

詳細については明らかではない。我々は有機リン系農薬が検出されたソヨウ及びチンピを用い、それぞれの煎液を調製した場合、農薬は煎液にほとんど移行しないか、あるいは煎液調製中に分解や揮散などにより消失し、煎液からはほとんど検出されないことを明らかにしている<sup>8)</sup>。漢方処方では複数の生薬が配合されていることから、漢方処方煎液を調製した場合には、他の生薬成分の影響により、煎液への農薬の移行率が単品とは異なる可能性がある。

そこで今回、漢方処方煎液への農薬の移行率を明らかにするため、これまでに9種類の有機リン系農薬が検出された生薬6種（チンピ<sup>1)</sup>、ニンジン<sup>2)</sup>、カンゾウ<sup>1)</sup>、トウキ<sup>2)</sup>、ハッカ<sup>2)</sup>及びソヨウ<sup>1)</sup>）を使用し、加味逍遙散、補中益気湯及び半夏厚朴湯を調製し、煎液及び煎出残渣中の農薬を定量した。

## 実験方法

### 1. 試料

国内で入手した以下の18品目32検体を使用した。

農薬分析用：チンピ（No.1~3）、ニンジン（No.1）、カンゾウ（No.1）、トウキ（大和当帰 No.1）、ハッカ（No.1）及びソヨウ（No.1, 2）。

加味逍遙散用：ビャクジュツ（No.1）、サイコ（No.1）、トウキ（大和当帰 No.1, 2）、シャクヤク（No.1）、ブクリョウ（No.1, 2）、サンシシ（No.1）、ポタンピ（No.1）、カンゾウ（No.1, 2）、ショウキョウ（No.1）及びハッカ

（No.1, 2）。

補中益気湯用：オウギ（No.1, 2）、ビャクジュツ（No.1）、ニンジン（No.1~3）、トウキ（大和当帰 No.1, 2）、チンピ（No.1~4）、タイソウ（No.1）、カンゾウ（No.1, 2）、サイコ（No.1, 2）、ショウマ（No.1）及びショウキョウ（No.1）。

半夏厚朴湯用：ハンゲ（No.1, 2）、ブクリョウ（No.1, 2）、コウボク（No.1）、ソヨウ（No.1~3）及びショウキョウ（No.1）。

### 2. 試薬

Table 1 に示した9種類の有機リン系農薬は和光純薬工業(株)製の標準品を用いた。アセトン、アセトニトリル及びn-ヘキサン（ヘキサン）は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を、メタノールは和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフ用を用いた。塩化ナトリウム（特級）、無水硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB 試験用）は和光純薬工業(株)製を用いた。水は蒸留脱イオン水を用いた。Sep-Pak Vac tC<sub>18</sub> カートリッジ（5 g/20 cc, C18 ミニカラム）、Sep-Pak Plus Silica カートリッジ（690 mg, シリカゲルミニカラム）及び Sep-Pak Vac Diol カートリッジ（1 cc, ジオールミニカラム）は Waters 社製を用いた。

### 3. 農薬混合標準溶液

既報<sup>9)</sup>に従い、各2 µg/mL の濃度となるように Table 1 及び Table 2 に示した農薬の混合標準溶液（農薬分析用及び添加回収試験用）を調製した。

Table 1 Pesticide Residues in Crude Drugs

| Crude drug                    |                     | Pesticide           | Residue (ppm), Mean (CV*) |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|
| Citrus Unshiu Peel No.1       | チンピ                 | Fenitrothion (MEP)  | 0.06 (34.1)               |
|                               |                     | Methidathion (DMTP) | 0.54 (7.3)                |
|                               |                     | Quinalphos          | 0.14 (11.8)               |
|                               | No.2                | Malathion           | 0.08 (12.4)               |
|                               |                     | Parathion-methyl    | 0.12 (23.1)               |
|                               | No.3                | Fenitrothion (MEP)  | 0.60 (0.8)                |
|                               | Methidathion (DMTP) | 0.60 (9.5)          |                           |
| Ginseng No.1                  | ニンジン                | Tolclophos-methyl   | 0.16 (7.1)                |
| Glycyrrhiza No.1              | カンゾウ                | Fenitrothion (MEP)  | 0.46 (1.2)                |
| Japanese Angelica Root** No.1 | トウキ                 | Fenitrothion (MEP)  | 0.12 (21.4)               |
|                               |                     | Phenthoate (PAP)    | 0.15 (29.7)               |
| Mentha Herb No.1              | ハッカ                 | Parathion           | 0.08 (17.6)               |
| Perilla Herb No.1             | ソヨウ                 | Parathion           | 0.12 (7.5)                |
|                               |                     | Parathion-methyl    | 1.7 (9.1)                 |

\* Coefficient of variation, \*\* Yamato, prepared from *Angelica acutiloba* Kitagawa

**Table 2** Recoveries of Organophosphorus Pesticides from Decoctions Based on 3 Kampo Formulae and Their Residues

| Kampo formula<br>Pesticide | Recovery (%), Mean (CV *) |             |           | Residue   |
|----------------------------|---------------------------|-------------|-----------|-----------|
|                            | Decoction                 |             |           |           |
|                            | Supernatant               | Precipitate | Total     |           |
| <i>n</i> =3                |                           |             |           |           |
| Kamishoyosan               |                           |             |           |           |
| Fenitrothion (MEP)         | 71 (1.0)                  | 25 (3.6)    | 96 (1.5)  | 87 (4.7)  |
| Parathion                  | 68 (9.8)                  | 29(17.9)    | 97 (1.8)  | 80 (5.1)  |
| Phenthoate (PAP)           | 70 (5.2)                  | 29(12.9)    | 99 (1.8)  | 86 (7.4)  |
| Hochuekkito                |                           |             |           |           |
| Chlorpyrifos               | 48 (3.4)                  | 42(14.2)    | 90 (8.4)  | 99 (5.4)  |
| Fenitrothion (MEP)         | 79 (3.4)                  | 24(20.6)    | 103 (6.1) | 105(12.1) |
| Malathion                  | 94 (4.1)                  | 7(21.2)     | 101 (4.9) | 93 (5.8)  |
| Methidathion (DMTP)        | 94 (6.9)                  | 5(28.3)     | 99 (7.9)  | 101 (4.6) |
| Parathion-methyl           | 87 (3.9)                  | 10 (3.0)    | 97 (3.7)  | 97 (3.0)  |
| Phenthoate (PAP)           | 66 (3.5)                  | 33(16.5)    | 100 (7.4) | 94 (2.0)  |
| Quinalphos                 | 73 (3.4)                  | 20 (9.8)    | 93 (4.8)  | 89 (3.7)  |
| Tolclophos-methyl          | 49 (3.0)                  | 39(14.3)    | 88 (6.3)  | 94 (6.4)  |
| Hangekobokuto              |                           |             |           |           |
| Parathion                  | 68(15.9)                  | 29(22.8)    | 97 (5.7)  | 84 (9.1)  |
| Parathion-methyl           | 83(11.7)                  | 18(28.1)    | 101 (4.9) | 85(12.4)  |

\* Coefficient of variation

#### 4. 分析方法

##### 4.1 生薬中の残留農薬

既報<sup>12)</sup>に従い、生薬試験溶液を調製した。試行数は3回とした。

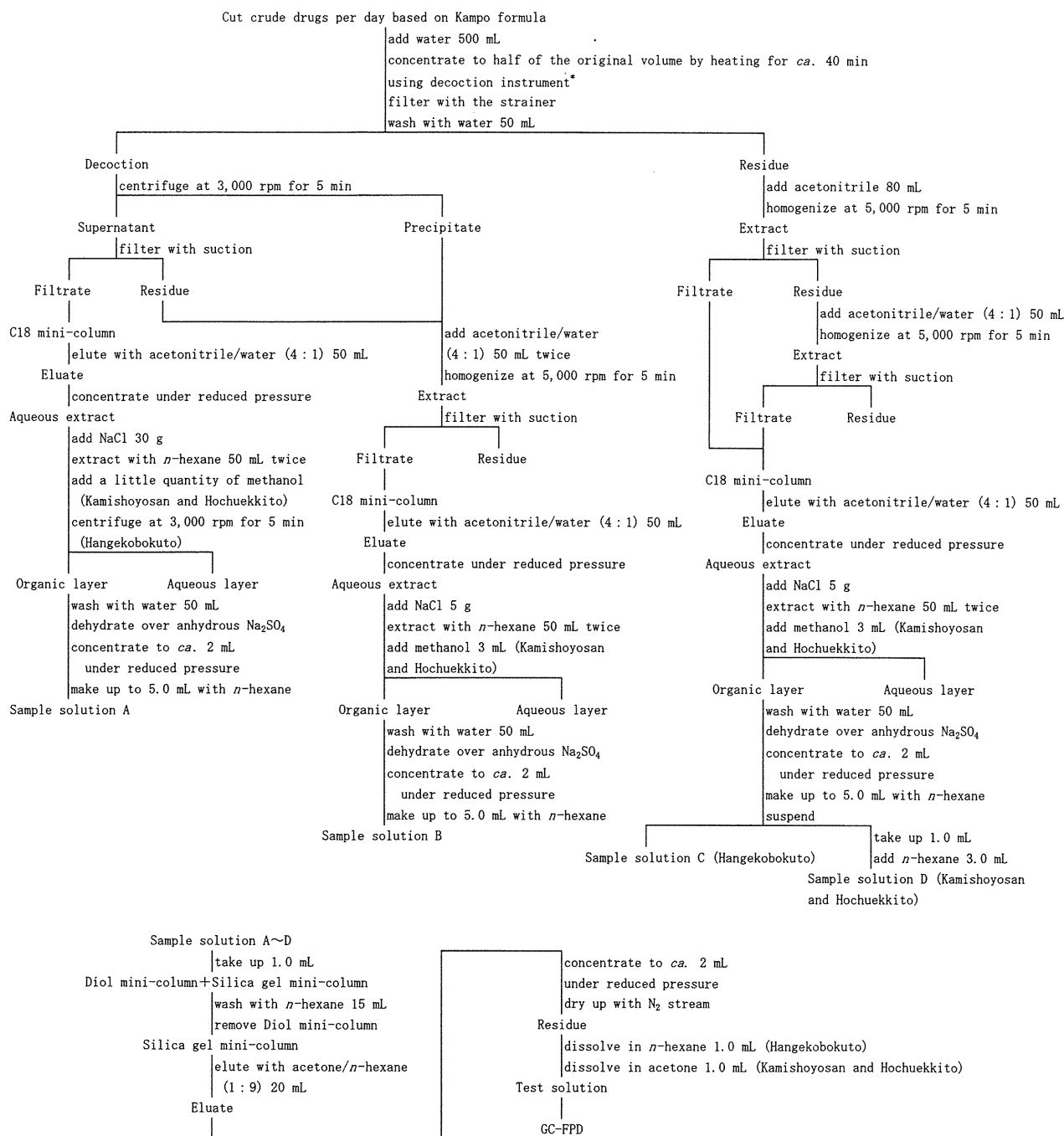
##### 4.2 漢方処方煎液及び煎出残渣中の農薬 (Scheme 1)

Table 3 に示した1日量の生薬<sup>9)</sup>と水500 mLを自動煎じ器(株)ウチダ和漢薬製「煎治」, 沸騰調節ツマミ「強」に入れ、約40分間、約半量まで煎じつめた後、こした。煎出残渣を水50 mLで洗浄し、洗浄液と煎液を合わせた。5分間遠心分離(TOMY LC-121, 3,000 rpm)を行い、上清を吸引ろ過した。ろ紙上の残留物は沈殿物と合わせて分析に供した。

ろ液をあらかじめアセトン30 mL, 水20 mLで順次洗浄したC18ミニカラムに注入し、更にアセトニトリル/水(4:1)50 mLを注入した。カラムから溶出した液を合わせ、40°C以下で減圧濃縮しアセトニトリルを除去した。濃縮液を塩化ナトリウム30 gを入れた分液漏斗に移し、ヘキサン50 mLを加え、5分間振とう後、加味逍遙散及び補中益気湯については少量のメタノールを添加し2層に分離し、半夏厚朴湯については5分間遠心(3,000 rpm)し2層に分離した。ヘキサン層を分取後、水層にヘキサン50 mLを加え、上記と同様の操作を繰り返した。ヘキサン層を合わせ、水50 mLで洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これを約2 mLに減圧濃縮後、ヘキサンを加え総量5.0 mLにし、試料溶液Aとした。

沈殿物にアセトニトリル/水(4:1)50 mLを加え、5分間ホモジナイズ(5,000 rpm)後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル/水(4:1)50 mLを加え、上記と同様に操作し、ろ液を合わせた。ろ液をあらかじめアセトン30 mL, 水20 mLで順次洗浄したC18ミニカラム(再使用時には、アセトン60 mL, 水20 mLで順次洗浄)に注入し、更にアセトニトリル/水(4:1)50 mLを注入した。カラムから溶出した液を合わせ、40°C以下で減圧濃縮しアセトニトリルを除去した。濃縮液を塩化ナトリウム5 gを入れた分液漏斗に移し、ヘキサン50 mLを加え、5分間振とう後、ヘキサン層を分取した。加味逍遙散及び補中益気湯については、分液漏斗中の不溶物をメタノール3 mLに溶解した。水層にヘキサン50 mLを加え、上記と同様の操作を繰り返した後、ヘキサン層を合わせた。水50 mLで洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これを約2 mLに減圧濃縮後、ヘキサンを加え総量5.0 mLにし、試料溶液Bとした。

シリカゲルミニカラムを後に連結したジオールミニカラム(ジオール-シリカゲルミニカラム, あらかじめ、各々ヘキサン10 mLで洗浄)に、試料溶液A又はB 1.0 mLを注入した。ヘキサン15 mLで洗浄後、ジオールミニカラムを取り外し、アセトン/ヘキサン(1:9)20 mLを注入した。カラムから溶出した液を40°C以下で約2 mLに減圧濃縮後、窒素気流下で乾固し、半夏厚朴湯についてはヘキサン1.0 mL, 加味逍遙散及び補中益気湯についてはアセトン1.0 mLに溶解し、煎液上清又は沈殿物の試験溶液とした。



**Scheme 1** Schematic Diagram for Determination of Organophosphorus Pesticides in Decoctions Based on the Three Kampo Formulae and Their Residues

\* "Senji" made by Uchida Wakanyaku Co., Ltd.

煎出残渣にアセトニトリル 80 mL を加え、5 分間ホモジナイズ (5,000 rpm) した。吸引過後、ろ紙上の残留物にアセトニトリル/水 (4 : 1) 50 mL を加え、上記と同様に操作し、ろ液を合わせた。ろ液をあらかじめアセトン 30 mL、水 20 mL で順次洗浄した C18 ミニカラム (再使用時には、アセトン 60 mL、水 20 mL で順次洗浄) に注入し、更にアセトニトリル/水 (4 : 1) 50 mL を注

入した。カラムから溶出した液を合わせ、40°C 以下で減圧濃縮しアセトニトリルを除去した。濃縮液を塩化ナトリウム 5 g を入れた分液漏斗に移し、ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とう後、ヘキサン層を分取した。加味逍遙散及び補中益気湯については、分液漏斗中の不溶物をメタノール 3 mL に溶解後、水層にヘキサン 50 mL を加え、上記と同様の操作を繰り返した。ヘキサン層を合わ

**Table 3** Amounts(g) of Crude Drug Components of Kampo Formulae at a Daily Dose

| Kamishoyosan           |        |     |
|------------------------|--------|-----|
| Atractylodes Rhizome   | ビャクジュツ | 3.0 |
| Bupleurum Root         | サイコ    | 3.0 |
| Japanese Angelica Root | トウキ    | 3.0 |
| Peony Root             | シャクヤク  | 3.0 |
| Poria Sclerotium       | ブクリョウ  | 3.0 |
| Gardenia Fruit         | サンシシ   | 2.0 |
| Moutan Bark            | ボタンビ   | 2.0 |
| Glycyrrhiza            | カンゾウ   | 1.5 |
| Ginger                 | ショウキョウ | 1.0 |
| Mentha Herb            | ハッカ    | 1.0 |
| Hochuekkito            |        |     |
| Astragalus Root        | オウギ    | 4.0 |
| Atractylodes Rhizome   | ビャクジュツ | 4.0 |
| Ginseng                | ニンジン   | 4.0 |
| Japanese Angelica Root | トウキ    | 3.0 |
| Citrus Unshiu Peel     | チンピ    | 2.0 |
| Jujube                 | タイソウ   | 2.0 |
| Glycyrrhiza            | カンゾウ   | 1.5 |
| Bupleurum Root         | サイコ    | 1.0 |
| Cimicifuga Rhizome     | ショウマ   | 0.5 |
| Ginger                 | ショウキョウ | 0.5 |
| Hangekobokuto          |        |     |
| Pinellia Tuber         | ハンゲ    | 6.0 |
| Poria Sclerotium       | ブクリョウ  | 5.0 |
| Magnolia Bark          | コウボク   | 3.0 |
| Perilla Herb           | ソヨウ    | 2.0 |
| Ginger                 | ショウキョウ | 1.0 |

せ、水 50 mL で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これを約 2 mL に減圧濃縮、ヘキサンを加え総量 5.0 mL にした後、試験管ミキサーで激しく攪拌し不溶物を分散させ、半夏厚朴湯用試料溶液 C とした。この液 1.0 mL にヘキサン 3.0 mL を加え、加味逍遙散及び補中益気湯用試料溶液 D とした。試料溶液 C 又は D 1.0 mL を試料溶液 A 及び B と同様に操作し、煎出残渣の試験溶液とした。

Table 4 に示した各種試験溶液うち、加味逍遙散 A の沈殿物、加味逍遙散 B の上清及び沈殿物については、試験溶液をマイクロ試験管に移し替え、窒素気流下で 5 倍濃縮、補中益気湯 A 及び D の上清及び沈殿物については同様に 2.5 倍濃縮、加味逍遙散 B の残渣、半夏厚朴湯 A の上清及び沈殿物については同様に 2 倍濃縮し、定量用試験溶液とした。半夏厚朴湯 B の上清及び残渣試験溶液については、試験溶液をヘキサンで 2 倍希釈し、定量用試験溶液とした。

### 5. 装置及び GC 測定条件

既報<sup>1-3)</sup>に従い、炎光光度型検出器付ガスクロマトグラフ (GC-FPD) 及びガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) による分析を行った。

### 6. 添加回収試験

既に農薬が検出されないことを確認した生薬<sup>1-3)</sup>を使用して漢方処方煎液を調製し、煎液及び煎出残渣にそれぞれ農薬混合標準溶液 1.0 mL を添加後、直ちに抽出操作を開始した。試行数は無添加試料については 1 回、添加試料については 3 回とした。

## 結果及び考察

### 1. 生薬中の残留農薬

これまでに 9 種類の有機リン系農薬が検出 (試行数 1) されたチンピ、ニンジン、カンゾウ、トウキ、ハッカ及びソヨウについて、農薬残留量のバラツキを調べるため、再度分析を行った (試行数 3)。

その結果、チンピ 3 検体、ニンジン、カンゾウ、トウキ及びハッカ各 1 検体、ソヨウ 2 検体から有機リン系農薬が 0.08~1.7 ppm (CV 0.8~34.1%) 検出された (Table 1)。

### 2. 分析方法の検討

煎出後、煎液と残渣に分け、それぞれ生薬単品の場合と同様に操作する方法<sup>1-3)</sup>を検討した。

煎液をそのまま C18 ミニカラムに注入した場合、目詰まりを起し精製が困難であった。そこで、煎液を遠心分離し、上清を吸引る過後、ろ液を C18 ミニカラムに注入することにした。また、上清を吸引る過した際のろ紙上の残留物及び沈殿物についても、農薬の残留が考えられたことから、両方を合わせ、含水アセトニトリルでホモジナイズ抽出することにした。

ヘキサン転溶する際には、塩析効果を高めるため、上清については塩化ナトリウムを 30 g 用いることとした。

また、煎液上清抽出液をヘキサン転溶する際、エマルジョンが発生したため、加味逍遙散及び補中益気湯については少量のメタノールを添加し、半夏厚朴湯については遠心して 2 層に分離することにした。

加味逍遙散及び補中益気湯の沈殿物及び煎出残渣については、ヘキサン転溶する際、分液漏斗中にカンゾウ由来と考えられる褐色の粘稠性不溶物が析出した。カンゾウにおいては、この不溶物に農薬が吸着し回収率低下の原因となる<sup>1)</sup>ことから、カンゾウの場合と同様に、これをメタノール 3 mL に溶解した後、ヘキサン転溶することにした。

加味逍遙散及び補中益気湯の煎出残渣については、試料溶液 C をジオールーシリカゲルミニカラム処理した場合、GC-FPD 分析においてマトリックスの影響と考えられるピーク感度の低下が認められた。そこで、ミニカ

Table 4 Detection Limit and Quantitation Limit of Investigated Organophosphorus Pesticides

| Pesticide         | Decoction              |                           |                      |                         | Residue              |                         |
|-------------------|------------------------|---------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|
|                   | Supernatant            |                           | Precipitate          |                         | Detection limit (ng) | Quantitation limit (ng) |
|                   | Detection limit*1 (ng) | Quantitation limit*2 (ng) | Detection limit (ng) | Quantitation limit (ng) |                      |                         |
| Kamishoyosan A    |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Fenitrothion      | 10                     | 33                        | 2                    | 7                       | 40                   | 130                     |
| Parathion         | 3                      | 10                        | 3                    | 10                      | 15                   | 50                      |
| Kamishoyosan B    |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Fenitrothion      | 2                      | 5                         | 2                    | 7                       | 20                   | 68                      |
| Phenthoate        | 5                      | 16                        | 4                    | 14                      | 62                   | 210                     |
| Hochuekkito A     |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Chlorpyrifos      | 2                      | 7                         | 2                    | 7                       | 23                   | 75                      |
| Fenitrothion      | 3                      | 8                         | 3                    | 8                       | 18                   | 60                      |
| Methidathion      | 15                     | 50                        | 12                   | 40                      | 36                   | 120                     |
| Quinalphos        | 3                      | 10                        | 3                    | 10                      | 32                   | 110                     |
| Hochuekkito B     |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Fenitrothion      | 9                      | 30                        | 9                    | 30                      | 18                   | 60                      |
| Malathion         | 11                     | 35                        | 11                   | 35                      | 25                   | 83                      |
| Parathion-methyl  | 12                     | 39                        | 12                   | 39                      | 33                   | 110                     |
| Hochuekkito C     |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Fenitrothion      | 9                      | 30                        | 9                    | 30                      | 18                   | 60                      |
| Methidathion      | 15                     | 50                        | 12                   | 40                      | 36                   | 120                     |
| Tolclophos-methyl | 10                     | 33                        | 10                   | 33                      | 39                   | 130                     |
| Hochuekkito D     |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Fenitrothion      | 3                      | 8                         | 3                    | 8                       | 18                   | 60                      |
| Malathion         | 11                     | 35                        | 11                   | 35                      | 25                   | 83                      |
| Parathion-methyl  | 12                     | 39                        | 12                   | 39                      | 33                   | 110                     |
| Phenthoate        | 9                      | 27                        | 9                    | 27                      | 87                   | 290                     |
| Tolclophos-methyl | 10                     | 33                        | 10                   | 33                      | 39                   | 130                     |
| Hangekobokuto A   |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Parathion         | 6                      | 20                        | 4                    | 14                      | 8                    | 25                      |
| Hangekobokuto B   |                        |                           |                      |                         |                      |                         |
| Parathion-methyl  | 12                     | 39                        | 12                   | 39                      | 9                    | 30                      |

\*1 Concentration of pesticide at S/N ratio 3; \*2 Concentration of pesticide at S/N ratio 10

ラムによる精製効果が高めるため、試料溶液 C をヘキサンで 4 倍に希釈（試料溶液 D）しミニカラム処理を行ったところ、感度が増加し良好な結果が得られた。なお、ヘキサン抽出液を濃縮し試料溶液 C を調製する際、不溶物が析出したため、試験管ミキサーで激しく攪拌し分散させたものをヘキサンで希釈することにした。

半夏厚朴湯において、試験溶液を調製する際の溶媒にアセトンを用いた場合、不溶物が析出したことから、ヘキサンを用いることとした。

検量線を作成する際には、溶媒の違いによる感度差を防止するため、試験溶液の溶媒と標準溶液の溶媒を同じにするのが一般的である。今回、標準溶液における農薬の感度（面積値）を溶媒の違いにより比較したところ、個々の農薬のアセトン溶液における感度は、ヘキサン溶液における感度の 0.98~1.01 倍（ $n=3$ , CV 0.8~6.5）とほとんど相違は認められなかったことから、標準溶液についてはすべてアセトン溶液を用いることとした。

半夏厚朴湯の試験溶液を DB-1 カラムで GC-SPD 分析する際、試験溶液を繰り返し注入することにより、ピー

ク感度の著しい低下が認められた。GC 分析において、注入口ライナーやカラムの先端に保持された抽出物との反応により、農薬が分解する場合がある<sup>10</sup>。そこで、起爆注入は 2 回以内とし、試験溶液の前後に標準溶液を注入し、感度を確認した後、定量することにした。なお、感度の低下が認められた場合には、DB-1 カラムの先端を約 50 cm 切除又は注入口ライナーをアセトンで洗浄することにより、ほぼ元の感度に回復した。

GC-SPD 分析の際、加味逍遙散 A の沈殿物、加味逍遙散 B の上清、沈殿物及び残渣、半夏厚朴湯 A の上清及び沈殿物、補中益気湯 A 及び D の上清及び沈殿物については、ピーク強度を増加させるため、試験溶液を 2~5 倍に濃縮し、定量用試験溶液とした。半夏厚朴湯 B の上清及び残渣については、検量線をオーバーしたため、試験溶液をヘキサンで 2 倍希釈したものを定量用試験溶液とした。また、定量する際にはマトリックスの影響を考慮し、濃縮した試験溶液については標準添加法、他の試験溶液については絶対検量線法により行うこととした。

漢方処方の違いや試験溶液の濃縮度合いにより、農薬の定量限界及び検出限界が異なったため、漢方処方ごとの農薬の定量限界及び検出限界を Table 4 に示した。

加味逍遙散上清試験溶液 5 倍濃縮液中のフェニトロチオン及びフェントエート、加味逍遙散残渣試験溶液中のパラチオン及びフェニトロチオンについては、ピークが 2 本に分離した (DB-1 カラム)。GC-FPD 分析において、マトリックスの影響により試験溶液のピーク形状が標準溶液と大きく異なる場合においても、ピーク面積法を用いた標準添加法による定量は可能であること<sup>10)</sup>、加味逍遙散残渣における添加回収試験では、ピーク面積法により良好な結果が得られていることから (後述)、定量はピーク面積法により行うことにした。

### 3. 添加回収試験

上清と沈殿物を合わせた煎液における回収率は、加味逍遙散で 96~99% (CV 1.5~1.8%)、補中益気湯で 88~103% (CV 3.7~8.4%)、半夏厚朴湯で 97~101% (CV 4.9~5.7%) と良好な結果が得られた (Table 2)。それぞれの内訳を見ると、加味逍遙散上清で 68~71%、沈殿物で 25~29%、補中益気湯上清で 48~94%、沈殿物で 5~42%、半夏厚朴湯上清で 68~83%、沈殿物で 18~29% と沈殿物からも農薬が検出されたが、上清における値は沈殿物における値をいずれも上回った。

煎出残渣における回収率も、加味逍遙散で 80~87% (CV 4.7~7.4%)、補中益気湯で 89~105% (CV 2.0~12.1%)、半夏厚朴湯で 84~85% (CV 9.1~12.4%) といずれも 80% を上回り良好な結果が得られた。加味逍遙散及び半夏厚朴湯の残渣については、補中益気湯の場合と比較し低値を示したが、これらはマトリックスの影響によるものと考えられた。

### 4. 有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行

9 種類の有機リン系農薬が検出された生薬 6 種 (チンピ、ニンジン、カンゾウ、トウキ、ハッカ及びソヨウ) を使用し、加味逍遙散 2 種、補中益気湯 4 種及び半夏厚朴湯 2 種を調製し、農薬の煎液への移行量及び移行率、煎出残渣における残存量及び残存率を煎出前の検出量と比較し、Table 5 に示した。

#### 4.1 加味逍遙散

煎液上清からハッカ中のパラチオンが痕跡量、カンゾウ及びトウキ中のフェニトロチオンが最大 49 ng (CV 25.4%) 及びトウキ中のフェントエートが 25 ng (CV 23.5%)、沈殿物からそれぞれ痕跡量、最大 16 ng (CV 30.7%) 及び 19 ng (CV 26.4%) 検出された。煎液への移行率は

パラチオンで 25% 未満、フェントエートで 10%、フェニトロチオンで 6~9% といずれも低値を示した。

煎出残渣からはパラチオンが痕跡量、フェニトロチオンが最大 220 ng (CV 16.3%) 及びフェントエートが 360 ng (CV 36.9%) 検出された。残存率はフェントエートで 80% と最も高く、次いでパラチオン (63% 未満)、フェニトロチオン (28~32%) の順であった。

#### 4.2 補中益気湯

煎液上清からチンピ中のキナルホスが 35 ng (CV 28.7%)、チンピ中のパラチオンメチル及びトウキ中のフェントエートが痕跡量、チンピ、カンゾウ及びトウキ中のフェニトロチオンが最大 130 ng (CV 15.7%)、チンピ中のマラチオンが最大 52 ng (CV 9.2%)、チンピ中のメチダチオンが痕跡量、沈殿物からフェニトロチオンが最大 34 ng (CV 6.3%) 検出された。煎液への移行率はマラチオンで 26~31% と最も高く、次いでフェニトロチオン (9~17%)、パラチオンメチル (17% 未満)、キナルホス (13%)、フェントエート (6% 未満)、メチダチオン (5% 未満)、クロルピリホス及びトルクロホスメチル (共に不検出) の順であった。フェニトロチオン及びフェントエートについては加味逍遙散からも検出されているが、いずれも 17% 以下と低値を示した。

煎出残渣からはキナルホスが 290 ng (CV 21.9%)、クロルピリホスが 100 ng (CV 19.1%)、トルクロホスメチルが最大 370 ng (CV 18.2%)、パラチオンメチル、マラチオン及びメチダチオンが痕跡量、フェニトロチオンが最大 390 ng (CV 21.5%)、フェントエートが 330 ng (CV 32.3%) 検出された。残存率はクロルピリホス及びキナルホスでそれぞれ 100% 及び 104% と最も高く、次いでフェントエート (73%)、トルクロホスメチル (25~57%)、フェニトロチオン (33~50%)、マラチオン (49% 未満)、パラチオンメチル (46% 未満)、メチダチオン (11% 未満) の順であった。

補中益気湯 C 及び D の残渣におけるトルクロホスメチルの残存率は、それぞれ 25% 及び 57% と大きく異なる値を示した。また、トルクロホスメチル及びフェントエートの CV はそれぞれ 18.2~43.7% 及び 32.3% と高値を示した。トルクロホスメチルが検出されたニンジン及びフェントエートが検出されたトウキについては根部を刻んだ生薬を用いていることから、これらの原因としては、微量測定であることに加え、刻み生薬における農薬残留量のバラツキが考えられた。

#### 4.3 半夏厚朴湯

煎液上清からソヨウ中のパラチオン及びパラチオンメ

Table 5 Migration of Organophosphorus Pesticides to Decoctions Based on Kampo Formula

n=3

| Pesticide         | Crude drugs*1                | Before decoction<br>ng (CV*2) | Decoction    |              |              |              | Residue       |              |
|-------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
|                   |                              |                               | Supernatant  | Precipitate  | Total*3      |              | ng (CV)       | %*5          |
|                   |                              |                               | ng (CV)      | ng (CV)      | ng           | %*4          |               |              |
| Kamishoyosan A    |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Fenitrothion      | Glycyrrhiza No.1             | 690 (1.2)                     | 49(25.4)     | 16(30.7)     | 65           | 9            | 220(16.3)     | 32           |
| Parathion         | Mentha Herb No.1             | 80(17.6)                      | less than 10 | less than 10 | less than 20 | less than 25 | less than 50  | less than 63 |
| Kamishoyosan B    |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Fenitrothion      | Japanese Angelica R. *6 No.1 | 360(21.4)                     | 14(39.7)     | 7(36.5)      | 21           | 6            | 99(31.8)      | 28           |
| Phenthoate        | Japanese Angelica R. No.1    | 450(29.7)                     | 25(23.5)     | 19(26.4)     | 44           | 10           | 360(36.9)     | 80           |
| Hochuekkito A     |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Chlorpyrifos      | Citrus Unshiu Peel No.1      | 100(18.1)                     | ND*7,8       | ND*8         | ND           | —            | 100(19.1)     | 100          |
| Fenitrothion      | Citrus Unshiu Peel No.1      | 120(34.1)                     | 11(27.8)     | ND*10        | 11           | 9            | less than 60  | less than 50 |
| Methidathion      | Citrus Unshiu Peel No.1      | 1100 (7.3)                    | less than 50 | ND*11        | less than 50 | less than 5  | less than 120 | less than 11 |
| Quinalphos        | Citrus Unshiu Peel No.1      | 280(11.8)                     | 35(28.7)     | ND*10        | 35           | 13           | 290(21.9)     | 104          |
| Hochuekkito B     |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Fenitrothion      | Glycyrrhiza No.1             | 690 (1.2)                     | 52 (9.4)     | less than 30 | less than 82 | less than 12 | 290(18.9)     | 42           |
| Malathion         | Citrus Unshiu Peel No.2      | 170(12.4)                     | 45 (9.4)     | ND*12        | 45           | 26           | less than 83  | less than 49 |
| Parathion-methyl  | Citrus Unshiu Peel No.2      | 240(23.1)                     | less than 39 | ND*11        | less than 39 | less than 16 | less than 110 | less than 46 |
| Hochuekkito C     |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Fenitrothion      | Citrus Unshiu Peel No.3      | 1200 (0.8)                    | 130(15.7)    | 34 (6.3)     | 164          | 14           | 390(21.5)     | 33           |
| Methidathion      | Citrus Unshiu Peel No.3      | 1200 (9.5)                    | less than 50 | ND*11        | less than 50 | less than 4  | less than 120 | less than 10 |
| Tolclophos-methyl | Ginseng No.1                 | 650 (7.1)                     | ND*9         | ND*9         | ND           | —            | 160(43.7)     | 25           |
| Hochuekkito D     |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Fenitrothion      | Japanese Angelica R. No.1    | 360(21.4)                     | 47(25.0)     | 13(19.5)     | 60           | 17           | 180 (5.3)     | 50           |
| Malathion         | Citrus Unshiu Peel No.2      | 170(12.4)                     | 52 (9.2)     | ND*12        | 52           | 31           | less than 83  | less than 49 |
| Parathion-methyl  | Citrus Unshiu Peel No.2      | 240(23.1)                     | less than 39 | ND*11        | less than 39 | less than 16 | less than 110 | less than 46 |
| Phenthoate        | Japanese Angelica R. No.1    | 450(29.7)                     | less than 27 | ND*13        | less than 27 | less than 6  | 330(32.3)     | 73           |
| Tolclophos-methyl | Ginseng No.1                 | 650 (7.1)                     | ND*9         | ND*9         | ND           | —            | 370(18.2)     | 57           |
| Hangekobokuto A   |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Parathion         | Perilla Herb No.1            | 240 (7.5)                     | 29(17.8)     | 17(21.7)     | 46           | 19           | 100(11.6)     | 42           |
| Hangekobokuto B   |                              |                               |              |              |              |              |               |              |
| Parathion-methyl  | Perilla Herb No.2            | 3400 (9.1)                    | 790(18.4)    | 170(15.8)    | 960          | 28           | 770(11.1)     | 23           |

\*1 Crude drugs in which pesticides were detected; \*2 Coefficient of variation; \*3 Sum of the detected amount; \*4 Migration rate; \*5 Residual rate; \*6 Japanese Angelica Root prepared from *Angelica acutiloba* Kitagawa, Yamato; \*7 not detected; \*8 less than 2 ng; \*9 less than 10 ng; \*10 less than 3 ng; \*11 less than 12 ng; \*12 less than 11 ng; \*13 less than 9 ng.

〔佐藤ら：生薬に含まれる有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行〕

チルがそれぞれ 29 ng (CV 17.8%) 及び 790 ng (CV 18.4%), 沈殿物からそれぞれ 17 ng (CV 21.7%) 及び 170 ng (CV 15.8%) 検出された。煎液への移行率はパラチオンメチルで 28%, パラチオンで 19%であった。パラチオンメチルについては補中益気湯からも検出されているが、半夏厚朴湯における値の方が高値を示した。

煎出残渣からはパラチオンが 100 ng (CV 11.6%), パラチオンメチルが 770 ng (CV 11.1%) 検出された。残存率はパラチオンで 42%, パラチオンメチルで 23%であった。

#### 4.4 単味煎液との比較

有機リン系農薬が検出されたチンピのみを煎じた場合、クロルピリホス及びキナルホスの大部分は残渣中に残存し、煎液にはほとんど移行しないこと<sup>8)</sup>、フェニトロチオン及びメチダチオンについては、残渣中の残存率(量)が各々40%及び痕跡量と低値を示すが、煎液からは検出されないこと<sup>8)</sup>、パラチオンメチル及びマラチオンについては、煎液に各々9%及び50%移行すること<sup>12)</sup>が判明している。補中益気湯におけるチンピ中の農薬については、チンピのみを煎じた場合とほぼ同様の傾向を示した。

また、ソヨウのみを煎じた場合、ソヨウ中のパラチオン及びパラチオンメチルの大部分は煎出残渣中に残存し、煎液にはほとんど移行しないことが判明している<sup>8)</sup>。半夏厚朴湯の場合、煎液に各々19%及び28%移行したことから、他の生薬に由来する成分の影響により、ソヨウ

に残存した農薬が煎液にも移行したものと考えられた。

#### 4.5 煎出残渣中の残存率と Kow・水溶解度

茶中に残留する農薬の茶汤中への移行率<sup>13~15)</sup>及び野菜をゆでた場合の農薬の除去率<sup>16~18)</sup>又はゆで水中への移行率<sup>14)</sup>については、水溶解度の高い農薬は高値を示すこと、ゆでた後のホウレンソウ中の農薬残存率は水溶解度ではなく Kow (オクタノール・水分配係数) に依存し、log Kow が 6.6 以上の場合、農薬はゆで水に移行せずにホウレンソウ中に残存し、揮散や分解もほとんど起こらないことが報告されている<sup>14)</sup>。そこで、生薬から検出された農薬の水溶解度及び log Kow を Table 6 に示した。補中益気湯において、残渣中の残存率が 100~104%を示したクロルピリホス及びキナルホスの水溶解度及び log Kow はそれぞれ 1.4~22 mg/L 及び 4.44~4.7 であった。一方、残存率が 50%以下であったフェニトロチオン、マラチオン、メチダチオン及びパラチオンメチルの水溶解度は高値 (38~200 mg/L) を示し、log Kow は低値 (2.2~3.5) を示した。水溶解度、log Kow が共にキナルホスの値よりも低値 (10 mg/L, 3.69) を示したフェントエートについては、残渣中の残存率は 73%とキナルホスの値よりも低値を示した。水溶解度が低値 (1.10 mg/L) を示し、log Kow が高値 (4.56) を示したトルクロホスメチルについては、残渣中の残存率は 57%以下とキナルホスにおける残存率よりも低値を示した。これらの結果から、補中益気湯残渣における有機リン系農薬の残存

Table 6 Physical Properties of Organophosphorus Pesticides

| Pesticide           | Water solubility<br>mg/L <sup>*1</sup> | log K <sub>ow</sub> <sup>*2,3</sup> |
|---------------------|--|-------------------------------------|
| Chlorpyrifos        | 1.4 <sup>*2</sup>                      | 4.7                                 |
| Fenitrothion (MEP)  | 38 <sup>*4</sup>                       | 3.5                                 |
| Malathion           | 145 <sup>*2</sup>                      | 2.75                                |
| Methidathion (DMTP) | 200 <sup>*2</sup>                      | 2.2                                 |
| Parathion           | 24 <sup>*5</sup>                       | 3.83                                |
| Parathion-methyl    | 55 <sup>*5</sup>                       | 3.0                                 |
| Phenthoate (PAP)    | 10 <sup>*2</sup>                       | 3.69                                |
| Quinalphos          | 22 <sup>*4,6</sup>                     | 4.44                                |
| Tolclophos-methyl   | 1.10 <sup>*2</sup>                     | 4.56                                |

\*1 Water solubility at 25°C except for quinalphos.

\*2 Tomlin C. D. S., Ed. : The Pesticide Manual 12th Ed., Surrey, British Crop Protection Council, 2000.

\*3 Partition coefficient of octanol/water.

\*4 National Institute for Environmental Studies (Independent Administrative Institution) : Chemicals Database WebKis-Plus, Pesticide Database ([http://w-chemdb.nies.go.jp/n\\_oyaku/n\\_blank.htm](http://w-chemdb.nies.go.jp/n_oyaku/n_blank.htm)).

\*5 Uesugi Y., Ueji M., Koshioka M., ed. : Pesticide Data Book 3rd Ed., Tokyo, Soft Science Publications, 1997.

\*6 Water solubility at 24°C.



量は、トルクロホスメチルを除き、水溶解度よりも log Kow に関係するものと考えられた。

#### 4.6 農薬の消失

煎液及び煎出残渣から検出された農薬量を合わせ、煎出前の検出量と比較した場合、加味逍遙散ではパラチオン (88%未満) 及びフェントエート (90%) 以外 41% 以下、補中益気湯ではクロルピリホス (100%) 及びキナルホス (116%) 以外 79% 未満、半夏厚朴湯では 61% 以下といずれも 100% を下回った。

添加回収率で補正した場合においても、加味逍遙散ではパラチオン及びフェントエート以外 46% 以下、補中益気湯ではクロルピリホス及びキナルホス以外 84% 未満、半夏厚朴湯では 69% 以下であることから、100% を下回った原因としては、煎液調製時における加水分解、有機塩素系農薬の場合<sup>19-21)</sup> と同様に揮散などが考えられた。トルクロホスメチル、マラチオン及びパラチオンメチルは酸で分解、パラチオンは酸性 (pH 1~6) でゆっくりと分解することが報告されている<sup>22)</sup>。今回調製した漢方処方煎液の pH は、加味逍遙散で 4.8、補中益気湯で 5.0、半夏厚朴湯で 5.3 であることから、これらの農薬については分解により消失したことが考えられた。

また、水に農薬を添加し、約半量に加熱濃縮した場合、フェントロチオン、マラチオン、メチダチオン、パラチオン、パラチオンメチル、フェントエート、キナルホス及びトルクロホスメチルの回収率は、揮散などの影響により、それぞれ 35%、46%、13%、27%、46%、17%、36% 及び不検出であることが判明している<sup>9)</sup>。したがって、煎出残渣に残存した以外の農薬については、煎液に移行後、分解や揮散などによる消失が考えられ、煎液における検出量は低値を示したものと考えられた。

今回、加味逍遙散、補中益気湯及び半夏厚朴湯における有機リン系農薬の移行について検討した結果、煎液への移行率は加味逍遙散で 25% 未満、補中益気湯で最大 31%、半夏厚朴湯で最大 28% であった。補中益気湯におけるチンピ中のクロルピリホス及びニンジン中のトルクロホスメチルについては煎液からは検出されなかった。

漢方処方エキスは水で煎じた後、遠心分離などにより固液分離し、得られた浸出液を減圧濃縮後、濃縮液を凍結乾燥法や噴霧乾燥 (スプレードライ法) などにより蒸発乾燥して製せられることが多い<sup>23)</sup>。遠心分離の際、沈殿物中の農薬は除去されること、スプレードライなどの乾燥工程において、農薬が一部除去される可能性もあることから、最終エキスにおける農薬含量は煎液から検出された量よりも更に低くなると予想された。そこで、我々は上記半夏厚朴湯を凍結乾燥又はスプレードライし、

乾燥エキスについて農薬の定量を行ったところ、最終エキスにおける農薬含量は更に低くなることが明らかとなった<sup>24)</sup>。その詳細については稿を改める。

## 結 論

漢方処方煎液への農薬の移行について明らかにするため、9 種類の有機リン系農薬が検出された生薬 6 種 (チンピ、ニンジン、カンゾウ、トウキ、ハッカ及びソヨウ) を使用し、加味逍遙散、補中益気湯及び半夏厚朴湯を調製し、煎液への農薬の移行について検討した。その結果、移行率は最大でも補中益気湯におけるチンピ中のマラチオンの 31% であり、マラチオン、パラチオン及びパラチオンメチルを除き 20% 以下で、多くの農薬は抽出残渣に残存するか分解や揮散などにより消失することが明らかとなった。また、最も多数の農薬について検討した補中益気湯残渣における有機リン系農薬の残存量は、トルクロホスメチルを除き、水溶解度よりも log Kow に関係するものと考えられた。

## 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) により行われたもので、ここに感謝の意を記す。

## 文 献

- 1) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 合田幸広: 医薬品研究, **36**(2), 83-97 (2005).
- 2) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 鎌倉浩之, 合田幸広: 医薬品研究, **39**(4), 203-222 (2008).
- 3) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 鎌倉浩之, 合田幸広: 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, **41**(4), 324-337 (2010).
- 4) 厚生労働省: 第十五改正日本薬局方, 2006, p. 1191-1193, 1193-1196, 1215-1217, 1238-1239, 1266-1269, 1276-1277.
- 5) 厚生労働省: 第十五改正日本薬局方第一追補, 2007, p. 140-142, 150-151.
- 6) 厚生労働省: 第十五改正日本薬局方第二追補, 2009, p. 164-167, 168-171, 173-176.
- 7) 合田幸広: 医薬品研究, **37**(11), 801-813 (2006).
- 8) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 合田幸広: 医薬品研究, **37**(4), 245-250 (2006).
- 9) 日本薬剤師会編: 改訂 4 版 漢方業務指針, 東京, じほう, 1997, p. 49-50, 214-215, 235-236.
- 10) Liao, W., Joe, T., Cusick, W. G.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74**(3), 554-565 (1991).
- 11) 佐藤正幸, 内山康裕, 宇野豊子, 新山和人: 道衛研所報, **52**, 1-11 (2002).
- 12) 塩田寛子, 浜野朋子, 中嶋順一, 下村壽一, 末次大作, 安田一郎: 東京健安研年報, **55**, 43-47 (2004).
- 13) 永山敏廣, 真木俊夫, 観 公子, 飯田真美, 田村行弘, 二島太一郎: 日本農薬学会誌, **14**, 39-45 (1989).

- 14) Nagayama, T.: *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2388-2393 (1996).
- 15) Zongmao, C. and Haibin, W.: *Pestic. Sci.*, **23**, 109-118 (1988).
- 16) 杉林幸子, 濱田郁子, 三島郁子, 吉川典子, 片岡寿理, 川口恵代, 藤本祐子, 扇間昌規, 伊藤誉志男: 日食化誌, **2**(2), 97-101 (1995).
- 17) 吉川典子, 杉林幸子, 片岡寿理, 川口恵代, 藤本祐子, 中西裕子, 西田真琴, 三島映子, 森山恵子, 扇間昌規, 伊藤誉志男: 日食化誌, **3**(1), 57-63 (1996).
- 18) 吉川典子, 開原亜樹子, 中西裕子, 西田真琴, 三島映子, 森山恵子, 扇間昌規, 伊藤誉志男: 日食化誌, **5**(1), 14-18 (1998).
- 19) 野口 衛, 金田吉男, 持田研秀: 生薬学雑誌, **26**(1), 19-24 (1972).
- 20) 吉岡直樹, 秋山由美, 三橋隆夫, 畑中久勝, 辻 正彦, 松下純雄: 医薬品研究, **31**(4), 225-231 (2000).
- 21) 北澤英徳, 足立伊佐雄: 医薬ジャーナル, **36**(2), 758-761 (2000).
- 22) Tomlin C. D. S., ed.: *The Pesticide Manual 12th Ed.*, Surrey, British Crop Protection Council, 2000, p. 575-576, 706-708, 708-709, 911-912.
- 23) 日本薬局方解説書編集委員会編: 第十五改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2006, p. A-39-A-42.
- 24) 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「生薬及び漢方処方の有用性評価手法・安全性確保と国際調和に関する研究」平成20年度 総括・分担研究報告書 (H18-医薬一般-005) (研究代表者 合田幸広).

## 漢方処方煎液の乾燥工程における残留有機リン系農薬の消長

佐藤 正幸\*1, 袴塚 高志\*2, 姉帯 正樹\*1, 鎌倉 浩之\*2, 合田 幸広\*2

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス

Vol. 41, No. 10 別刷 (2010年)

財団法人 日本公定書協会

## 漢方処方煎液の乾燥工程における残留有機リン系農薬の消長

佐藤 正幸\*<sup>1</sup>, 袴塚 高志\*<sup>2</sup>, 姉帯 正樹\*<sup>1</sup>, 鎌倉 浩之\*<sup>2</sup>, 合田 幸広\*<sup>2</sup>

(受付:平成22年5月10日, 受理:平成22年8月13日)

Fate of Residual Organophosphorus Pesticides in Decoction  
Based on a Kampo Formula during DryingMasayuki SATO\*<sup>1</sup>, Takashi HAKAMATSUKA\*<sup>2</sup>, Masaki ANETAI\*<sup>1</sup>,  
Hiroyuki KAMAKURA\*<sup>2</sup> and Yukihiko GODA\*<sup>2</sup>

## Summary

During quality evaluation of crude drugs, we have sometimes detected residual organophosphorus pesticides in them. In our previous study, we prepared 3 Kampo decoctions using crude drugs contaminated with organophosphorus pesticides and quantified the concentrations of the pesticides in the decoctions to evaluate the migration rates from crude drugs to decoctions. The migration rates were less than 28% for Hangekobokuto decoction.

In Japan, about 90% of crude drugs are used as raw materials for Kampo dry extracts prepared from industrial decoctions. Therefore, in the present work, we investigated the fate of organophosphorus pesticides in a decoction based on a Kampo formula during the drying process. In the present work, we first prepared a decoction of Hangekobokuto by utilizing Perilla Herb contaminated with parathion and parathion-methyl, and then freeze-dried or spray-dried the supernatant after centrifugation. The pesticide residues in the dried extract and the removed herbal residue were measured by GC-FPD.

The organophosphorus pesticide contents in the freeze-dried and spray-dried extracts were 43% (for both parathion and parathion-methyl) and less than 10% (parathion: 6.7%, parathion-methyl: 8.9%) of those in the decoction, respectively. On the other hand, 36% of parathion and 16% of parathion-methyl remained in the herbal residue obtained by centrifugation. These data suggest that substantial amounts of pesticides in the decoction were decomposed or vaporized during the drying process. It was calculated that more than 85% of residual organophosphorus pesticides contained in the original crude drug, Perilla Herb, is removed during the decoction and drying process. The final pesticide residue levels in the freeze-dried and spray-dried extracts were 10~14% and 2~3% of those in Perilla Herb, respectively.

## Key words

Decoction, Drying process, Hangekobokuto, Residual Organophosphorus Pesticide, Parathion, Parathion-methyl, Perilla Herb

## 緒言

我々は国内で入手した生薬の品質評価に関する研究を行っており、これまでに14品目の生薬から13種類の有

機リン系農薬を検出した<sup>1-3)</sup>。

生薬の85~90%は漢方処方エキスの形で流通している。漢方処方エキスは水で煎じた後、遠心分離などにより固液分離し、得られた浸出液を減圧濃縮後、濃縮液を

\*<sup>1</sup> 北海道立衛生研究所 札幌市北区北19条西12丁目 (〒060-0819)  
Hokkaido Institute of Public Health, Kita-19, Nishi-12, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0819, Japan

\*<sup>2</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀1-18-1 (〒158-8501)  
National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

凍結乾燥法や噴霧乾燥（スプレードライ）法などにより蒸発乾燥して製せられることが多い<sup>4)</sup>。

農薬の多くは脂溶性であり、水への移行率は低いと考えられるが、生薬中に含まれる有機リン系農薬の煎液への移行について検討した例は少なく<sup>5-7)</sup>、漢方処方煎液への農薬の移行については未だ不明な点が多い。我々は漢方処方煎液への農薬の移行について明らかにするため、9種類の有機リン系農薬が検出された生薬6種を使用し、エキスが第十五改正日本薬局方（日局十五）<sup>8)</sup>に記載されている加味逍遙散及び補中益気湯、日局十五第一追補<sup>9)</sup>に記載されている半夏厚朴湯を調製し、煎液への農薬の移行について検討した。その結果、煎液への移行率は加味逍遙散で23%未満、補中益気湯で最大31%、半夏厚朴湯で最大28%であることを明らかにした<sup>7)</sup>。

煎液中の農薬については、遠心沈殿物（沈殿物）からも検出されること<sup>7)</sup>、スプレードライなどの乾燥工程において、揮発性農薬などが除去される可能性もあることから、最終エキスにおける農薬含量は、更に低くなることが予想された。

そこで今回、漢方処方煎液の乾燥工程における有機リン系農薬の消長について明らかにするため、ソヨウ中の農薬（パラチオン及びパラチオンメチル）が移行した上記の半夏厚朴湯を遠心分離後、凍結乾燥又はスプレードライし、得られた乾燥エキス及び沈殿物中の農薬を定量した。

## 実験方法

### 1. 試料

前報<sup>7)</sup>において半夏厚朴湯を調製する際に用いた生薬を使用した。

### 2. 試薬

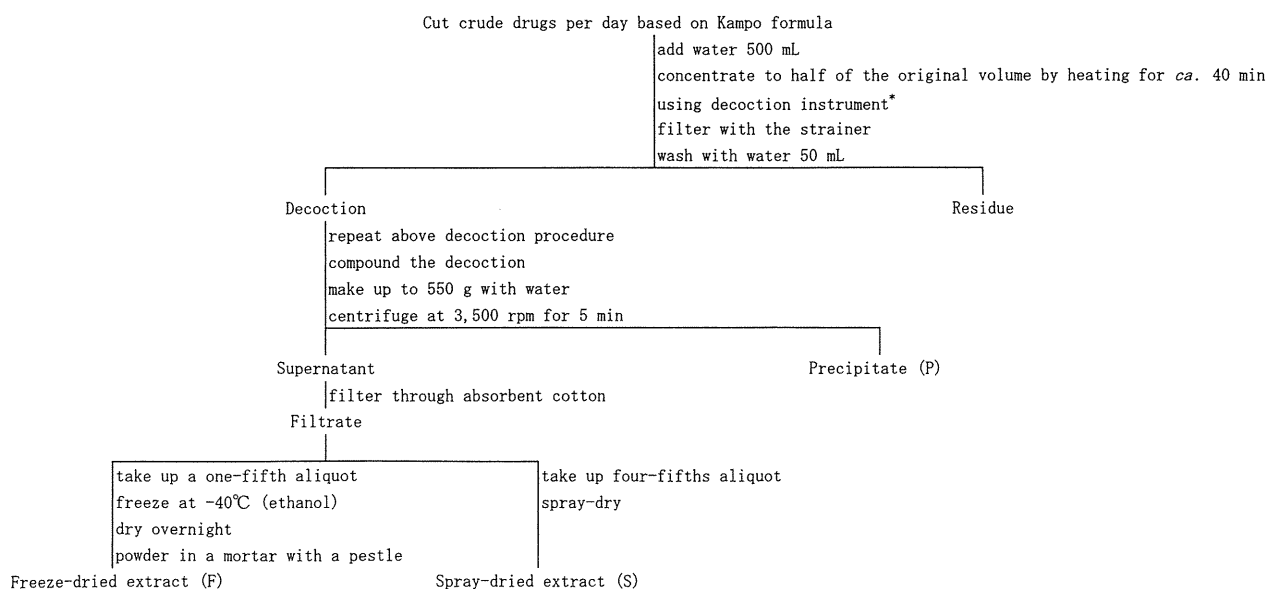
パラチオン及びパラチオンメチルの標準品は、和光純薬工業(株)製の標準品を用いた。アセトン、アセトニトリル及び*n*-ヘキサン（ヘキサン）は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を、エタノール（1級）、塩化ナトリウム（特級）、無水硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB試験用）は和光純薬工業(株)製を用いた。水は蒸留脱イオン水を用いた。Sep-Pak Vac tC<sub>18</sub> カートリッジ（5g/20 cc, C18ミニカラム）、Sep-Pak Plus Silica カートリッジ（690 mg, シリカゲルミニカラム）及びSep-Pak Vac Diol カートリッジ（1 cc, ジオールミニカラム）はWaters社製を用いた。

### 3. 農薬混合標準溶液

既報<sup>7)</sup>に従い、農薬混合標準溶液を調製した。

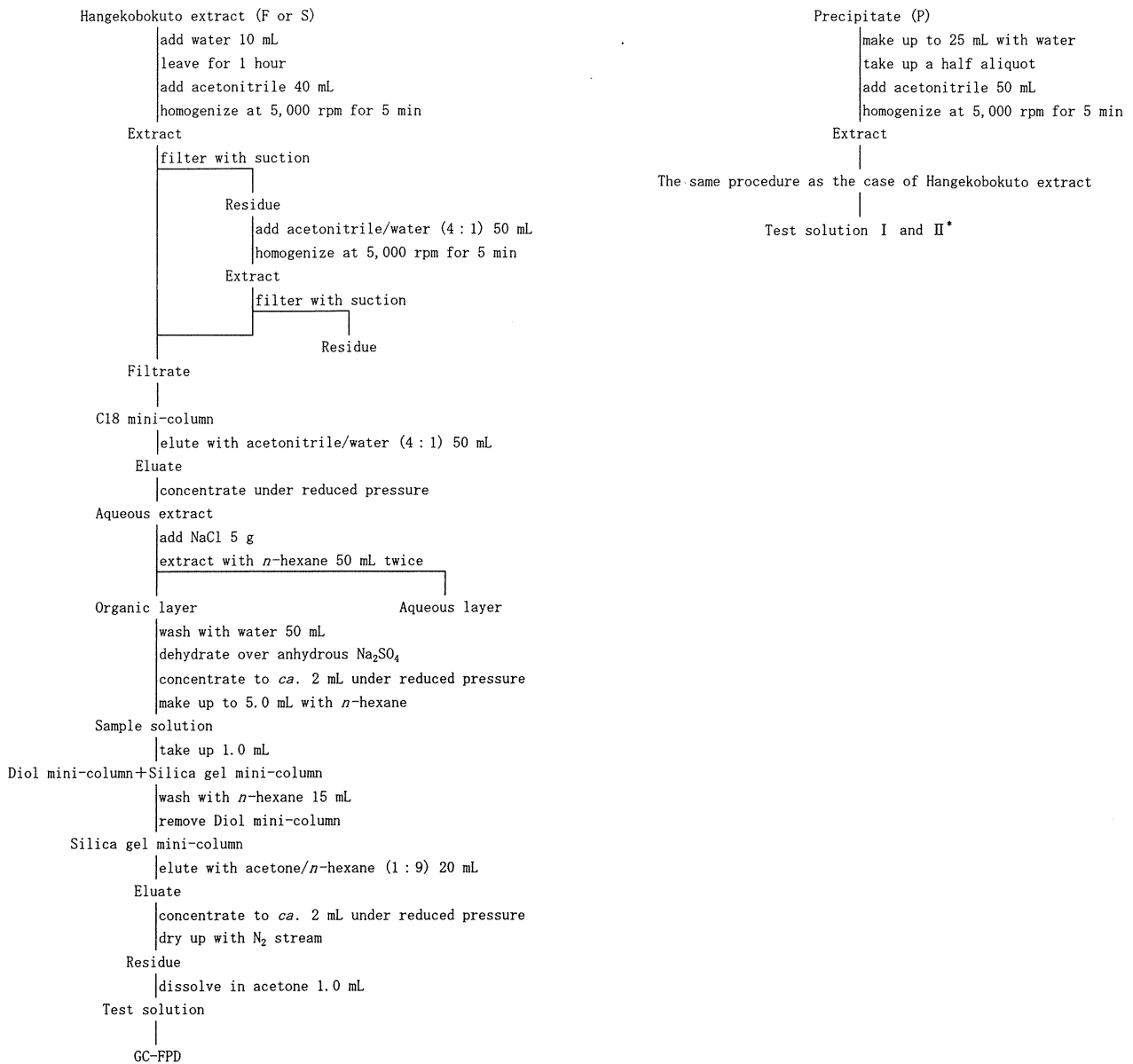
### 4. 分析方法（Scheme 1, 2）

既報<sup>7)</sup>に従い、半夏厚朴湯1日量の生薬<sup>10)</sup>と水500 mLを自動煎じ器（(株)ウチダ和漢薬製「煎治」、沸騰調節つまみ「強」）に入れ、約40分間、約半量まで煎じつめた後、こした。煎出残渣を水50 mLで洗浄し、洗浄液と



Scheme 1 Procedure for the Preparation of Hangekobokuto Extract

\* "Senji" made by Uchida Wakanyaku Co., Ltd.



**Scheme 2** Schematic Diagram for Determination of Organophosphorus Pesticides in Hangekobokuto Extract and Precipitate  
\* Test solution II was obtained from residual half aliquot.

煎液を合わせた。上記の煎出操作を再度繰り返した後、煎液を合わせた。水を加え 550 g とした後、煎液を 2~10°C で 1~2 日保存した後、以下の操作を行った。

煎液を 5 分間遠心分離 (KUBOTA 6500, 3,500 rpm) 後、上清を綿栓ろ過した。重量を測定した 500 mL のナス型フラスコにろ液の 1/5 量を採取し、-40°C のクールバス (エタノール) にて回転させながら凍結した後、直ちに凍結乾燥機にセットした。ポンプで一晩吸引後、残った乾燥エキス量 (回収前凍結乾燥エキス量) を算出した。乾燥エキスをスパテルで掻き出した後、乳鉢で軽く粉末化し、バイアル瓶に移してから、回収凍結乾燥エキス (F) 量を算出した。

ろ液の 4/5 量をスプレードライヤーに導入後、回収瓶及びサイクロン部に残った乾燥エキス量 (回収前スプレードライエクス量) を算出した。乾燥エキスをスパテル及び絵筆で掻き落とした後、バイアル瓶に移し、回収スプレードライエクス量を算出した。得られた乾燥エキス (S) 及び沈殿物 (P) について以下の操作を行った (以上, Scheme 1)。

乾燥エキス (F 又は S) に水 10 mL を加え、1 時間放置後、アセトニトリル 40 mL を加え、5 分間ホモジナイズ (5,000 rpm) した。吸引ろ過後、ろ紙上の残留物にアセトニトリル/水 (4:1) 50 mL を加え、上記と同様に操作し、ろ液を合わせた。

ろ液をあらかじめアセトン 30 mL、水 20 mL で順次洗浄した C18 ミニカラムに注入し、更にアセトニトリル/水 (4:1) 50 mL を注入した。カラムから溶出した液を合わせ、40°C以下で減圧濃縮しアセトニトリルを除去した。濃縮液を塩化ナトリウム 5 g を入れた分液漏斗に移し、ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とう後、ヘキサン層を分取した。水層にヘキサン 50 mL を加え、上記と同様の操作を繰り返した。ヘキサン層を合わせ、水 50 mL で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これを約 2 mL に減圧濃縮後、ヘキサンを加え総量 5.0 mL にし、試料溶液とした。

シリカゲルミニカラムを後に連結したジオールミニカラム (ジオール-シリカゲルミニカラム、あらかじめ、各々ヘキサン 10 mL で洗浄) に、試料溶液 1.0 mL を注入した。ヘキサン 15 mL で洗浄後、ジオールミニカラムを取り外し、アセトン/ヘキサン (1:9) 20 mL を注入した。カラムから溶出した液を 40°C以下で約 2 mL に減圧濃縮後、窒素気流下で乾固し、アセトン 1.0 mL に溶解し、乾燥エキスの試験溶液とした。

沈殿物 (P) に水を加え 25 mL とした後、振り混ぜ、懸濁液の半量を採取した。アセトニトリル 50 mL を加え、5 分間ホモジナイズ (5,000 rpm) 後、乾燥エキスと同様に操作し、沈殿物の試験溶液 I とした。残りの懸濁液についても同様に操作し、沈殿物の試験溶液 II とした。試験溶液 I 及び II の定量値を合算し、沈殿物中の農薬量とした (以上、Scheme 2)。

GC-SPD 分析する際には、感度を安定化させるため、あらかじめ試験溶液を 3 回起爆注入し、標準添加法により定量した。

## 5. 装置及び GC 測定条件

### 5.1 炎光光度型検出器付ガスクロマトグラフ (GC-SPD)

既報<sup>7)</sup> に従い分析した。

### 5.2 凍結乾燥

凍結乾燥機：東京理化器械(株)製 FREEZE DRYER FDU-830；凍結乾燥機ポンプ：アルバック機工(株)製 ULVAC GCD-135 XA

### 5.3 スプレードライ

スプレードライヤー：東京理化器械(株)製スプレードライヤー SD-1000；スプレードライヤーコンプレッサー：日立工機(株)製サイレントエアコンプレッサ SC820；入口温度：150°C；出口温度：85~90°C；乾燥空気量 (熱風量)：0.68~0.70 m<sup>3</sup>/min；噴霧圧力：100 kPa；送液速度：

ポンプ speed 目盛 3.2 (約 600 mL/h)

## 結 果

### 1. 半夏厚朴湯乾燥エキスの収量

パラチオンが検出されたソヨウを用いた半夏厚朴湯 A 及びパラチオンメチルが検出されたソヨウを用いた半夏厚朴湯 B の凍結乾燥及びスプレードライエキスについて、容器からの回収時のロスを調べるため、回収前後の収量を比較した。凍結乾燥エキスについては、回収前 4.1~4.2 g、回収後 4.2 g とほぼ同じ値を示した。一方、スプレードライエキスについては、回収前 2.5 g、回収後 2.1 g と収量が減少した (Table 1)。

### 2. 乾燥エキス及び沈殿物中の有機リン系農薬

凍結乾燥エキス (F)、スプレードライエキス (S) 及び沈殿物 (P) から検出された農薬量を煎液から検出された農薬量と比較し、Table 2 に示した。なお、凍結乾燥及びスプレードライエキスから検出された農薬量については、上清全量 (550 g-沈殿物量) を乾燥した場合の値に換算した。

パラチオンは凍結乾燥エキスから 40 ng、スプレードライエキスから 6.2 ng、沈殿物から 33 ng、パラチオンメチルは凍結乾燥エキスから 830 ng、スプレードライエキスから 170 ng、沈殿物から 310 ng 検出された。

凍結乾燥及びスプレードライエキス中の農薬の濃度は、各々パラチオンで 9.3 ng/g 及び 3.0 ng/g、パラチオンメチルで 200 ng/g 及び 76 ng/g であった (Table 3)。

Table 1 Amount of Hangekobokuto Dry Extracts

| Extract           | n=3                           |                            |
|-------------------|-------------------------------|----------------------------|
|                   | Before recovery*1<br>g (CV*3) | After recovery*2<br>g (CV) |
| Hangekobokuto A*4 |                               |                            |
| freeze-dried      | 4.1 (6.3)                     | 4.2 (5.3)                  |
| spray-dried       | 2.5 (4.8)                     | 2.1 (12.7)                 |
| Hangekobokuto B*5 |                               |                            |
| freeze-dried      | 4.2 (3.1)                     | 4.2 (0.7)                  |
| spray-dried       | 2.5 (1.0)                     | 2.1 (2.9)                  |

\*1 Amount of extracts produced in the flask (freeze-dried extract) or the instrument (spray-dried extract), which were calculated by the whole weight minus the weight of the flask or the instrument;

\*2 The amount of extract scraped out of the flask or the instrument;

\*3 coefficient of variation;

\*4 Parathion was detected.;

\*5 Parathion-methyl was detected.

Table 2 Amount of Organophosphorus Pesticides in Hangekobokuto Decoctions, Dry Extracts and Their Herbal Residues

| Pesticide                           | Crude drugs*1     | Decoction<br>ng (CV*2) | Extract*3    |     |             |     | Herbal Residues<br>(Precipitates) |    |
|-------------------------------------|-------------------|------------------------|--------------|-----|-------------|-----|-----------------------------------|----|
|                                     |                   |                        | Freeze-dried |     | Spray-dried |     | ng (CV)                           | %  |
|                                     |                   |                        | ng (CV)      | %*4 | ng (CV)     | %   |                                   |    |
| Hangekobokuto A<br>Parathion        | Perilla Herb No.1 | 92 (17.2)              | 40(10.6)     | 43  | 6.2(15.7)   | 6.7 | 33(17.2)                          | 36 |
| Hangekobokuto B<br>Parathion-methyl | Perilla Herb No.2 | 1,920 (17.6)           | 830( 7.9)    | 43  | 170(11.4)   | 8.9 | 310(10.5)                         | 16 |

\*1 Crude drugs in which pesticides were detected;

\*2 coefficient of variation;

\*3 The extract after the whole supernatants were dried;

\*4 The ratios of the amounts of pesticides to those in the decoctions

Table 3 Pesticide Residues in Hangekobokuto Dry Extracts

| Pesticide        | n=3                        |                          |
|------------------|----------------------------|--------------------------|
|                  | Freeze-dried<br>ng/g (CV*) | Spray-dried<br>ng/g (CV) |
| Parathion        | 9.3 (6.4)                  | 3.0 (2.4)                |
| Parathion-methyl | 200 (8.2)                  | 76 (12.0)                |

\* coefficient of variation

## 考 察

### 1. 半夏厚朴湯乾燥エキスの収量

半夏厚朴湯 A の凍結乾燥エキス量については、回収後若干高い値を示したが、吸湿の影響によるものと考えられた。

スプレードライエキスについては、サイクロン部の重量が約 1 kg あったため、正確な収量を算出することは困難であったが、得られた回収前エキス量は、凍結乾燥エキス量の約 60%と低値を示した (Table 1)。

本研究において使用したスプレードライヤーは、コンプレッサーより供給された空気圧により試料を蒸発管に噴霧し、蒸発管へ吹き下ろされた高温空气中で水分を除く機器である。水分を失った粉末は、フロアで吸引されることにより、サイクロン部 (冷却回収管) に移送され、重力によりサイクロン部及び回収瓶へ落下する。フロアで吸引された気体は、サイクロン部上方の排気ダクトへ回り、フィルターを通して外部へ排出される。この排気と共に、試料由来の粉末がある程度系外へ排出されることは構造上免れない。また、蒸発管で生じた粉体の一部分は蒸発管の器壁に吸着し、サイクロン部側へ移送されない。機器の構造上、蒸発管の秤量を行うことは難しく、サイクロン部及び回収瓶のみを秤量した。したがって、スプレードライエキスにおける収量の低さは、主に系外への排出と蒸発管器壁への吸着によるものと考えられた。

なお、サイクロン部及び回収瓶から乾燥エキスを完全に回収することは困難であったが、その理由として静電気やエキス中に含有される油分の影響によるサイクロン

部及び回収瓶ガラス壁への吸着、細かい粉末の空気中への飛散などが考えられる。

### 2. 沈殿物中の有機リン系農薬

煎液から検出されたパラチオン及びパラチオンメチルのそれぞれ 36% 及び 16% が沈殿物から検出された (Table 2)。両農薬については、半夏厚朴湯を 3,000 rpm で 5 分間遠心した場合においても、今回と同様に煎液から検出された量のそれぞれ 37% 及び 18% が沈殿物から検出されている<sup>7)</sup>。

漢方処方エキスを調製する際には、通常乾燥前に煎液を遠心分離などにより固液分離することが多い<sup>4)</sup>。半夏厚朴湯以外に加味逍遙散及び補中益気湯<sup>7)</sup> においても沈殿物から農薬が検出されていることから、遠心分離を行うことにより、沈殿物と共に農薬が除去され、乾燥エキス中の農薬含量は低くなると考えられた。

### 3. 乾燥エキス中の有機リン系農薬

凍結乾燥エキス中のパラチオン及びパラチオンメチル含量は共に煎液から検出された量の 43%、スプレードライエキスについてはそれぞれ 6.7% 及び 8.9% であり、スプレードライエキスにおける値は凍結乾燥エキスにおける値の 16~20% と低値を示した (Table 2)。

また、スプレードライエキスから検出されたパラチオン及びパラチオンメチル量を回収前エキスにおける値に換算した場合においても、それぞれ 7.4 ng (8.0%) 及び 200 ng (10%) であり、スプレードライエキスにおける値は凍結乾燥エキスにおける値の 19~24% と低値を示した。

更に、農薬の濃度に関しても、スプレードライエキスにおける値は凍結乾燥エキスにおける値の 32~38% と低値を示した (Table 3)。

### 4. 乾燥工程における有機リン系農薬の消長

スプレードライヤーにおける系外へのエキスの排出及



び蒸発管への吸着を抑え、スプレードライエキス量と凍結乾燥エキス量が仮に同等になったとしても、スプレードライエキス中のパラチオン及びパラチオンメチル含量はそれぞれ 12 ng (6.2×4.1/2.1) 及び 340 ng (170×4.2/2.1) であり、凍結乾燥の 40 ng 及び 830 ng には及ばなかった。したがって、煎液から検出されたパラチオンの 28 ng (30%)、パラチオンメチルの 490 ng (26%) に相当する量が、系外排出及び蒸発管への吸着以外の機序により消失したものと考えられた。

パラチオン及びパラチオンメチルは加熱（パラチオンの場合 130℃以上）することにより、それぞれ *O,S*-ジエチル体及び *O,S*-ジメチル体に異性化すること、パラチオンメチルは水中で光により分解することが報告されている<sup>11)</sup>。また、水に農薬を添加し、約半量に加熱濃縮した場合、パラチオン及びパラチオンメチルは揮散などの影響により、それぞれ 27% 及び 46% しか回収されないことが判明している<sup>9)</sup>。更に、スプレードライする際、試料は入口において 150℃、出口において 85~90℃の高温に晒される。したがって、スプレードライヤー内における異性化、分解、揮散などの影響により低値を示したものと考えられた。

凍結乾燥エキス及び沈殿物から検出された農薬量を合わせた場合、パラチオン及びパラチオンメチルはそれぞれ 73 ng 及び 1,140 ng であり、煎液から検出された 92 ng 及び 1,920 ng には及ばなかった。したがって、パラチオンについては 19 ng、パラチオンメチルについては 780 ng、すなわち、上清中に存在していたと考えられるパラチオン 59 ng 及びパラチオンメチル 1,610 ng のそれぞれ 32% 及び 48% が凍結乾燥により消失したことになる。凍結乾燥は減圧状態で水分除去を行うため、揮散などにより農薬の一部が消失したと考えられた。

今回、農薬が移行した半夏厚朴湯の乾燥工程における有機リン系農薬の消長について検討した。

その結果、遠心分離により煎液中のパラチオン及びパラチオンメチルは沈殿物と共に一部除去されること、含量は凍結乾燥エキスよりもスプレードライエキスの方が異性化、分解、揮散などの影響により低値を示すこと、煎液にパラチオン及びパラチオンメチルが移行したとしても、凍結乾燥及びスプレードライエキス中の含量は、煎液から検出された量のそれぞれ 50% 以下及び 10% 以下と低値を示すことが明らかとなった。

パラチオン及びパラチオンメチルが検出されたソヨウを用いて半夏厚朴湯を調製した場合、煎液にそれぞれ 19% 及び 28% しか移行しない<sup>7)</sup>。したがって、これらの農薬がソヨウから検出されたとしても、煎出及び乾燥工程を経た最終エキスにおける農薬含量は、凍結乾燥の場合、

ソヨウから検出された量のそれぞれ 10% 及び 14%、スプレードライの場合、2% 及び 3% 程度とかなり低くなることが判明した。他の漢方処方エキスにおいても同様に農薬が消失し、低値を示すことが考えられる。今回、煎液を遠心分離後、そのまま凍結乾燥又はスプレードライしたが、エキス製剤の製造工程においては、乾燥前に濃縮、乾燥後に賦形剤と混合、加圧成形、整粒などの操作が加わる。これらの操作により、農薬含量は更に低くなることが考えられる。

今後漢方処方エキスを対象に、残留農薬の毒性等について議論する際には、これらの点を考慮する必要がある。

## 結 論

漢方処方煎液の乾燥工程における有機リン系農薬の消長について明らかにするため、パラチオン及びパラチオンメチルが移行した半夏厚朴湯を遠心分離後、凍結乾燥又はスプレードライし、得られた乾燥エキス及び沈殿物中の農薬を定量した。その結果、遠心分離により煎液中の農薬は一部除去され、凍結乾燥及びスプレードライエキス中の農薬含量は、揮散などの影響により煎液から検出された量のそれぞれ 50% 以下及び 10% 以下であった。仮に農薬が検出されたソヨウを用いたとしても、煎出及び乾燥工程において除去される量と消失する量を合わせると 85% 以上となり、最終エキスにおける農薬含量は凍結乾燥した場合、ソヨウから検出された量の 10~14%、スプレードライした場合、2~3% 程度とかなり低くなることが明らかとなった。

## 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）により行われたもので、ここに感謝の意を記す。

## 文 献

- 1) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 合田幸広: 医薬品研究, 36(2), 83-97 (2005).
- 2) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 鎌倉浩之, 合田幸広: 医薬品研究, 39(4), 203-222 (2008).
- 3) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 鎌倉浩之, 合田幸広: 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 41(4), 324-337 (2010).
- 4) 日本薬局方解説書編集委員会編: 第十五改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2006, p. A-39-A-42.
- 5) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 合田幸広: 医薬品研究, 37(4), 245-250 (2006).
- 6) 塩田寛子, 浜野朋子, 中嶋順一, 下村壽一, 末次大作, 安田一郎: 東京健安研セネ報, 55, 43-47 (2004).
- 7) 佐藤正幸, 姉帯正樹, 鎌倉浩之, 合田幸広: 医薬品医療

- 機器レギュラトリーサイエンス, 41(6), 458-468 (2010).
- 8) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方, 2006, p. 1193-1196, 1266-1269.
- 9) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方第一追補, 2007, p. 150-151.
- 10) 日本薬剤師会編：改訂4版 漢方業務指針, 東京, じほう, 1997, p. 214-215.
- 11) Tomlin C. D. S., ed.: The Pesticide Manual 12th Ed., Surrey, British Crop Protection Council, 2000, p. 706-708, 708-709.

## 定量 NMR (qNMR) による日本薬局方試薬の純度規格化の検討

細江 潤子\*, 杉本 直樹\*, 合田 幸広\*.#

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス  
Vol. 41, No. 12 別刷 (2010年)  
財団法人 日本公定書協会

## 定量 NMR (qNMR) による日本薬局方試薬の純度規格化の検討

細江 潤子\*, 杉本 直樹\*, 合田 幸広\*.\*#

(受付:平成 22 年 7 月 9 日, 受理:平成 22 年 10 月 20 日)

Trial Study to Determine Absolute Purities of Chemical Reagents Used  
as Reference Standards in the Japanese Pharmacopoeia  
by Using Quantitative NMR (qNMR)

Junko HOSOE\*, Naoki SUGIMOTO\* and Yukihiro GODA\*.\*#

## Summary

In the "Crude Drugs" section of the Japanese Pharmacopoeia (JP), many chemical reagents that are commercially available and chemically specified in the section on "Reagents and Test Solutions" are used as reference standards for quantitative analyses. However, there is no information on the absolute purity of these standards because it is very difficult to obtain pure natural compounds and to determine their purity with International System of Units (SI) traceability. Therefore, in a strict sense, quantitative regulation of crude drugs and related products in JP by the use of such marker compounds is somewhat ambiguous.

Recently, quantitative NMR (qNMR) using a certified reference material as a qNMR reference has been developed. This method qualifies as an absolute quantification method and is theoretically able to determine the purity of any compound with SI traceability. Therefore, we are proposing to introduce the qNMR method to JP for the specification of reagents used as marker compounds. In this report, in order to clarify practical issues that must be solved before the adoption of qNMR by JP, we applied qNMR to reagents (and a naturally purified compound) which are known to have wide-ranging purity. We found that the selection of the specific NMR signal(s) for calculating the purity of the target compound was very important. It is our view that a simple non-exchangeable signal such as a singlet or doublet should be selected and that the numbers of selected signals should be modified depending on the level of purity of the target compound. Coexisting signals from impurities in the integration section cause integration errors, and increasing the number of the selected signals consequently enhances the likelihood of accurate integrations. Further studies and intensive discussion in the panel on crude drugs in JP are needed to reach a final consensus on this issue.

## Key words

Quantitative NMR, International System of Units traceability, the Japanese Pharmacopoeia, Chemical reagents, Marker compounds, Crude drugs

## 1. 緒言

日本薬局方では、生薬及び漢方処方エキスについて、医薬品としての安全性と有効性を担保するため定量法(成分含量測定法)が設定されている。生薬、漢方処方

エキスの場合、定量指標成分は、天然物であるため、公的な標準品(日本薬局方標準品)の設定には以下のような問題がある。化学合成医薬品と異なり、医薬品(生薬、漢方処方エキス)中、数%以下~0.1%程度の含量の化合物が指標とされている。多くの場合このような化合物の

\* 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

\* 責任著者 Corresponding author 合田幸広