端より 2 cm に原線を引き、2 cm 間隔に原点を置き、破損寒暖計を用いて桑田の方法⁽²⁾に従い、ミクロピペットを自製し、試料溶液の 0.001 cc を塗布した。風乾後円筒状に巻いて定温器におさめたガラス鐘中

* Paper Chromatography of Organo-mercury Compounds

By Jun KANAZAWA, Kiyoshi KOYAMA, Masahiro AYA and Rokurō SATō (Agricultural Chemical Inspection Station, Tokyo)

** 古山が当所小金井圃場の土壌より分離した稗菌の一種で、水銀で明瞭な阻止円を生ずるものでその分類学的検討は未だなされていない。

で 16 cm 内外上昇展開した。

結 果 及 び 考 察

1. 検出法の感度

この方法を作物体に散布された有機水銀剤の変化の追跡や、土壤中に於ける動態試験等に応用するためには高い感度が必要とされる。F. Feigl⁽⁸⁾ は水銀の化学的検出法を数種紹介している。これらの中、濾紙上のスポットの検出に採用できる方法について検討したところ、検出限界 0.003 γ とされている沃化第一銅による反応は色調が不鮮明で感度もこれより低い。これに反し有機試薬であるジフェニールカルバゾン⁽⁹⁾ は呈色も明瞭で感度も高かった。有機水銀化合物のジフェニールカルバゾンによる発色は噴霧後漸次濾紙全面に空気酸化によるうすい桃色が表われるがジチゾン始め他の有機試薬より敏感である。

生物的検出法では他の細菌類、例えば枯草菌、霊菌なども使用できるが H 菌に比べて阻止円の周辺がよくぬけない欠点がある。

採用した検出法の感度を明かにするため、東洋濾紙 No. 51 を用い、限界消滅法により有機水銀化合物と塩化第二水銀の最少検出量を求めた。その結果を第 1 表に示す。

第 1 表 有機水銀化合物と塩化第二水銀の最少検出量

化合物名	分子式	ジフェニール カルバゾン	H 菌*
フェニール酢酸水銀	$C_6H_5HgOCOCH_3$	0.03 γ	0.001 γ
フェニール塩化水銀	C_6H_5HgCl	0.04	0.002
エチル塩化水銀	C_2H_5HgCl	0.04	0.004
エチル燐酸水銀	$(C_2H_5Hg)_2HPO_4$	0.05	0.004
メトキシエチル塩化水銀	$CH_3OC_2H_4HgCl$	0.01	0.002
メチル塩化水銀	CH_3HgCl	0.03	0.005
塩化第二水銀	$HgCl_2$	0.01	0.005

* H 菌による最少検出量は阻止円の直径が 2mm 以下になると判定が困難になるので阻止円直径 2mm を示す量をとった。

即ち、H 菌のバイオオートグラフィー

により感度をジフェニールカルバゾンの約 4 倍に高めることができた。しかし明瞭なスポットを得るために濾紙に塗布すべき最適量はジフェニールカルバゾンには 2~5 γ 、H 菌には 0.5 γ であった。

2. 展開溶媒の選出

展開溶媒として必要な条件は有機水

銀化合物と一価、二価の無機水銀の分離が完全であると同時に有機水銀化合物相互の分離、即ち殺菌剤として主として用いられているフェニール水銀、エチル水銀、メチル水銀等の各グループ分けができることである。無機水銀を分析族の他の金属から分離した例⁽⁴⁾は少くない。主として *n*-ブタノールを鉍酸で飽和したものや種々の割合に他の有機溶媒と水を混合したもので、これらの中最も良好と思われる 1~3N 塩酸を飽和した *n*-ブタノールでも無機水銀と有機水銀化合物の R_F 値が近い位置を占めるばかりでなく、有機水銀化合物のスポットのまとまりが悪い。又、エタノール、アセトン、ベンゾール、フェノールなどの中性及び酸性含水溶媒中にも満足すべきものが見出されなかった。従って無機水銀を原点に止めるか、或は展開前端まで移動させ、有機水銀化合物相互の分離ができるものを検索した。固定相である水、各種の酸、アルカリ、塩類溶液等で単独展開して見た結果、水、酸、塩類溶液では有機、無機水銀共に原点より長く帯状に展開されるに反し、1~3N アンモニア水では原点に止り、展開されない。これは水銀とアンモニアの附加化合物が形成され、水に不溶性になるためと考えられる。そこで一般にペーパークロマトグラフィーに使用されている有機溶媒に 1~3N アンモニア水を飽和及び種々の割合に混合したものについて検討した結果、1N アンモニア水を飽和した *n*-ブタノールが以上の条件を満足する展開溶媒であることを見出した。有機水銀化合物は極性基の炭素数の大なるもの程高い R_F 値を示し、相互に分離され、無機水銀は原点に止り、これと完全に分離された。 R_F 値は他の物質の場合と同様に展開温度による影響があり、低温 (5~7°) と高温 (27~28°) の R_F 値を比較すれば第 2 表のとおりである。スポットの検出はジ

第 2 表 有機水銀化合物の R_F 値

化 合 物 名	5~7°			27~28°		
	展開 数	R_F 値		展開 数	R_F 値	
		範 囲	平均		範 囲	平均
フ ェ ニ ー ル 酢 酸 水 銀	8	0.33~0.38	0.35	13	0.36~0.42	0.39
フ ェ ニ ー ル 塩 化 水 銀	7	0.34~0.38	0.35	13	0.36~0.42	0.40
エ チ ル 塩 化 水 銀	9	0.21~0.24	0.23	9	0.24~0.29	0.27
エ チ ル 燐 酸 水 銀	9	0.20~0.24	0.22	12	0.24~0.28	0.27
メ ト キ シ エ チ ル 塩 化 水 銀	7	0.13~0.18	0.15	13	0.17~0.20	0.18
メ チ ル 塩 化 水 銀	7	0.12~0.15	0.14	14	0.16~0.19	0.17

フェニールカルバゾンによった。

従って未知試料の同定に当たっては同一条件で純物と併行展開するか、或は添加試験を行うことが望ましい。この場合展開距離は 16 cm 内外で、展開に要した時間は 5~7° で 5 時間半から 6 時間、27~28° で 4 時間半か

第 3 表 有機水銀剤中の有効成分の検出*

水 銀 剤 名	展 開 数	R_F 値		検出した有機水銀
		範 囲	平均	
セ レ サ ン	4	0.39~0.42	0.41	フェニール水銀
セレンサン石灰	4	0.39~0.41	0.40	フェニール水銀
リオゲン	3	0.38~0.42	0.41	フェニール水銀
ミクロジン	3	0.41~0.42	0.42	
フミロン錠	3	0.39~0.41	0.41	フェニール水銀
リオゲン錠	2	0.40~0.42	0.41	フェニール水銀
		0.28~0.30	0.29	エチル水銀
ルベロン錠	3	0.27~0.28	0.28	エチル水銀
ウスプルン	3	0.18~0.19	0.19	メトキシエチル水銀
P M F	3	0.56~0.59	0.58	
対 照 純 物				
フェニール酢酸水銀	4	0.39~0.42	0.41	
エチル燐酸水銀	2	0.27~0.28	0.28	
メトキシエチル塩化水銀	2	0.18~0.19	0.19	

* 展開温度 27~28°

その結果を第 3 表に示す。

総 括

水銀剤に使用されている数種の有機水銀化合物の定性的な分離手段としてペーパークロマトグラフィーを試みた。展開溶媒は 1N アンモニア水を飽和した *n*-ブタノールが最もよく、東洋濾紙 No. 51, 20×20 cm を用い、一次元上昇法によった。検出には化学的方法として 1% ジフェニールカルバゾンのエタノール溶液の噴霧、生物的方法として H 菌による寒天拡散法を実施した。限界消滅法による最少検出量は各化合物により多少の差が認められるが、ジフェニールカルバゾンで 0.01~0.05 γ , H 菌で 0.001~0.005 γ であった。しかし明瞭なスポットを得るために濾紙に塗布すべき最適量はそれぞれ 5, 0.5 γ であった。 R_F 値は他の成分の場合と同様に展開温度による影響が大きい。この展開溶媒では一価、二価の無機水銀は原点に止り、有機水銀化合物と完全に分離された。本法により市販水銀剤中の有効成分の検出を試み、良い結果を得た。

終りにのぞみ、試料の一部を提供された北興化学、三共の両社に謝意を表する。

本報告の要旨は昭和 31 年 12 月 15 日の日本植物病理学会冬季関東部会（於農技研）で発表した。

(1) 古山 清, 綾 正弘, 中村広明 : 農業検査
所報告, 第 4 号, 10 (1953).

(1952).

(3) F. Feigl : "Spots Tests", 62 (1954).

(2) 桑田 智 : "クロマトグラフィー", 125

(4) 原沢四郎 : 日化, 72, 112, 236, 352 (1951).

毛 髪 の 化 学 的 研 究 (第 3 報)*

毛髪の過酸化水素による酸化 (其の 1)

過酸化水素処理毛髪ケラチンの物理化学的性質について

船津 軍喜, 船津 勝 (九州大学農学部生物化学教室)

昭和 32 年 5 月 22 日 受 理

緒 言

黒色毛髪の蛋白質は主としてケラチンよりなり、殆んど全ての溶媒に溶けない。これはケラチン中に多量のシステインが存在し、その硫黄橋によってペプチド鎖が強固に結合されているためと考えられており、このことは同時にケラチンの構造研究を著しく妨げている。種々の酸化剤、還元剤或はアルカリ等により硫黄結合を切断するとケラチンは始めて可溶性になるが、この場合ケラチン分子はペプチド鎖の巻き方が全く変化し、従って分子形

* Chemical Studies on Hair. Part III. Oxidation of Hair by Hydrogen Peroxide.

(1) Physicochemical Properties of Keratin of Hair treated with Hydrogenperoxide.

By Gunki FUNATSU and Masaru FUNATSU (Biochemical Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyushu University)

ら 5 時間であり、展開温度としては 20~30° の高い温度の方が仕事も早く、スポット相互の分離もよい。

3. 有機水銀剤中の有効成分の検出

本法により市販の数種有機水銀剤中の有効成分の検出を行った。試料として各有機水銀剤の表示水銀含有量 (Hg^{2+}) に準じて 1000 γ/cc , 250 γ/cc 水溶液を調製し、それぞれ 0.001cc を塗布し、ジフェニールカルバゾンと H 菌により検出した。