

# 葉タバコによる桑園のニコチン汚染とその対策

## (1) タバコ汚染桑のニコチン迅速検定法

八重樫誠次・鈴木繁実・及川英雄

従来、ニコチン汚染桑の検定には、数種の方法<sup>3)4)6)</sup>が知られているが、これらはいずれも、桑葉からのニコチン抽出に長時間を要し、また手数がかかる等、実用上問題点が多い。このため、より簡便で迅速な抽出法を見出す目的から、桑葉の搾汁法を重点に検討した結果、短時間（15～20分）で桑葉中のニコチンを抽出、定量する方法を見出し、その検定値が蚕の中毒症状と整合する結果が得られたので、その概要を報告する。

### 試験方法

- (1) 桑葉中のニコチン抽出方法：採取した生葉 20 g（ガスクロの場合）または 100 g（ケイタングステン酸の場合）を熱湯に数秒間浸した後、乾布にはさんで表面の水気を除き、手押式ジュースャー（I T O 製）を用いて試験管に搾汁（生葉の  $\frac{1}{4}$  量）をとり、これと同容の 50% NaOH 溶液を加えてラボミキサーで 10 秒ほど激しく振とうした。さらに、搾汁と同容のエーテル混液（石油エーテル：エチルエーテル = 1：1）を加えて、ラボミキサーで 10 秒ほど激しく振とうし、放置してエーテル層の分離を待った。
- (2) ニコチンの検定方法：a、ガスクロマトグラフ法 上記により抽出したエーテル層 2  $\mu$ l をガスクロマトグラフに注入した。分析条件は荒川<sup>1)</sup>、および熊沢ら<sup>3)</sup>の方法に準じて次のとおりとした。検出器：F T D (Rb-SO<sub>4</sub>)、カラム：1.5 m × 2.6 mm  $\phi$ 、充填剤 P E G - 20 M + NaOH 10 + 1%、温度 180 °C、キャリアガス：ヘリウム 40 ml/分、水素：40 ml/分、空気：300 ml/分、感度：10<sup>4</sup> M $\Omega$  - 0.64 v、ニコチンの保持時間 3 分。  
b、ケイタングステン酸比濁法 抽出したエーテル層のみをガラス毛细管で吸取り、バイアルビンに移し、20% ケイタングステン酸溶液 1 滴を加え、ラボミキサーで 10 秒ほど激しく振とう後放置し、標準液と比濁した。比濁用標準液は、エーテルに溶解したニコチンの 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 ppm 溶液各 2 ml をテフロンラバーセプタム付のスクリーバイアルにとり、20% ケイタングステン酸溶液 1 滴を加えて振とうし、沈下したケイタングステン酸溶液の小球が懸濁するように作成した。
- (3) ニコチン汚染桑の蚕による生物検定法：上記のニコチン抽出に用いた同条件の桑葉を 3~5 齢の蚕児に 3~4 日間連続給与し、軽症蚕（食欲不振、静止、胸部膨大）、重症蚕（吐液、体躯縮少）の発現状況と、分析によるニコチンの検定結果を対比した。

### 試験結果および考察

- (1) ニコチン抽出方法についての予備試験

ニコチン汚染桑の汚毒は、汚染桑の水洗によって除去できないこと<sup>2)</sup>、および加熱処理によるニコチンの減少が少ないこと<sup>5)</sup>が指摘されているので、汚染桑を熱湯処理し、その搾汁を用いてニコチン含有量の測定を試みた。なお、ニコチンの測定は、ガスクロマトグラフ法で行なった。

a、熱湯処理とニコチンの減少：供試桑葉を縦半し、熱湯処理した場合としない場合のニコチン含有量を測定したところ、熱湯処理によってニコチン含有量が若干低下した。（第 1 表）

第 1 表 熱湯処理とニコチン含有量

	熱 湯 処 理	無 処 理
連 平 均 値	3 1.11	3 1.46
変 動 係 数	0.371	0.089

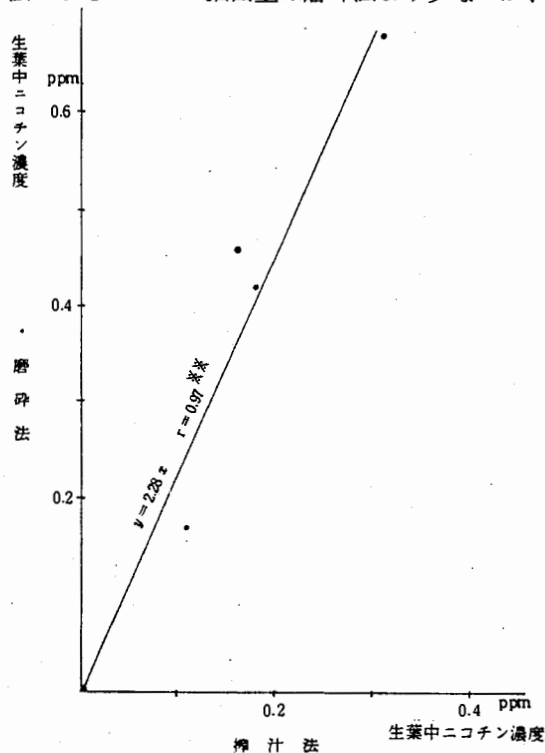
b、熱湯処理時間とニコチン抽出量：熱湯処理に伴うニコチン含有量の減少を抑え、測定値の変動を小さくするために、熱湯処理時間を変えてニコチン含有量を測定したところ、熱湯処理時間が短い場合に測定値の変動が小さく、含有量が多かった。（第2表）

第2表 熱湯処理時間とニコチン抽出量

熱湯処理時間	30 秒	5 分
連 続 制	9	3
平 均 値	0.050	0.031
変 動 係 数	0.126	0.540

このため、熱湯処理は搾汁が可能な範囲で、出来るだけ短時間が望ましいと考えられた。

c、圧搾汁のニコチン含有量：熱湯処理した汚染桑について、搾汁法と磨砕法のニコチン抽出量について比較したところ、搾汁法によるニコチン抽出量は磨砕法より少ないが、両者間には高い正の相関が認められた。



第1図 磨砕法と搾汁法のニコチン濃度

また、搾汁の始めはニコチン抽出量が少なく、検定値に若干の変動がみられるため、最初の搾汁（1～2 ml）を捨て、あとの搾汁を用いることにより検定値が安定した。（第3表）

第3表 搾汁の始めと終りのニコチン抽出量

	搾 汁 始 め	搾 汁 終 り
連 続 制	3	3
平 均 値	0.054	0.064
変 動 係 数	0.124	0.106

さらに、検定葉をビニール袋に入れて密封後5℃に保存し、2週間後に压榨法によりニコチン含有量を測定したところ、変動は大きくなったが、平均値は変化しなかった。(第4表)

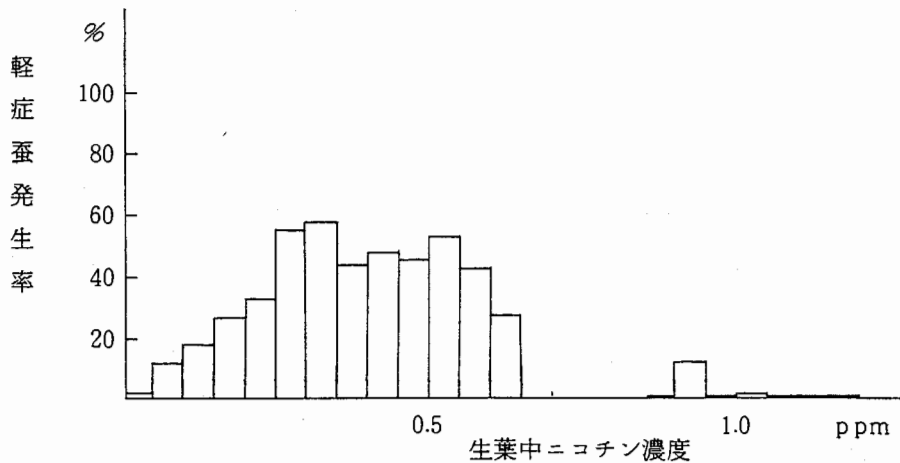
第4表 桑葉の保存とニコチン抽出量

		採 取 当 日	2 週 間 後
連	制	3	6
平	均	1.03	1.03
変	動	0.039	0.158

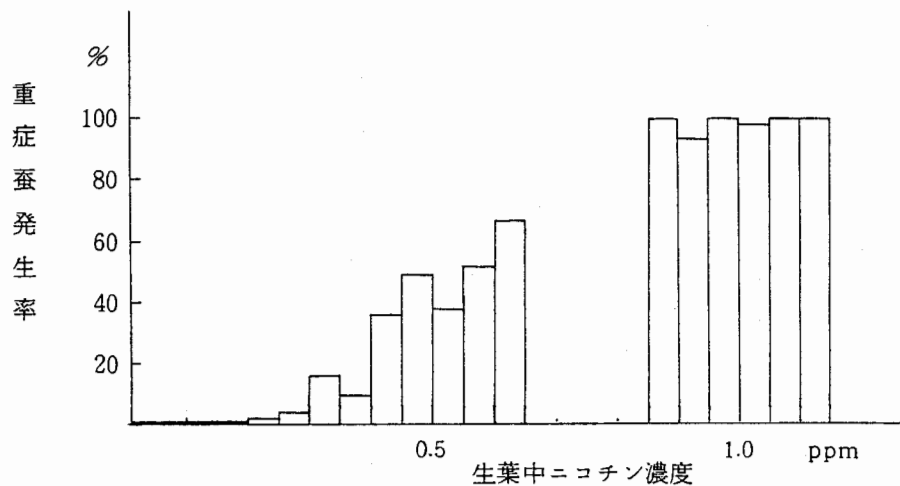
これらの結果をふまえて、以下に搾汁法によるニコチン検定値と蚕の中毒症状との関係を検討した。

(2) ニコチン検定値と蚕の中毒症状との関係

191回の添食試験結果から、ニコチン検定値を0.05ppm幅の級間隔にまとめて、階級ごとの軽症および重症蚕発生率を算出したところ、軽症蚕発生率は0.3～0.5ppm間が最高で、その前後では低くなり、重症蚕発生率はニコチン濃度の増加に比例して高くなった。(第2図、第3図)



第2図 ニコチン検定値と軽症蚕発生率

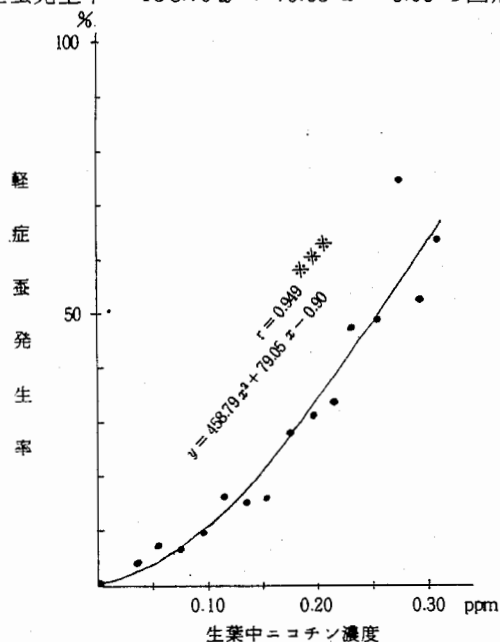


第3図 ニコチン濃度と重症蚕発生率

また、重症蚕発生率 100% のときを症状発生率 100% として、 $\text{症状発生率} = a \times \text{軽症蚕発生率} + \text{重症蚕発生率}$  の式を定義し、ニコチン濃度との相関が高くなるような  $a$  の値を求めたところ  $a = 0.326$  のとき、 $r = 0.877$  ※※※ となり、ニコチン濃度と症状発生率がよく適合した。

ニコチン濃度 ( $x$  とする) が 0 ~ 0.31 ppm の範囲で部分回帰分析を行ない、軽症蚕発生率との関係を検討したところ、

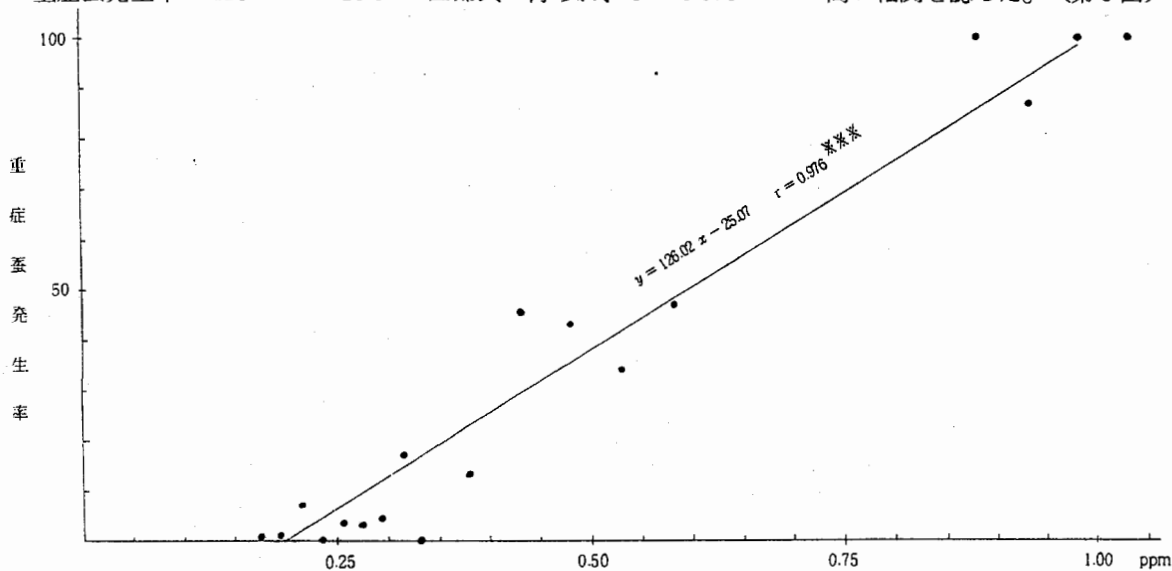
軽症蚕発生率 =  $458.79x^2 + 79.05x - 0.90$  の回帰式が得られ、 $r = 0.949$  ※※※ の高い相関を認めた。



第4図 ニコチン濃度と軽症蚕発生率の部分回帰

軽症蚕発生率をニコチン濃度の段階毎にみると、0.05ppmでは4.2%、0.10ppmでは11.6%、0.15ppmでは21.3%、0.20ppmでは33.3%、0.25ppmでは47.6%、0.30ppmでは64.1%の割合で発生した。さらに、ニコチン濃度 ( $x$  とする) が 0.15 ~ 1.05 ppm の範囲で部分回帰分析を行ない、重症蚕発生との関係を検討したところ、

重症蚕発生率 =  $126.02x - 25.07$  の回帰式が得られ、 $r = 0.976$  ※※※ の高い相関を認めた。(第5図)



第5図 ニコチン濃度と重症蚕発生率の部分回帰

重症蚕発生率をニコチン濃度の段階毎にみると、0.20ppmでは0.1%、0.30ppmでは12.7%、0.40ppmでは25.3%、0.50ppmでは37.9%、0.60ppmでは50.6%、0.70ppmでは63.2%、0.80ppmでは75.8%、0.90ppmでは88.4%が重症蚕となった。

### (3) 搾汁法によるニコチンの検出限界

本法による抽出液について、ガスクロマトグラフでニコチン検定を行った結果、生葉当り0.005ppmまで検出できた。また、ケイタングステン酸比濁法では、抽出エーテルに沈んだケイタングステン酸溶液の小球表面に現われる濁度で判定するので、一般のケイタングステン酸比濁法よりも感度が良好であり、このため生葉当り0.1ppmまでの検出が可能であった。ただし、抽出時にエーテル層がよく分離しない場合、ケイタングステン酸比濁法では遠心分離を行って、エーテル層の回収効率を高める必要があった。また、比濁の際に用いるバイアルピンは、よく洗浄する必要があり油脂などが付着しているとケイタングステン酸溶液が球とならず、比濁の感度が低下する場合があった。

## 摘 要

葉タバコによって汚染された桑葉中のニコチンを簡易に検出する方法を検討した結果、桑葉を熱湯処理して圧搾汁をとり、ガスクロマトグラフで分析する方法が簡便であり、約15～20分で検定することが出来た。なお、ニコチンの検定を、ケイタングステン酸による比濁法で実施した場合、精度は劣るが、0.1ppmまで検出することが出来、何れの場合も検定値が蚕の中毒症状とよく一致した。

## 文 献

- 1) 荒川義清・前川真紀子(1978) 盛岡たばこ試報 13:69-74
- 2) 長谷川 浩・高橋太郎兵衛・岩田 精・国井一己(1931) 秦野たばこ試報 30:1-69
- 3) 熊沢誠人・荒武義信・坂口文吾(1978) 九州蚕糸 9:38
- 4) 坂口文吾・藤井 博・河口 豊・筑紫春生(1976) 九州蚕糸 7:42
- 5) 坂口文吾(1979) 蚕糸科学と技術 18(10):54-59
- 6) 上田光一郎・塚田修一(1963) 埼玉蚕試要報 35:72-75