lizing efficiency was better at a lower concentrations. At a very high concentration region of the active agent, the solubilizing efficiency was found to increase rapidly. Compared in the same weight/volume concentration, active agents with less oxyethylene group possessed better solubilizing efficiency. These results were compared with the solubility in an aqueous solution of a few ionic surface-active agents and simple observations were made.

(Received May 8, 1953)

206. 石田行雄, 稻垣尚起, 塩田秋彦, 渡辺玲子: 法定食用水溶性タール色素の
ペーパークロマトグラフによる系統的分離鑑識

Yukio Ishida, Naoki Inagaki, Akihiko Shiota, and Reiko Watanabe:

Systematic Identification of Japanese Official Water-soluble
Food Colors by Paper Chromatography.

(Osaka Branch, National Hygienic Laboratory*)

我が国の法定食用水溶性タール色素 18 種〔食用赤色 1 号 (ボンソー 3 R), 食用赤色 2 号 (アマランス), 食用赤色 3 号 (エリスロシン), 食用赤色 4 号 (ボンソー SX), 食用赤色 101 号 (ボンソー R), 食用赤色 102 号 (ニューコクシン), 食用赤色 103 号 (エオシン), 食用赤色 104 号 (フロキシソ), 食用赤色 105 号 (ローズベンガル), 食用だいだい色 1 号 (オレンジ I), 食用黄色 1 号 (ナフトールエロー S), 食用黄色 4 号 (タートラジン), 食用黄色 5 号 (サンセットエロー FCF), 食用緑色 1 号 (ギネアグリーン B), 食用緑色 2 号 (ライトグリーン SF 黄口), 食用緑色 3 号 (ファストグリーン FCF), 食用青色 1 号 (ブリリアントブルー FCF), 食用青色 2 号 (インジゴカーミン)〕をアミルアルコールを用いる従来の化学的系統分析¹⁾によつて 4 属に分離し, 各属を異なつた展開剤で上昇法で汚紙上に展開しほぼ分離に成功した。但し食用赤色 1 号と食用赤色 101 号の分離(従来の化学的方法に於いても不可能)及び食用緑色 2 号, 食用緑色 3 号と食用青色 1 号の分離は出来なかつた。

従来はこの 4 属を更に化学的方法によつて分離鑑識していたが, α -dichlorohydrin 等を用い操作が非常に煩雑であつた。又ザンテン系色素の第 2 属の分離は不可能であつたが我々はアンモニア・アルコールにより 4 種を完全に分離した。

我々は展開剤の選定に主眼点を置き次の如き展開剤の中から各属分離可能なものを選んだ。

研究に使用した展開剤: 10% HCl, 30% CH₃COOH, 60% CH₃COOH, 1% NaCl, 1% KCl, 1% KI, 1% NH₄Cl, 1% Na₂SO₄, 30% アルコール, ブタノール・30% CH₃COOH・アルコール (60:20:20), ブタノール・アルコール・10% HCl (60:20:20), ブタノール・アルコール・フェノール・水 (40:40:10:30), ブタノール・アルコール・1% NH₄Cl (60:20:20), ブタノール・アルコール・1% アンモニア水 (60:20:20), ブタノール・アルコール・3% CH₃COOH (60:20:20), ブタノール・アルコール・1% NaCl (60:20:20), 25% アルコール・5% NH₄OH (50:50), 5% フェノール, 60% フェノール, 80% フェノール, 80% フェノール・1% HCl (230:15), 80% フェノール・1% NH₄OH (200:13.4), 80% フェノール・1% NaOH (230:15), フェノール・3% NaOH (50:50), フェノール・アルコール・水 (40:25:40)。

上記展開剤に対する食用色素の R_f 値は省略する。

色素は厚生省食品衛生課尾崎課長より提供された米国許可食用色素によつた事を厚く御礼申し上げる。研究費の一部は文部省科学試験研究費に依つた。併せて感謝する。

* Hoenzaka-cho, Higashi-ku, Osaka.

1) A. O. A. VII 656 (1950); 服部, 藤井: “飲食物著色料検査法” 146.

実 験 の 部

濾紙 東洋濾紙 No. 50 (長さ 40 cm, 幅 1.0 cm). 展開装置²⁾ 8 本掛の上昇用円筒を使用, 展開剤は濾紙の下端から 1.0 cm の所まで入れる. 濾紙の下端から 7.0 cm の所へ検液を塗布.

各属の分離¹⁾ 可検色素溶液は可及的浮遊物, アルコール, 酸類, アルカリ類及び塩類を除く. 最適濃度 0.01~0.05% 可検色素溶液に 25% 食塩溶液を加え溶液の食塩含量を約 10% にしてこの液 7 部に対し酢酸 1 部を加えてアミルアルコール 30~50 cc 宛で抽出. アミルアルコール層と水層及び洗液の部に分ける. このアミルアルコール層を 5% 食塩 (各 25 cc 宛) を以て洗滌. この操作は洗液が無色又は殆んど無色となるまで反覆する. 洗液は原水溶液に合する. アミルアルコールに同量のガソリンを加え水各 25 cc を以て色素を抽出する. この水溶液にはだいたい色 1 号 (以下食用を略す), 緑色 1 号が来る (第 I 属). このアミルアルコール・ガソリン層をアンモニア水各 10 cc を以て振盪抽出する. ここには赤色 3 号, 赤色 103 号, 赤色 104 号, 赤色 105 号が移行する. アンモニアは水浴上で飛ばす (第 II 属). 原水層及び洗液を塩酸性 (溶液 40 容に対し塩酸 1 容) としこの液各 50 cc に対しアミルアルコール各 50 cc を以て 3 回抽出. このアミルアルコール層を 1/4N HCl 各 25 cc 宛を以て洗液が無色又は殆んど無色となるまで洗滌. 洗液はその水溶液と合す. アミルアルコール層を数回水 25 cc で抽出すると, 赤色 1 号, 赤色 4 号, 黄色 1 号, 赤色 101 号が移行する (第 III 属). 水層及び洗液に白色毛絲を加えて水浴上で加熱し染色する. 水洗してアンモニア水で再び溶出. これにより食塩及び酸類を除く. ここに緑色 2 号, 緑色 3 号, 青色 1 号, 赤色 2 号, 黄色 4 号, 黄色 5 号, 青色 2 号, 赤色 102 号が来る (第 IV 属).

各属分離可能な展開剤, 展開時間及び像の位置 第 I 属: 此の属の分離は簡単でほとんどの展開剤で分離出来る. その中代表的なものは 10% HCl (7~8 hr)*, 60% CH₃COOH (7~8 hr), 5% フェノール (7~8 hr). 展開像の位置は 10% HCl を例にするとだいたい色 1 号は下部でほとんど上昇しない (Rf=0.05) が, 緑色 1 号は上部に上昇する (Rf=0.92). 第 II 属: 25% アルコール・5% アンモニア水 (50:50) (7~8 hr). 展開像の位置は最下部から赤色 3 号 (Rf=0.47), 赤色 103 号 (Rf=0.56), 赤色 105 号 (Rf=0.60), 赤色 104 号 (Rf=0.72) の順に展開. 第 III 属: 此の属のもの内赤色 1 号と赤色 101 号は分離せず同一位置に現われる. 展開剤は 80% フェノール (18~20 hr) 又は ブタノール・アルコール・5% アンモニア (60:20:30) (18~20 hr). 展開像の位置は 80% フェノールを例にすると最下部から赤色 4 号 (Rf=0.25), 赤色 1 号 (Rf=0.45), 赤色 101 号 (Rf=0.45), 黄色 1 号 (Rf=0.52) の順に展開. 第 IV 属: フェノール・アルコール・水 (40:25

Table I 各属色素の Rf 値 (Rf Value of Grouped Colors)

属 (Group)	展 開 剤 (Solvent)	色 素 名 (Name of colors)	Rf 値 (Rf-Value)
第 I 属 (1st Group)	(1)**10% HCl	食用だいたい色 1 号 (Orange I)	0.05
	(2) 5% Phenol	食用緑色 1 号 (Guinea green B)	0.92
第 II 属 (2nd Group)	25% EtOH・5% NH ₄ OH (50:50)	食用赤色 3 号 (Erythrosine)	0.47
		食用赤色 103 号 (Eosine)	0.56
		食用赤色 105 号 (Rose Bengal)	0.60
		食用赤色 104 号 (Phloxine)	0.70
第 III 属 (3rd Group)	(1)**80% Phenol	食用赤色 4 号 (Ponceau SX)	0.25
	(2) BuOH・EtOH・5% NH ₄ OH (60:20:30)	食用赤色 1 号 (Ponceau 3 R)	0.45
		食用赤色 101 号 (Ponceau R)	"
		食用黄色 1 号 (Naphthol yellow S)	0.52
第 IV 属 (4th Group)	(1)**Phenol・EtOH・ H ₂ O (40:25:40)	食用黄色 4 号 (Tartrazine)	0.38
		食用赤色 2 号 (Amaranth)	0.48
		食用青色 2 号 (Indigo carmine)	0.52
		食用赤色 102 号 (New coccine)	0.59
	(2) Phenol・3% NaOH (50:50)	食用黄色 5 号 (Sunset yellow FCF)	0.60
		食用緑色 2 号 (Light green SF yellowish)	0.78~1.00
		食用緑色 3 号 (Fast green FCF)	"
		食用青色 1 号 (Brilliant blue FCF)	"

** 第 I, III, IV 属の Rf 値は (1) の展開剤による.

2) 音在: 化学の領域 4, 411 (1950).

* カッコ内は展開時間

40) (18~20 hr) 或はフェノール・3% NaOH (50:50) (18~20 hr). 最下部より黄色 4 号 (Rf=0.38), 赤色 2 号 (Rf=0.52), 赤色 102 号 (Rf=0.57), 黄色 5 号 (Rf=0.59) の順に展開し最上部に緑色 2 号, 緑色 3 号と青色 1 号が分離しないで一箇所に集まっている (Table I).

色素の決定 化学的系統分離により各属に分離された色素を上記の展開剤で展開して色素の高さ及び色調によつて未知検体が予測される. 予測された同一色素と思われる既知色素と混合して展開. 異種色素であれば分離するが同一色素であると分離しない. この方法を混合展開法とする. 又展開された色素の濾紙片を切り取つて濃塩酸, 濃硫酸, 10%苛性ソーダ及び希アンモニア水にて反応させるとそれぞれ色素特有の色調を示す. この方法を染色毛糸反応にならつて着色濾紙反応と称する.

此の混合展開法と着色濾紙反応を利用して, 予めペーパークロマトより推定された色素の確認反応としている (Table II).

Table II 着色濾紙反応

	色 素 名	着色濾紙の色	濃 塩 酸	濃 硫 酸	10%苛性ソーダ	希アンモニア水
第 I 属	橙色 1 号 (オレンヂ I)	橙 色	紫 色	赤 紫 色	赤 色	赤 色
	緑色 1 号 (ギネアグリーン B)	緑 色	淡橙黄色	黄 褐 色	脱 色	脱 色
第 II 属	赤色 3 号 (エリスロシン)	赤 色	橙 黄 色	橙 黄 色	変化なし	変化なし
	赤色 103 号 (エオジン)	黄赤色	橙 黄 色	黄 橙 色	変化なし	変化なし
	赤色 105 号 (ローズベンガル)	青赤色	類 黄 色	橙 色	変化なし	変化なし
	赤色 104 号 (フロキシン)	青赤色	黄 色	橙 色	変化なし	変化なし
第 III 属	赤色 1 号 (ボンソー 3 R)	赤 色	変化なし	変化なし	鈍 橙 色	変化なし
	赤色 101 号 (ボンソー R)	赤 色	変化なし	変化なし	黄 褐 色	変化なし
	赤色 4 号 (ボンソー SX)	赤 色	赤色を増す	赤色を増す	橙 黄 色	橙 黄 色
	黄色 1 号 (ナフトールエロー S)	黄 色	殆んど脱色	淡鈍褐色	変化なし	変化なし
第 IV 属	黄色 4 号 (タートラジン)	黄 色	少し暗色となる	少し暗色となる	殆んど変化なし	殆んど変化なし
	黄色 2 号 (アマランス)	赤 色	少し暗色となる	紫色→帯褐色	鈍褐色→橙赤色	殆んど変化なし
	青色 2 号 (インダゴカーミン)	青 色	少し暗色となる	暗色となる	緑 青 色	緑 青 色
	赤色 102 号 (ニューコクシン)	緋 色	赤 色	紫 赤 色	帯黄褐色	橙 赤 色
	黄色 5 号 (サンセツトエロー FCF)	橙黄色	少し赤色を増す	少し赤色を増す	褐色を帯ぶ	変化なし
	緑色 2 号 (ライトグリーン SF 黄口)	緑 色	淡橙黄色	黄 褐 色	脱 色	脱 色
	緑色 3 号 (ファストグリーン FCF)	青緑色	橙 色	緑色→褐色	青 色	青 色
	青色 1 号 (ブリリアントブルー FCF)	緑青色	黄 色	黄 色	変化なし	変化なし

螢光燈による螢石彩 法定食用色素は一般に螢光はないが, ザンテン系色素である第 II 属は例外で特異な螢光を持っている. 故に上記反応に附記して螢光燈にて照射すると Table III の如くなつて確認反応として利用される.

Table III 螢光燈照射による螢石彩

色 素	水 溶 液	着 色 濾 紙
赤色 3 号 (エリスロシン)	微弱な橙色螢石彩	微弱な橙色螢石彩
赤色 103 号 (エオジン)	著明な黄色螢石彩	著明な黄色螢石彩
赤色 105 号 (ローズベンガル)	微弱な黄赤色螢石彩	微弱な紫色螢石彩
赤色 104 号 (フロキシン)	橙色螢石彩	赤色螢石彩

理論的考察 同じ様な構造を持つた分子に於いて分子量及び電離度が Rf 値に関係することが推察された. 第 II 属の分離において構造は同じザンテン系色素であるが上記展開剤で展開すると分子量大なるものは Rf 値小で下位にあり, 電離度の大なるものは上位に展開する. 即ちエリスロシンとエオジン及びローズベンガルとフロキシンは各々沃度とブロム原子の差だけである. 原子量は $I > Br$ であるから, エリスロシン > エオジン, ローズベンガル > フロキシンであつて, それぞれ分子量の大なるものが下位に展開して Rf 値が小である.

一方ローズベンガルとフロキシンは 基に Cl があつて, エリスロシンとエオジンにはない.

Table IV 電離恒数

	6×10^{-5}		1.55×10^{-4}
	1.32×10^{-3}		9.3×10^{-5}

Cl があれば分子量が増大するが、カルボキシル基の電離度が増大する傾向がある (Table IV). 故に電離度も Rf 値を決定づける一つの要素と考えられる. これによつてローズベンガルとフロキシシン

は上位展開したことが推定される. 勿論展開剤の種類によつて色々変化するものであるが、一応分子量と電離度も Rf 値を決定づける一つの要素と考えられる.

応用の部 我々の方法によつて米国輸入色素 5 種及び我国市販混合色素 16 種を分離鑑識した結果を Table V に示した.

Table V

米 国 産 の 混 合 色 素					
品 名	水 溶 液 色	第 I 属	第 II 属	第 III 属	第 IV 属
Pistachio green B	緑 色	—	—	—	Y*-4, R-2, B-1
Brilliant crimson red shade	赤 色	—	—	R-1	R-2
Brilliant blue	青 色	—	—	—	R-2, B-2
Chroline red shade	赤 色	—	—	R-1	R-2
Stripping red	赤 色	—	R-3	—	R-2

国産の混合色素 (市販品)

混 合 色 素	第 I 属	第 II 属	第 III 属	第 IV 属
紅 色	—	R-103, R-105	—	—
〃	—	R-103, R-104, R-105	—	—
〃	—	R-104	—	R-102
チョコレート色	—	—	R-101 (or R-1)	R-2, Y-4, B-2
〃	O-1	—	R-101 (or R-1)	R-2, R-102, Y-4, B-2
〃	—	—	Y-1, R-101 (or R-1)	R-2, R-102, B-2
小 豆 色	G-1	—	R-1	R-2
緑 色	G-1	—	Y-1	G-2, B-2
〃	G-1	—	Y-1	G-2
ぶ どう 色	—	—	R-101 (or R-1)	R-2, Y-4, B-2
〃	—	—	R-101 (or R-1)	R-2, B-2
酒 色	G-1	—	—	R-102, Y-4
〃	—	—	R-101 (or R-1)	B-2, Y-4, B-2

玉 子 色	—	R-104	Y-1	—
メ ロ ン 色	—	—	—	Y-4, B-2
小 豆 色	O-1	—	R-101 (or R-1)	R-2, Y-4, B-2

* R=食用赤色, Y=食用黄色, O=食用だいだい色, B=食用青色, G=食用緑色を示し, 1, 2……等は色素番号を現わす. 即ち Y-4=食用黄色 4 号, R-101=食用赤色 101 号を意味する.

国立衛生試験所大阪支所

Summary

Japanese official water-soluble food colors were divided chemically into four groups by the existing A.O.A.C. method. Each of the groups was developed by paper chromatography (ascending method) using a different solvent for each group and divided into each dye. The isolated dye on the filter paper was detected by its R_f value and colorations with conc. HCl, conc. H₂SO₄, 10% NaOH, or dil. ammoniac water. It was found through this study that the R_f values were dependent on the molecular weight and dissociation constant. Examples of isolation of marketed mixed dyes by this method are given.

(Received May 13, 1953)

207. 藤川福二郎, 中島邦夫, 徳岡曉正, 人長有平*, 中沢昭三, 尾松徳五郎, 隅山 陣**:
試験管内に於ける諸種有機化合物の抗菌作用に関する研究 (第5報¹⁾)

Fukujiro Fujikawa, Kunio Nakajima, Akimasa Tokuoka, Yuhei Hitosa*
Syozo Nakazawa, Tokugoro Omatu, and Tamuro Sumiyama**:

Studies on the antibacterial Activity of some
Organic Compounds *in vitro*. V.

(Kyoto College of Pharmacy*, and Department of Microbiology, Kyoto
Pref. Med. University**)

本報では Diphenylmethan 系化合物 10 種, Cyclohexylphenol (I) 系化合物 4 種, Acetophenon (II) 並びに Benzophenon (III) 系化合物 19 種, 2,4-Dioxy-5-alkylbenzaldehyd 系化合物 5 種, 2,4-Dioxy-3-chlor-5-alkylbenzaldehyd 系化合物 4 種, Semicarbazon 類 4 種, Thiosemicarbazon 類 15 種計 61 種の化合物の黄色葡萄球菌 209 P 株 (*Micrococcus pyogenes* var. *aureus*), 普通大腸菌 (*Escherichia coli communior*) 及び枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に対する *in vitro* に於ける抗菌作用を試験した結果に就いて報告するが, 試験方法は第1報の通りであり試験成績は次表の通りであるが, 表中の数字は何れも完全発育阻止濃度を示すが次表が示す如く黄色葡萄球菌に対して8万倍で完全に発育を阻止したものに 5,4'-Dichlor-2,4-dioxydiphenylmethan (IV), 2,4-Dioxy-5-heptylbenzaldehyd (V), 2,4-Dioxy-3-chlor-5-äthylbenzaldehydthiosemicarbazon (VI), 2,4-Dioxy-3-chlor-5-butylbenzaldehydthiosemicarbazon (VII), α -Collatolsäuredithiosemicarbazon (VIII) 等があり, 16 万倍で発育を阻止したものに 2,4-Dioxy-3-chlor-5-hexylbenzaldehyd (IX), Monochlorisohämatommsäuremethylesterthiosemicarbazon (X) があり, 32 万倍で発育を阻止したものに 2,4-

1) 第4報: 本誌 73, 537 (1953)

* Yamashina-misasagi, Higashiyama-ku, Kyoto.

** Kawaramachi-hirokoji, Kamikyo-ku, Kyoto.