

目 次

報 文		山羽力・朝比奈正人……………43
尿中麻薬の検出について (第6報)		医療用プラスチックの物理的ならびに化
大野昌子……………1		学的研究 (第3報) 滅菌済み輸液、輸
天然下垂体後葉ホルモンの研究 (第1報)		血セットの包装について
ウシ下垂体後葉アセトン乾燥粉末から		大場琢磨・伊東宏・堀部隆・水町彰吾
のオキシトシン、バソプレシン作用を		・篠崎正・菊池寛……………45
もつたん白質の抽出		薄層クロマトグラフィーによるゴオウの確
長沢佳熊・福田秀男……………5		認について
積分球式濁度計による硫酸イオンの定量		福岡正道・名取信策……………48
長沢佳熊・木島敬二……………10		薄層・ガスおよびろ紙クロマトグラフィー
医療用プラスチックの物理的ならびに化		によるジャコウの確認について
学的研究 (第1報) 輸液用プラスチッ		福岡正道・名取信策……………50
クス容器の物性に関する考察		<i>Gentiana lutea</i> L.の栽培試験 (第1報)
大場琢磨・堀部隆・菊池寛……………13		畠山好雄・本間尚治郎・逸見誠三郎……………52
医療用プラスチックの物理的ならびに化		ケシ栽培における窒素質肥料増補による増
学的研究 (第2報) 医療用接着剤 α -		収性について
シアノアクリレート of の接着性ならびに		・ 木下孝三……………58
化学的性質について		<i>Withania somnifera</i> DUNAL の試作栽培
大場琢磨・水町彰吾・堀部隆……………17		(第3報) 肥料3要素試験
米ぬか油による食中毒原因物質の究明に関		川谷豊彦・大野忠郎……………60
する衛生化学的研究		
関田寛・内山貞夫・鈴木隆・伊藤		資 料
誉志男・武田明治・近藤龍雄・		副腎皮質ホルモン含有軟膏類の試験成績
田辺弘也・志村博・寺島敏雄・		長沢佳熊・越村栄之助・川村次良
倉田浩・名取信策……………20		・ 中路幸男・木村俊夫・木島敬二・
抗酸化剤およびそれらの誘導体のガスクロ		太田美矢子……………64
マトグラフィー		昭和43年度におけるビタミンの特行試験な
加藤三郎・下田通敏・佐々木武祥……………24		らびに一斉取締試験成績
大気中の鉛の連続自動測定計について		山羽力、足立透、渡辺邦子、高橋昭江……………66
山手昇・松村年郎・外村正治……………28		比色定量法による市販サイクラミン酸ナト
<i>Penicillium roqueforti</i> による毒性物質の産生		リウム中のシクロヘキシルアミンの定量
に関する研究		高村一知・谷村顕雄……………67
叶多謙蔵……………31		放射性医薬品として用いられる ^{125}I と ^{197}Hg
		の γ 線X線のスペクトルについて
実験ノート		長谷川明・浦久保五郎……………68
非水滴定による麻薬の定量について		人工血管の溶出試験ならびに耐高圧蒸気滅
大野昌子・島峯望彦・高橋一徳・		菌性について
朝比奈晴世……………36		大場琢磨・堀部隆・水町彰吾・菊池寛……………70
吸光度定量法における誤差の原因について		コンドームの試験について
長沢佳熊・川村次良・木島敬二・		伊東宏・水町彰吾・篠崎正・大場琢磨……………71
太田美矢子……………39		内装生理処理用品の基準について
N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニ		伊東宏・篠崎正・小島満子……………74
ジンとアンスラニル酸の水溶液中での		総合胃腸薬中のベナクチジンの確認
反応		義平邦利・坂東きみ子・名取信策……………76

Ⅱ

昭和43年度の「ジャコウ」,「ゴオウ」の検査について

義平邦利・佐竹元吉・坂東きみ子・
小川秀子・兼松明子・黒柳正典・
榊節子・手塚美智子・福岡正道・

名取信策……………78

ニンニク末の組織要素の検討および農造

ビタミンB₁誘導体錠剤よりニンニク
末の組織片の検出について

佐竹元吉……………78

野性ハチミツよりトリカブト属植物の花粉

の検出について

佐竹元吉……………81

エアゾール製品中の鉛含量について

小幡利勝・狩野静雄・矢島紀子……………82

輸入食品中の⁹⁰Sr および¹³⁷Csの定量(第4報)

浦久保五郎・亀谷勝昭・池淵秀治……………84

おもちゃの安全性に関する研究(第1報)

酢酸ビニル樹脂製ふうせん中の有機溶

剤について

辰濃隆・慶田雅洋・谷村顕雄……………86

国立衛生試験所標準品(色素標準品)テト

ラブロムフルオレセイン標準品につい
て

谷村顕雄・神蔵美枝子……………88

界面活性剤と殺菌剤の併用効果(第1報)

界面活性剤の水溶性殺菌剤におよぼす
影響

栗栖弘光・川原隆一……………90

界面活性剤と殺菌剤の併用効果(第2報)

界面活性剤の非水溶性殺菌剤におよぼ
す影響

栗栖弘光・川原隆一……………94

抄録……………98

学会講演……………124

衛試例会……………128

国家検定, 国家検査などの試験状況報告……………133

国立衛生試験所標準品……………144

メタノールでプレートから溶出して得た試料は、発色試液噴霧後のものではヨウ化物を含むので、呈色反応を試みるのは多くの場合不可能であるが、結晶形成用試液の多くがすでにヨウ化物を含んでいるため支障がなかった。ヨウ化物を含まない試料が必要なときには、UV による蛍光反応や、吸収を利用して、試液噴霧まえに溶出、目的を果した。

考 察

中毒者尿を用いて、現在不正使用されている範囲の麻薬やアンフェタミンの抽出、確認法を確立することができた。

検出された薬物の確認段階での不完全さが、従来問題とされてきたが、TLC とマイクロクリスタルテストを併用すれば解決することができる。TLC は微量の混合物の分離、検出に役立つが、中毒者尿の場合のように、薬物に基づくもののほか、尿の成分それ自身、食物、喫煙に由来するもの、およびこれらの代謝物に至るまで、多数の物質が含まれているようなものでは、

かえって判定に困難を生じたり、あやまりを生じやすい。クリスタルテストはこれを補い、プレートに試液を噴霧し、薬物を推定後、スポットを溶出、確認できるのも大きな利点であるといえる。

本法では、加水分解法を採用しているので、モルヒネが検出されたとき、ヘロインに基づくものであるかどうかは、偽和物等の存在から推定することになるので、偽和物の確認をおろそかにできない。また本法は、中毒者判定のような重大な責務を遂行するための確実性を、十分そなえているものと思う。

文 献

- 1) 大野昌子, 朝比奈晴世: 衛生試報, **82**, 47 (1964).
- 2) E. L. Way, J. M. Young, J. W. Kemp: Bull. on Narcotics, **XVII** (No. 1), 25 (1965).
- 3) B. Davidow, N. L. Petri, B. Quame, B. Searle, E. Fastlich, J. Sabitzky: Am. J. Clin. Pathol., **46** (No. 1), 58 (1965).

天然下垂体後葉ホルモンの研究 (第1報)

ウシ下垂体後葉アセトン乾燥粉末からのオキシトシン、バソプレシン作用をもつたん白質の抽出

長 沢 佳 熊・福 田 秀 男

Studies on the Natural Posterior Pituitary Hormones. I

Extraction of Oxytocic and Vasopressor Active Proteins from Acetone-Dried Powder of Bovine Posterior Pituitary

Kakuma NAGASAWA and Hideo FUKUDA

1. Oxytocic and vasopressor active protein extracts at pH 5.5 from an acetone dried powder of bovine posterior pituitary were separated gradually into two parts by repeated gel filtration on Sephadex G-75 at pH 5.5. One was richer in oxytocin (oxytocin 14.4 u/mg, vasopressin 6.4 u/mg), and the other was richer in vasopressin (oxytocin 14.3 u/mg, vasopressin 21.3 u/mg).

2. Chromatograms obtained by gel filtration on Sephadex G-75, G-50 and G-25 at pH 5.8 indicated that the active protein extracts slowly released their oxytocin and vasopressin.

(Received May 31, 1969)

ウシ、ブタ、ヒツジなどの下垂体後葉のアセトン乾燥粉末が含有するオキシトシン (oxyt) とバソプレシン (vasop) とを国際単位であらわすとき、それらの力価の比は動物の雌雄、年令、産地などの別なく、つねに1に近い値を示すことは、著者の一人長沢らもすでに報告している¹⁾。しかし、その理由については、たとえば一分子説、多分子説をめぐる論争がなされて

きたがいまだに定説はない。

すでに van Dyke らによってウシ下垂体後葉から oxyt および vasop の力価を約1:1に含む分子量約30,000のたん白質が単離され、これが電気泳動、溶解度測定、超遠心法などで均質な物質であると報告されている²⁾。著者らも、数年前から天然形のかなり高分子の下垂体後葉ホルモンの存在を想定してその研究を

始めた。その間、Preddie らは、ウシ下垂体後葉乾燥粉末から不活性ペプチドの結晶を得て、そのアミノ酸 48 個の配列を報告している^{33, 4)}。さらに Acher らはそれよりさらにウシ下垂体後葉から得たホルモンたん白質から、oxyt と vasop とをとり除いて精製したたん白部分を neurophysin (Nph) と命名した⁵⁾。しかも、このホルモンたん白質は、向流抽出、トリクロル酢酸による沈でん、電気泳動、希酸に対する透析などではいずれも oxyt および vasop を遊離するが、水に対する透析、塩化ナトリウムによる塩析などではそれらを遊離しないと報告している⁶⁾。また、Ginsburg らは、この解離が pH5~6 で最も少なく、pH4 以下または pH7.5 以上では 70% 以上に達し、pH5~6 にもどすと再びもとのホルモンたん白質を形成することから、oxyt または vasop のシスチンの遊離アミノ基と Nph の遊離カルボキシル基がイオン会合した複合体であろうと考えている^{7, 8)}。この複合体に関しては、Ginsburg ら^{9, 10)}のほかに、Hope ら¹¹⁻¹⁵⁾の報告もあるが、それらのほとんどは Nph の分離精製や、単離した Nph に対する oxyt および vasop の結合量を調べたもので、取り扱われた複合体も精製した Nph に oxyt および vasop を再結合させたものであり、いずれも天然に存在するままのホルモンと同一結合様式であるとの確証はない。

そこで著者らは、脳下垂体での oxyt と vasop の存在様式を知るために、それらを天然のまま単離することを目指したつぎの実験を行なった。すなわち、ウシ下垂体後葉アセトン粉末を pH5.8 のピリジン・酢酸緩衝液で抽出したのち、同じ緩衝液を用いてセファデックス G-75, G-50 の順にゲルろ過を行なうとき、たん白質と oxyt または vasop との結合体の分布が多少異なることを認めた (以上実験 I)。著者らはあらたに抽出した試料について、さらに大きなカラムを用い、pH5.5 のピリジン・酢酸緩衝液でセファデックスのゲルろ過を行ない、活性ピークを再クロマトグラフィーしていくうちに、oxyt 14.4 u/mg, vasop 6.4 u/mg を持ったたん白質区分と oxyt 14.3 u/mg, vasop 21.3 u/mg を持ったたん白質区分とに分離することができた。この場合、実験 I にみられたテーリングもさらに抑えることができた (以上実験 II)。

これらの結果は、もとの天然形ホルモンたん白質 (P·H) から、ゲルろ過によって 2 部分、すなわち共通のたん白質 P との結合物、oxyt-たん白部分 (P-oxyt) と vasop-たん白部分 (P-vasop) とに分離されたものか、あるいは P に対して oxyt と vasop との比率を異にした多種類の結合体を意味するものか、さらには元来下

垂体中に非常に似た性質を持つ 2 種のたん白質 P₁, P₂ が、たとえば P₁-oxyt および P₂-vasop として存在するのか、なお、P₁, P₂ が Hope らのいう Nph I, Nph II¹⁶⁾ と一致した Nph I-oxyt および Nph II-vasop として存在するのか、などのいずれかを示唆するものと思われる。

なお著者らは、実験 I で得られた試料について、pH 5.8 でセロファン膜を用いての透析実験を試み、oxyt が vasop に比して P·H から遊離されやすい傾向のあることを認めたが¹⁷⁾、この実験についてはなお検討中である。

実験の部

以下に述べる実験は緩衝液の pH、カラムの大きさ、セファデックスの種類を異にする実験 I および II になる。

実験 I

I.1. 実験材料および方法

試料の調製：帝国臓器製薬株式会社から提供されたウシ下垂体後葉アセトン乾燥粉末 644.5 mg を pH 5.8 ピリジン・酢酸緩衝液 (ピリジン 27.5 g + 酢酸 4.5 g + 蒸留水 → 3,780 ml) 15 ml に浸し、1° で 18 時間かき混ぜたのち、遠心分離 (8,000 r.p.m., 20 分) し、沈殿物をさらに 2 回同様に抽出して各上澄液を合わせ、これを凍結乾燥して白色粉末 180 mg を得た (oxyt 2.80 u/mg, vasop 2.82 u/mg)。

ゲルろ過の操作：セファデックス G-75 および G-50 (fine) については 2 × 40 cm, G-25 (fine) の場合は 0.9 × 30 cm のカラムを、いずれも pH 5.8 の緩衝液で調製し、試料をつけたのち同じ緩衝液で流出した。流出液については、280 mμ における紫外吸収と、ホルモン力価とを測定した。

ホルモン力価の測定：oxyt はニワトリ血圧下降法¹⁸⁾ vasop は脳髄破壊白ネズミ血圧上昇法¹⁹⁾を用いた。

I.2. 実験結果

1) セファデックス G-75 によるゲルろ過

試料 150 mg を pH 5.8 緩衝液 3.5 ml に溶かし、その 3.0 ml についてゲルろ過を行ない (60 ml/hr), 流出液を 3 ml ずつ集めた。その結果を Fig. 1 に示す。紫外吸収曲線から三つのピーク (I~III) が認められたが、oxyt と vasop との活性はピーク II のみに見いだされた。なお、フラクション (Fr) No. 31~41 にみられる oxyt, vasop 活性 (0.3~0.4 u/ml) は、ピーク II がテーリングしたものと思われる。

2) セファデックス G-50 によるゲルろ過

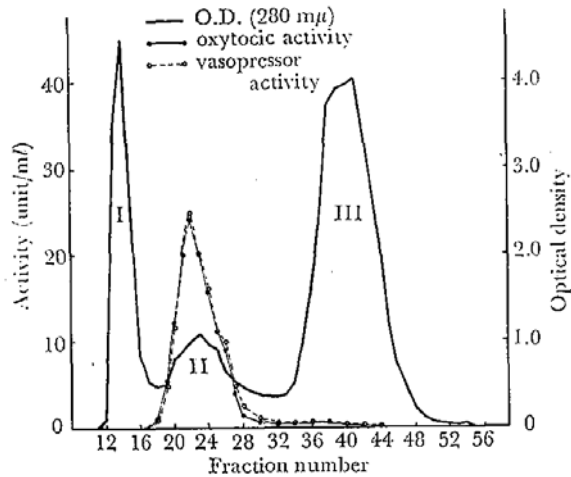


Fig. 1. Gel filtration of extracts from acetone dried powder of bovine posterior pituitary on Sephadex G-75 (2.0×40 cm) at pH5.8

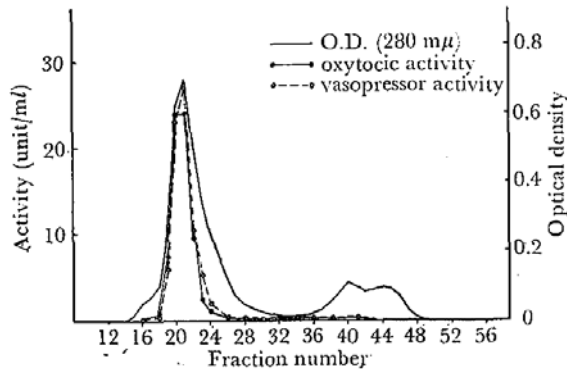


Fig. 2. Gel filtration of fractions 20~26 shown in Fig. 1 on Sephadex G-50 (2.0×40 cm) at pH5.8

1)において得られたピークⅡの区分, Fr No.20~26を合わせ, 凍結乾燥して得た白色粉末 29mg を pH5.8 緩衝液 3.5ml に溶かし, その上澄液 (oxyt 90.2 u/ml, vasop 93.7 u/ml) 3.0 ml についてゲルろ過を行なった。その結果を Fig. 2 に示す。Fig. 2 での oxyt と vasop の力価曲線は似てはいるが, 厳密には一致していない。なおここでも Fr No. 27~41 にわたりテーリング (0.25~0.35 u/ml) が認められた。力価の高かった Fr No.19~23 を各試験管ごとに凍結乾燥したものについて, 乾燥重量あたりの力価を算出した結果を Table 1 に示す。重量あたりで比較的高い力価を持つ Fr No. 20 を, 原料からの各精製段階の力価と比較して Table 2 に示す。この各精製段階において得られたものは, oxyt と vasop の力価比が常に実験誤差内で 1 : 1 であるといえるが, Table 1 からは, Fr No. 20 以前は次第に oxyt の方が, No. 21 以後は次第に vasop の方がそれぞれ多くなる傾向が認められる。

Table 1. Oxytocic and vasopressor unit per mg after drying the fractions 19~23 of Fig. 2

fraction No.	volume (ml)	activity (u/ml)		weight after drying (mg)	activity (u/mg)	
		oxyt	vasop		oxyt	vasop
19	2.6	7.5	6.0	1.6	12.2	9.8
20	2.4	23.4	23.0	4.0	14.04	13.8
21	2.4	27.2	28.4	5.0	13.05	13.65
22	2.7	9.6	10.4	3.5	7.4	8.0
23	2.7	2.6	5.0	2.4	2.9	5.6

Table 2. Purification of the natural oxytocic and vasopressor active protein from posterior pituitary powder of bovine gland

procedure	activity (u/mg)	
	oxytocic	vasopressor
original powder	0.73	0.76
crude extract	2.80	2.82
after G-75 gel filt.	10.9	11.3
after G-50 gel filt.	14.04±1.08	13.8 ±1.25

3) テーリング部分についてのセファデックス G-25によるゲルろ過

1), 2)の実験で認められた oxyt, vasop のテーリングの原因を知るためにつぎの実験を行なった。すなわち試料約 10 mg を pH 5.8 緩衝液 1 ml に溶かし, これについてゲルろ過を行ない (18ml/hr), 流出液を 1ml ずつ集め, そのホルモン力価を測定した。その結果, Fig. 3 A に示すようにテーリングが認められた。その Fr No. 8 の 0.5 ml をとり再クロマトグラフィーを行なっても, やはり同様のテーリングを生じた。遊離形のホルモンとして, 日本薬局方脳下垂体後葉標準液 (oxyt, vasop とともに 2 u/ml) 0.5 ml を同一カラムに通したところ, Fig. 3 B に示すように oxyt, vasop の力価のピークがそれぞれ Fr No. 15, No. 18 に分かれて現われた。これは Frankland²⁰⁾の報告と一致していた。つぎに1)の実験で得られた Fr No. 31~41 を合わせ, また2)の実験で得られた Fr No. 27~37 を合わせて, それぞれ凍結乾燥したのち pH 5.8 緩衝液 1.0 ml ずつに溶かし, 同じ条件でゲルろ過したところ, 両者ともに oxyt, vasop 力価は Fig. 3 B の oxyt, vasop のピークと一致し, それ以外には力価が現われなかった。このことは, テーリング部分が遊離ホルモンであったことを示し, ゲルろ過中に P・H から常にホルモンが遊

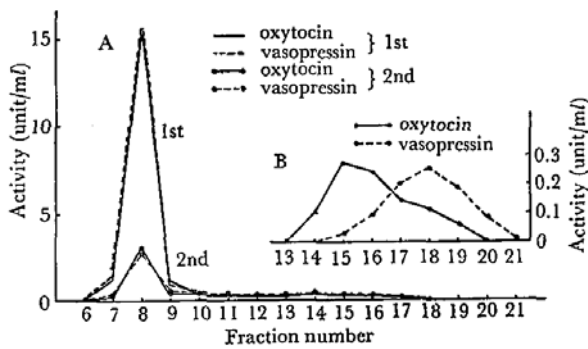


Fig. 3. A: Gel filtration of extracts from acetone-dried powder of bovine posterior pituitary (1st) and fraction 8 from 1st (2nd) on Sephadex G-25 (0.9×30 cm) at pH5.8

B: Gel filtration of free posterior pituitary hormones on the same column as A

離されるためにテーリングとして現われたと考えられる。

実験Ⅱ

実験Ⅰで、セファデックス G-75, G-50 によるゲルろ過で得られた Fr に、oxyt と vasop の力価比に多少のずれがあることに注目し (Fig. 1, 2; Table 1), 両者の分離を目的としてより長いカラムの使用を試みた。

Ⅱ.1. 実験材料および方法

試料の調製: 新鮮なウシ下垂体 428 個より後葉部分を分取し、直ちにアセトンで脱水, 脱脂した後, 減圧乾燥して 20.4 g の粉末を得た。この粉末を pH 5.5 ピリジン・酢酸緩衝液 (ピリジン 13.75 g+酢酸 4.2 g + 蒸留水→1,890 ml) 300 ml に浸し, 1°で19 時間か

き混ぜたのち遠心分離 (8000 r.p.m., 20分) し, 沈殿物をさらに2 回同様に抽出して各上澄液を合わせ, これを凍結乾燥して淡かっ色の固形物 6.44 g を得た。

ゲルろ過の操作: pH 5.5 緩衝液を用いセファデックス G-75 の 3×64 cm カラムを調製し, 試料適量をつけた後, pH 5.5 緩衝液で流出 (2°, 約 25 ml/hr), 8 ml ずつを集め, これについて紫外吸収 (280 mμ) とホルモン力価とを測定した。

ホルモン力価の測定: 実験Ⅰの方法に従った。

Ⅱ.2. 実験結果

試料 650 mg を pH 5.5 緩衝液 10 ml に溶かし, 遠心分離して不溶物を除き, この不溶物を pH 5.5 緩衝液 8 ml で再び抽出して, 両上澄液を合わせ, ゲルろ過したところ Fig. 4 に示す結果を得た。紫外吸収曲線から四つのピーク (Ⅰ~Ⅳ) が認められ, oxyt と

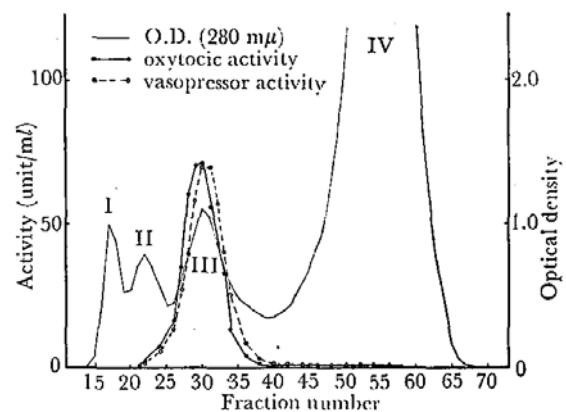


Fig. 4. Gel filtration of extracts from acetone dried powder of bovine posterior pituitary on Sephadex G-75 (3.0×64 cm) at pH5.5

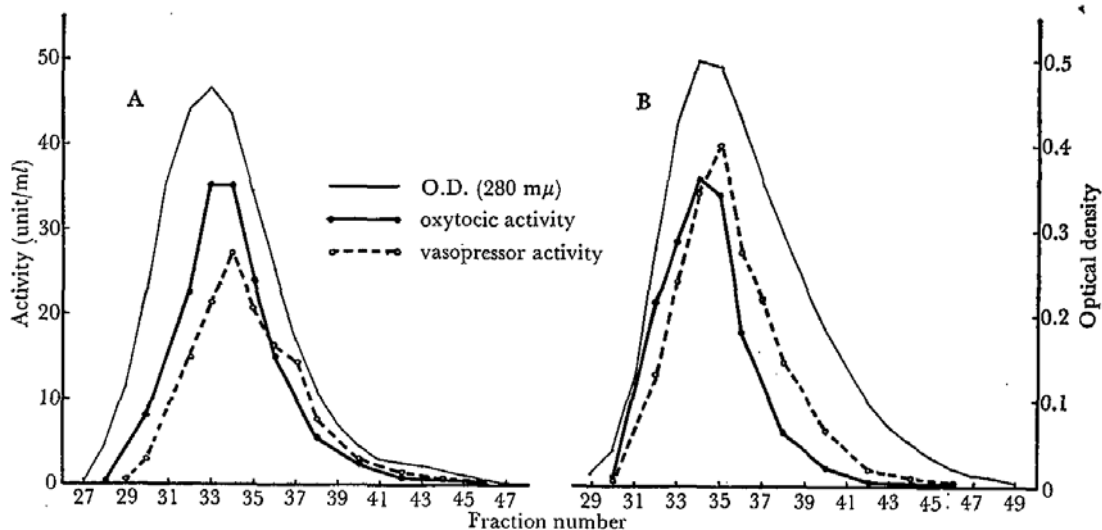


Fig. 5. Gel filtration of fractions 26~30 (A), and 31~35 (B) from Fig. 4 on Sephadex G-75 (3.0×64 cm) at pH 5.5

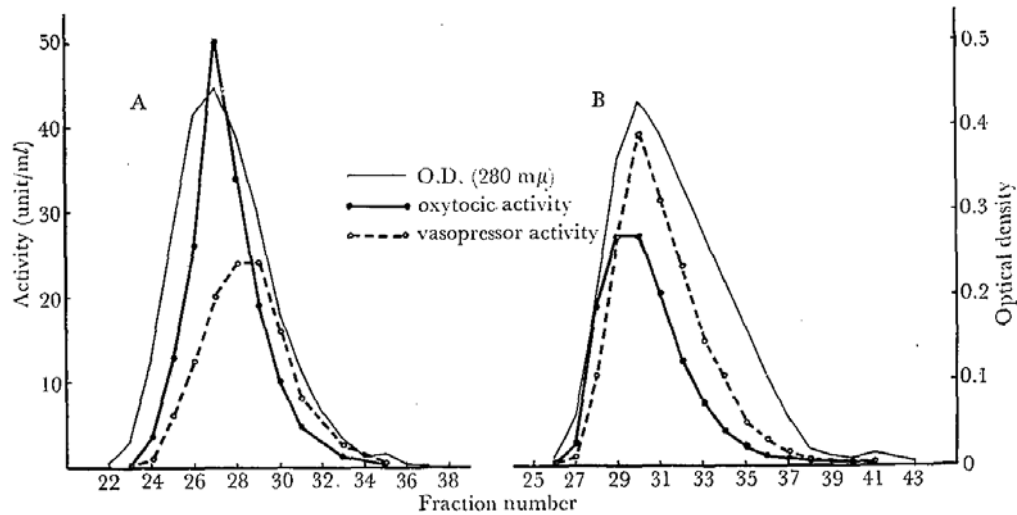


Fig. 6. Final profiles of Fig. 5, A and B after two recyclings through Sephadex G-75(3.0 × 64 cm) at pH 5.5

vasop の活性はピークⅢに見られたが、活性のテーリングは実験Ⅰに見られたより少なく0.1 u/ml 以下であった。さらに両ホルモンのピークは明らかにずれることを認めた。そこでこの両者をさらに分離する目的で、Fr No. 26~30, Fr No. 31~35 の両区分を別々に凍結乾燥、再クロマトグラフィーしてFig. 5を得た。

同様に、この操作をさらに2回繰り返してFig. 6に示すような2区分(A, B)を得た。このAのFr No. 24~27, BのFr No. 30~33をそれぞれ合わせて凍結乾燥し、Aからoxyt 14.4 ± 0.9 u/mg, vasop 6.4 ± 1.0 u/mg, Bからはoxyt 14.3 ± 2.6 u/mg, vasop 21.3 ± 1.1 u/mgの活性を持った白色粉末を得た。

要 約

1. ウシ下垂体後葉アセトン乾燥粉末から pH 5.5 で抽出したホルモン・たん白質をセファデックス G-75を用いてゲルろ過を繰り返したところ、オキシトシン力価の高いたん白区分(オキシトシン14.4 u/mg, バソプレシン6.4 u/mg)と、逆にバソプレシン力価の高いたん白区分(オキシトシン14.3 u/mg, バソプレシン21.3 u/mg)とに分離してきた。

2. ホルモン・たん白質は、セファデックス G-75, G-50, G-25などでpH 5.8でゲルろ過するとき、徐々にホルモンを遊離した。この遊離は、低温(1~2°)で、pH5.5の緩衝液を用いてゲルろ過を行なうと少なくなる傾向を認めた。

なお、本実験に用いた試料の一部は帝国臓器製薬株式会社から提供されたものである。ここに謝意を表す。

文 献

- 1) 長沢佳熊, 中山豪一, 芹沢 淳: 衛生試験, **74**, 151(1956).
- 2) H. B. van Dyke, B. F. Chow, R. O. Greep, A. Rothen: J. Pharmacol. Exp. Therap., **74**, 190 (1942).
- 3) E. C. Preddie, M. Saffran: J. Biol. Chem., **240**, 4189 (1965).
- 4) E. C. Preddie: J. Biol. Chem., **240**, 4194 (1965).
- 5) R. Acher, G. Manoussos, G. Olivry: Biochem. Biophys. Acta, **16**, 155 (1955).
- 6) R. Acher, J. Chauvet, G. Olivry: Biochem. Biophys. Acta, **22**, 421 (1956).
- 7) M. Ginsburg, M. Ireland: J. Physiol., **169**, 114P (1963).
- 8) M. Ginsburg, M. Ireland: J. Endocrin., **30**, 131 (1964).
- 9) M. Ginsburg, M. Ireland: J. Endocrin., **32**, 187 (1965).
- 10) M. Ginsburg, M. Ireland: J. Endocrin., **35**, 289 (1966).
- 11) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: J. Physiol., **185**, 51P (1966).
- 12) D. B. Hope, M. D. Hollenberg: Biochem. J., **99**, 5P (1966).
- 13) C. R. Dean, M. D. Hollenberg, D. B. Hope: Biochem. J., **104**, 8C (1967).
- 14) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: Biochem. J., **105**, 921 (1967).
- 15) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: Biochem.

- J., **106**, 557 (1968).
- 16) C. R. Dean, D. B. Hope, T. Kazic: Brit. J. Pharmacol., **34**, 192P (1968).
- 17) 長沢佳熊, 福田秀男: 未発表.
- 18) 第 7 改正日本薬局方, 第 1 部, 脳下垂体後葉注射液の項.
- 19) 第 7 改正日本薬局方, 第 1 部, パソプレシン注射液の項.
- 20) B. T. B. Frankland, M. D. Hollenberg, D. B. Hope, B. A. Schacter: Brit. J. Pharmacol., **26**, 502 (1966).

積分球式濁度計による硫酸イオンの定量

長 沢 佳 熊・木 島 敬 二

Determination of Sulfate by the Turbidimeter with an Integrating Sphere.

Kakuma NAGASAWA and Keiji KIJIMA

A rapid turbidimetric method (Turbidimeter with an integrating sphere) for the determination of sulfate was described.

In order to form a stable barium sulfate suspension, a new procedure was studied as follows: standard solution of sulfate ion was treated with 0.3 ml of hydrochloric acid (2+1), 6 ml propylene glycol solution, 2 ml barium chloride solution (10%), and then mixed well, treated with a sonicator (20 kc), and measured the $T_d/T_t\%$ of the precipitates by a turbidimeter with an integrating sphere.

The proposed method was applied for water-soluble matter containing less than 15 $\mu\text{g/ml}$ of sulfate ion.

The coefficient of variation was not more than 6% in 2.5 and 5.0 $\mu\text{g/ml}$ of sulfate ion and an analysis required about 5 minutes.

(Received May 31, 1969)

1. 緒 言

硫酸イオンの吸光比濁法や散乱比濁法による定量法は数多くの研究報告^{1), 2), 3)}があり, また実用的には, 日本薬局方 (JP VII) 硫酸塩試験法⁴⁾, JIS (試薬) における混在する硫酸塩測定法⁵⁾などがあるが, 著者らは, 超音波細胞破砕器および積分球式濁度計を用いて, 硫酸イオン 1~5 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度範囲の定量を約 5 分で行なえる再現性のある方法を報告する. この方法は医薬品および生化学領域の微量のイオンおよび硫酸イオンの定量に十分応用できるかどうかを検討する基礎実験, および塩化ナトリウム試薬中の硫酸イオンの定量法を検討した.

2. 試薬および装置

2・1 試薬

塩酸 (2+1)

希塩酸: 塩酸 23.6 ml に水を加えて 100 ml とする.

塩化ナトリウム (試薬特級)

0.01 N 硫酸 (JP VII の方法により調製)

塩化バリウム溶液 (10%)

懸濁安定剤: プロピレングリコール 1 容および 96 V/V% エチルアルコール 1 容を混和する.

硫酸塩標準溶液: 硫酸カリウム (試薬特級) を 110° で乾燥し, その 0.1815 g を正確に量り, 水に溶かして 1000 ml とし, さらに 10 倍にうすめる. この液 1 ml は 0.01 mg SO_4^{2-} を含む.

2・2 装置

大岳製作所製超音波細胞破砕器 (20KC)

日本精密光学製積分球式濁度計 SEP-TU 型

2・2・1 濁度計の内部構造図

濁度計の内部構造図を Fig. 1 に示す.

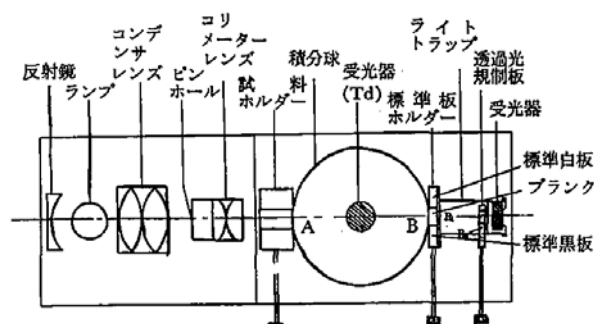


Fig. 1. Turbidimeter with an integrating sphere

2・2・2 濁度計の概要

光源ランプからの光はコンデンサーレンズに集められ、ピンホール、コリメーターレンズ、試料用セルを通り積分球にはいる。平行光線が試料セルを通過する際、セル中の濁りに基づく散乱光線は積分球の窓Aから入射し、受光器にはいる。この値を T_d (散乱光量) とする。この場合散乱しない平行光線はBに達し、ライトトラップで吸収除去される。つぎにライトトラップの代わりに標準白板 (酸化アルミニウム板) または標準黒板を入れると、平行透過光線はこの標準白板 (酸化アルミニウム板) または標準黒板で反射し、試料セル中の濁りに基づく散乱光線とともに、受光器で検出される。この値を T_t (散乱平行透過光量) とする。濁度の%は $T_d/T_t \times 100$ で表わされる。

3. 実験結果および考察

3・1 JP VII 中硫酸塩試験法により、標準溶液を調製し、超音波細胞破碎器で処理した場合の検量線の直線性

ネスラー管を用い 0.01N 硫酸を各々 0.05, 0.08, 0.12, 0.18, 0.27, 0.40 ml をとり、希塩酸 1 ml, および水を加えて 50 ml とする。つぎに塩化バリウム溶液 2 ml を加えてよく振り混ぜる。ビーカーに移し、3分間 ($28 \pm 2^\circ$) 超音波破碎器で処理し、この溶液を直ちに測定する。この結果を Fig. 2 に示す。硫酸イオンと T_d/T_t % との関係はかなり変動があり、満足すべき結果

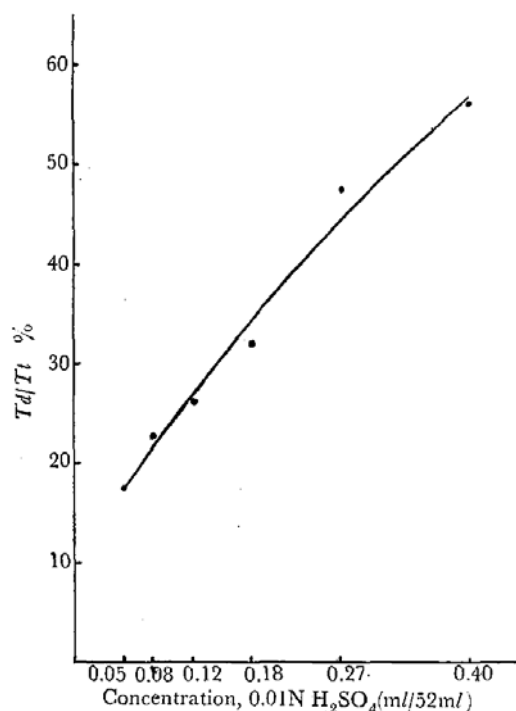


Fig. 2. Calibration curve

を得ることができなかった。この操作で得られた検量線は、再現性が悪いので、これを向上させるための検討を行なった。

3・2 硫酸バリウム沈殿生成条件の検討

3・2・1 超音波処理による硫酸イオン標準溶液の検量線の検討

測定操作をつぎに記載する。

硫酸塩標準溶液を共せん試験管にとり、水を加えて 20 ml とし、塩酸 (2+1) 0.3ml および懸濁安定剤 6ml を加え、つぎに塩化バリウム溶液 (10%) 2 ml を加え、30秒間振りまぜ、30秒間放置したのち、超音波細胞破碎器で3分間処理 ($28 \pm 2^\circ$) し、濁度を測定する。なお、試薬の添加順序などは JIS 試薬の方法を参考にした。また実験時の温度は $20 \sim 25^\circ$ で行なったが、超音波細胞破碎器で処理する間は $28 \pm 2^\circ$ で行なった。

3・2・1・1 塩酸濃度の影響

硫酸塩標準溶液 5 ml (SO_4^{2-} 50 μg を含む) に塩酸 (2+1) をそれぞれ 0.1, 0.3, 0.5 および 0.7 ml ずつ加え、水を加えてそれぞれ 20.3 ml とし、懸濁安定剤 6ml ずつを加えて以下 3・2・1 の操作にしたがって T_d/T_t % を測定した結果、Fig. 3 に示すとおりで、0.3, 0.5 ml のとき T_d/T_t が最も高く、しかも安定であった。

3・2・1・2 硫酸バリウム懸濁液の安定剤

硫酸バリウム懸濁液の安定性を得るために、種々の懸濁安定剤が研究されている。その代表的なものに、塩化ナトリウム-塩酸溶液、ゼラチン-塩化バリウム

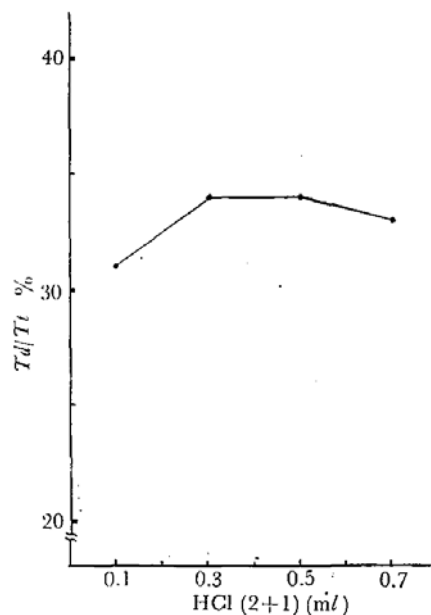


Fig. 3. Effect of hydrochloric acid concentration on the T_d/T_t % of $BaSO_4$ suspensions SO_4^{2-} concn., 2.5 $\mu g/ml$.

溶液, グリセリン-エタノール溶液⁶⁾, プロピレングリコール-エタノール等量混液⁷⁾ などがあり, 大道⁸⁾ はグリセリン-エタノール溶液, プロピレングリコール-エタノール溶液がすぐれているという。著者らも G.D. Supatos Nrili⁹⁾ の方法などを参考にして, プロピレングリコールおよびエタノールの等容量混液を用いた。すなわち, 硫酸塩標準溶液 5 ml (SO_4^{2-} 50 μg を含む) をとり, 塩酸 (2+1) 0.3 ml を加え, つぎに懸濁安定剤 3 ml, 6 ml および 9 ml を加え水を加えて 26.3 ml とし, 塩化バリウム溶液 2 ml を加え, 以下 3・2・1 の方法により試験をしたところ, 安定剤の使用量が 3 ml のとき, 10 回の測定値の標準偏差は 0.3, 6 ml のとき 0.15, 9 ml のときも 6 ml とほぼ同じ値を示したので, 6 ml を採用した。

3・2・1・3 超音波処理による試料溶液の安定性 (濁度の経時変化)

硫酸塩標準溶液 5 ml (SO_4^{2-} 50 μg を含む) をとり, 水を加えて 20 ml とし, 3・2・1 の方法により試験を行なった結果を Fig. 4 に示す。図中で A はうすめた硫酸塩標準溶液に試薬を添加後, 30 秒間振り混ぜ, 30 秒間放置, 3 分間超音波処理したのちそのまま放置し, 3 分ごとに濁度を測定したもの, また B は 30 秒間振り混ぜ, 30 秒間放置後 3 分ごとに測定したものである。この結果から B の場合は安定化するのに約 15 分間必要であるのに対し, A は 3 分間超音波で処理することにより, その後は安定した値が得られることがわかった。なお 6 分間処理を行なったものは 3 分間処理をしたものより 1.5% 高い $T_d/T_t\%$ を示した。

3・2・1・4 検量線の検討

以上のような検討により 3・2・1 の定量操作によって作成した検量線は 1~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度で直線関係があり, その結果を Fig. 5 の実線で示す。

3・2・2 定量法

以上の結果にしたがってつぎの定量法を定めた。試料溶液 20 ml (硫酸イオン 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上とする。ただし, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のときは適宜水でうすめる) を共せん試験管にとり, 塩酸 (2+1) 0.3 ml および懸濁安定剤 6 ml を加え, つぎに塩化バリウム溶液 (10%) 2 ml を加え, 30 秒間振り混ぜ, 30 秒間放置し, 超音波細胞破碎器で 3 分間処理 ($28 \pm 2^\circ$) し, 濁度を測定する (標準黒板法)。セルは 30 mm を用いる。この場合の検量線をあらかじめ作成しておき, 硫酸イオン量を求める。対照は空気とする。なお精度については, 2.5 および 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の硫酸イオン標準溶液を各 10 回本法で定量した結果, それぞれの変動係数は 6% 以下であった。

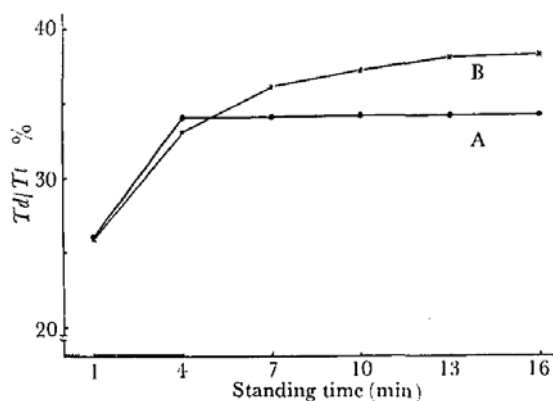


Fig. 4. Stability of $T_d/T_t\%$ on standing.

A: Curve treated with a sonicator

B: Curve no treated with a sonicator.

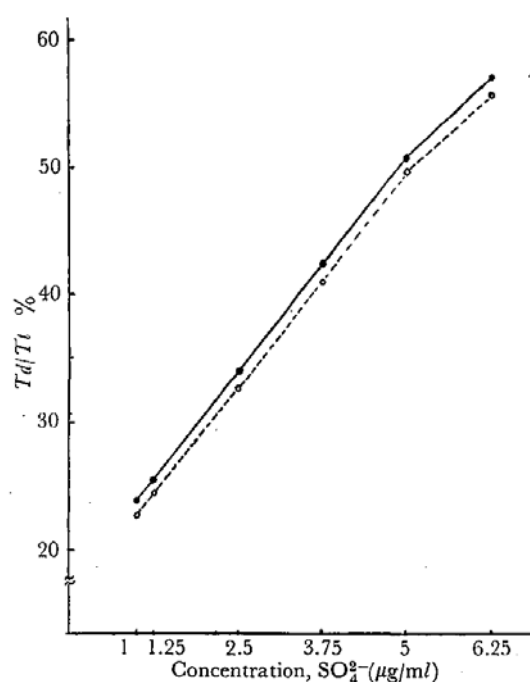


Fig. 5. Calibration curve

— NaCl none, --- NaCl added

3・2・3 塩化ナトリウム試薬中の硫酸イオン定量法の検討

試薬特級塩化ナトリウム (硫酸塩 0.002% 以下) 1g をとり, 硫酸塩標準溶液 2.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10 および 12.5 ml を加え, 3・2・2 の定量法にしたがい実験を行なった結果を Fig. 5 の点線で示す。このように塩化ナトリウムは, 明らかに影響するから, 検量線を作成するときには, 分析試料と同量の塩化ナトリウムを添加しなければならない。なお著者らが目的としている試薬一級および特級の塩化ナトリウム中の硫酸イオンの定量は, 標準試薬の塩化ナトリウム (硫酸塩 0.001% 以下) を用いて検量線を作成しても好ましい結果は得られないので現在検討中である。

文 献

- 1) G. Toennies, B. Bakay: Anal. Chem., **25**, 160 (1953).
- 2) J. W. Wimberley: Anal. Chim. Acta, **42**, 327 (1968).
- 3) J. C. Chaudhuri, A. D. Purohit, T. N. Bhargava: Current Sci, (India) **31**, 418 (1962); C.A. **58**, 5380 d (1963).
- 4) 日本薬局方第7版, p. 766 (昭36), 厚生省版.
- 5) 水谷三郎ら: 試薬および溶媒, p. 14 (昭41), 共立出版.
- 6) U. S. Public Health: Air Pollution Measurements of the National Air Sampling Network (1953~1957).
- 7) 横須賀繁, 白川彰一: 分析化学, **7**, 363 (1958).
- 8) 大道貞男: 分析化学, **12**, 1032 (1963).
- 9) G. D. Supatashvili: Gidrokhim Materialy, **33**, 138 (1961); C.A. **57**, 10946 i (1962).

医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究 (第1報)

輸液用プラスチック容器の物性に関する考察

大場 琢磨・堀部 隆・菊池 寛

Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. I
Examination on Physical Properties of Plastic Containers for Aqueous Infusions

Takuma ŌBA, Takashi HORIBE and Hiroshi KIKUCHI

Physical properties of the plastic container for aqueous infusion—transparency, permeability of steam, crush-resistance, tensile strength and thermostability—were investigated. Polyethylene, polycarbonate, polyvinylchloride, polypropylene and polypropylene copolymer which was more transparent than polypropylene homopolymer, were used for this experiment. Polycarbonate was better than the others with regard to the transparency, crush-resistance and thermostability, but had a high permeability of steam. Polyvinylchloride and low-density polyethylene had lower thermostability than the others, and high-density polyethylene had low transparency. Polypropylene nearly met these properties. Furthermore, the copolymer was superior to polypropylene homopolymer in point of transparency.

It was considered that the copolymer was suitable to the material of plastic container for infusion.

(Received May 31, 1969)

まえがき

プラスチック製の輸液用容器の試験法は、すでにアメリカ^{1,2)}, イギリス³⁾, スイス⁴⁾, フランス⁵⁾, スカンジナビヤ3国⁶⁾ およびドイツ⁷⁾ において、それぞれの国の公定書に収載されており、血液バッグ、ブドウ糖注射液またはリンゲル液などの輸液用容器、点眼液用容器などに広く使用されている。

厚生省においても1965年に塩化ビニル樹脂製血液セット基準⁸⁾を制定告示しているが、第八改正日本薬局方の一般試験法の中にプラスチック製輸液用容器の試験をとり入れる準備として、著者らはブドウ糖注射液、リンゲル液およびロック液などのプラスチック製容器(以下本容器)の物理的性質すなわち透明性、水蒸気透過性、耐衝撃性、耐熱性、耐水蒸気滅菌性を研究し、どのようなプラスチック材料が本容器に適合するものであるかを検討した。

一般にプラスチック製の輸液用容器はガラス製のそれにくらべて優れた点は、(1)軽量である、(2)破壊しにくい、(3)廉価である、(4)ゴム栓を使わないので、ゴム屑が入らない、(5)使用後処理し易いなどがあげられる。反面、欠点としては、(1)高熱滅菌が行ないにくい、(2)透明性に欠ける、(3)添加剤が溶出する恐れがあるなどであるが、品質の改良はいちじるしいので漸次欠点が少なくなり、現在でも使用可能なものがいくつかあるが、将来さらに開発が進みポリメチルペンテンなど、より透明で耐熱性のよい材料が多く実用化されるものと期待している。今回はポリプロピレンよりも透明性のよいものとして、プロピレンを主体とした共重合体に着目し容器を試作させ試験に使用した。

実験材料

次の材質で作られた内容 500 ml および 100 ml のびんの形をした容器を使用した。

(1)三井石油化学側製中低圧法ポリエチレン (PE-L)

リン酸コデイン (局方Ⅶ適品) を用いて 100 倍散を調製し, 局方Ⅶに従ってコデインを抽出し, クロロホルム抽出液 85 ml に非水滴定用氷酢酸 10 ml を加え, 0.02 N 過塩素酸で滴定し, 回収率を確かめた (Table 5).

10倍散条件についても同様の検討を加えたが, 100倍散の場合と同じく十分利用しうることが証明された。

Ⅲ. 定量値の比較

局方Ⅶに含量規定のない塩酸エチルモルヒネおよび塩酸コカインを除き, 他の全品目について 7 局法と非水滴定法とによる定量値をそれぞれ比較した。その結果を Table 6 に示す。

考 察

第 8 改正薬局方に採用される非水滴定法は, 他の多くの外国薬局方に見られるものと同じく指示薬法である。しかし, 指示薬法では化合物の違いで中和点の色調が異なること, 変色点が塩化メチルロザニリンでは見にくいなど難点が残されており, 今後 IP (1967), USP XVII のように電位差滴定法を用いてもよいといった方法に切りかえるべきではないかと思われる。

非水滴定の際に沈殿を生じやすいものにリン酸コデインと塩酸オキシコドンがあった。沈殿の生成は滴定の終点における指示薬の色調をかえ, 滴定誤差を生ず

る原因になることもあるのでこれをさける必要がある。沈殿は麻薬の過塩素酸塩で, 溶剂量を増加するか, あるいは試料をあらかじめ乾燥することなどで, その析を防ぐことができた。しかしどちらの方法をとるべき出かは, そのものの乾燥による変質等を考慮してきめなければならない。

リン酸コデインおよびリン酸ジヒドロコデインの倍散では, 賦形剤の乳糖が過塩素酸を消費するので, 抽出法を併用しなければならなかった。そして倍散についても, 抽出に用いたクロロホルム溶液に非水滴定用氷酢酸を加えて過塩素酸で滴定したところ, 空試験値はほとんど一定値を示し, 乳糖の影響を除くことができ, 回収率も 99.92 % と良好であった。

各品目について 7 局法と非水滴定法による定量値を比較したが, 後者が若干高い値を示し, かつ, ばらつきも少なかった。本法の適用で, 新薬局方における麻薬の定量法は改良進歩したといえるであろう。

文 献

- 1) 朝比奈晴世, 高橋一徳: 衛生試験, **85**, 75 (1967).
- 2) 朝比奈晴世, 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試験, **86**, 18 (1968).
- 2) M. Ōno, B. F. Engelke, C. C. Fulton: Bull. on Narcotics, **XXI** (No. 2), 31 (1969).

吸光度定量法における誤差の原因について

長沢佳熊・川村次良・木島敬二・太田美矢子

The Source of Errors on the Spectrophotometric Determination

Kakuma NAGASAWA, Jirō KAWAMURA, Keiji KIJIMA and Miyako ŌTA

Spectrophotometric data obtained from different spectrophotometers for a given standard frequently show fluctuating values. This is, in part, due to the difference in sensitivity of the instruments involved.

The three kinds of instruments surveyed in this study were the Beckman DU, Shimadzu QV-50, and Hitachi EPU-2A. The sensitivity curve of each instrument was determined using the Jena BG 14-209 and Corning HT Yellow N-17. These were then compared to the NBS transmittance data for these filters. Three showed similar sensitivity curves.

When these instruments were used in the determination of the reference standard vitamin A oil and thiamine hydrochloride solution distributed by this institute, a range of error of 0.2~0.3% was noted between the Shimadzu QV-50, No. 1 and QV-50, No. 2, and 0.4% between the Shimadzu QV-50, No. 2 and Beckman DU, No. 1. The range of error between the Hitachi and Beckman was found to be 1.3%.

(Received May 31, 1969)

医薬品分析用標準品の定量において、吸光度定量法にのみ依存しなければならないものがある。この場合、ある会社製分光光度計と他社製分光光度計の間に、また、あるときは、同一会社製の分光光度計の間でさえも定量値がよく一致しないことが、しばしば経験される。その際、定量値の変動をいかに消去するかが問題となる。

著者らは、すでに吸光度定量法における誤差の原因を塩酸チアミン液およびビタミンA油について検討し、塩酸チアミン液の例のように標準物質との比較法によるときは、発色による定量であってもかなり一定の定量値が得られるが、ビタミンA油の例のように、一定のE値と比較する方法では、まず、機種によってその定量値は大きな差が認められることを報告¹⁾した。すなわち、NBS 標準フィルター (NBS フィルター) に対する感度特性の異なる日立 EPU 2A 型分光光度計とベックマン DU 型分光光度計を用いて行なった一定のE値と比較する方法では、約1.3%の定量誤差を認めた (3.3参照)。しかし、この場合に限り、この値を補正值として定量値を補正することができると考えられる。

次に、波長に誤差を認めた^{*}、直読式の日立 EPU 2A 型を除いて波長をジジウム標準フィルターおよび水銀ランプの輝線を用いて校正し、吸光度は NBS フィルターを用いて検定して、その感度特性の類似した島津 QV 50 型分光光度計およびベックマン DU 型分光光度計を選び、それらの機差と定量値の関係を検討したところ、島津 QV50 型2台の定量値は 0.2~0.3% 以内で、島津 QV50 型とベックマン DU 型の定量値では 0.4% 以内で一致することがわかった。なお、この実験では、各測定者には試料の測定値を全く知らせず、特に、当所と武田薬品工業株式会社試験部で行なわれた測定値は全く独立に行ない、測定終了後、測定値を整理することになっている。

1. 装 置

ベックマン DU 型、島津 QV50 型1号分光光度計および NBS フィルターは武田薬品工業株式会社所有のものを同社大阪工場試験部が使用し、島津 QV 50 型2号および日立 EPU 2A 型分光光度計は当所の所有するものを著者らが用いた。

2. 実験方法

2.1 チオクロム法による塩酸チアミン液の定量

(1) 標準液の調製 国立衛生試験所標準品塩酸チアミン標準品を 105° で恒量になるまで乾燥し、その

約 20 mg を精密に量り、0.001 N 塩酸を加えて正確に 1000 ml とし、標準液とする。

(2) 試料溶液の調製 塩酸チアミン液 2 ml を正確に量り、0.001 N 塩酸を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液 (塩酸チアミン約 20 µg/ml 含有) とする。

(3) 操作 試料溶液 5 ml ずつを試験管 A および B に正確に量り、A には臭化シアン試液 3 ml を加えて振り混ぜたのち、水酸化ナトリウム溶液 (1 → 10) 5 ml をすみやかに加えて振り混ぜる。B には水酸化ナトリウム溶液 (1 → 10) 5 ml を加えて振り混ぜたのち、臭化シアン試液 3 ml を加えて振り混ぜる。別に標準液 5 ml ずつを試験管 A' および B' に正確に量り、試料溶液と同様に操作をする。それぞれの液につき、水を対照として層長 10 mm、波長 368 mµ における吸光度を測定して EA, EB, EA' および EB' とし、EA' - EB' を 20 µg/ml に対する値に換算して E とする。

$$\text{塩酸チアミンの量 (\%)} = \frac{EA - EB}{E} \times 100$$

2.2 紫外吸収法によるビタミンA油の定量

(1) 操 作 1 g 中 all-trans ビタミンAアセテート

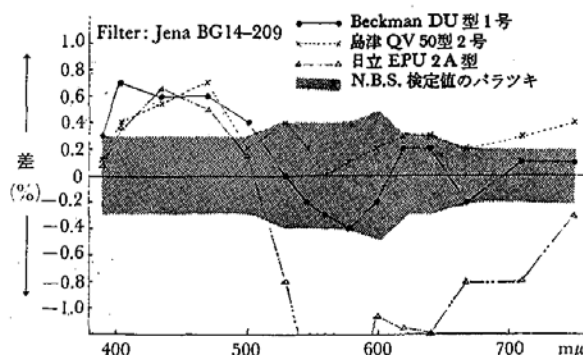


Fig. 1. N. B. S. 吸光度標準フィルターの検定値と各機器による検定値の差

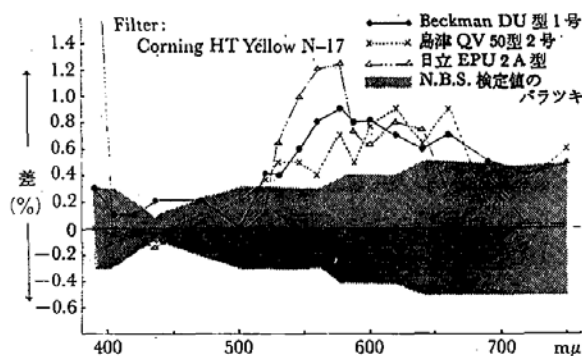


Fig. 2. N. B. S. 吸光度標準フィルターの検定値と各機器による測定値の差

* 日立 EPU 2A 型分光光度計では、472~478 mµ の間で 3 mµ の誤差を示したものがあつた。

Table 1 チオクロム法による塩酸チアミン液の試験成績

試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数			D	測定回数
	使用機器*	Beckman DU型		Beckman DU型				日立 EPU 2A型	
1	第1日目	100.9%	6 6	100.2%	6 6			100.2%	10
	第2日目	100.7		100.0				—	
	平均	100.8		100.1				100.2	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数			D	測定回数
	使用機器*	Beckman DU型		Beckman DU型				日立 EPU 2A型	
2	第1日目	99.6%	9 9	100.2%	9 9			100.3%	10
	第2日目	99.9		100.0				—	
	平均	99.8		100.1				100.3	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数	C	測定回数	D	測定回数
	使用機器*	Beckman DU型		Beckman DU型		Beckman DU型		日立 EPU 2A型	
3	第1日目	100.1%	6 6	101.0%	6 6	100.0%	6 6	100.0%	10
	第2日目	100.4		100.4		100.1		—	
	平均	100.2		100.7		100.0		100.0	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数			D	測定回数
	使用機器*	Beckman DU型		Beckman DU型				日立 EPU 2A型	
4	第1日目	100.5%	4 4	100.4%	4 4			100.2%	8
	第2日目	100.5		100.7				—	
	平均	100.5		100.6				100.2	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数	C	測定回数	D	測定回数
	使用機器	Beckman DU型 1号		Beckman DU型 2号		Beckman DU型 3号		島津QV 50型 2号	
5	第1日目	100.0%	10 10	99.7%	10 10	99.8	10 10	100.1%	10
	第2日目	100.0		99.9		100.2		—	
	平均	100.0		99.8		100.0		100.1	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数	C	測定回数	D	測定回数
	使用機器	Beckman DU型 3号		Beckman DU型 2号		Beckman DU型 1号		島津QV 50型 2号	
6	第1日目	100.4%	8 8	100.2%	8 8	100.3%	10 10	99.8%	10
	第2日目	100.4		100.7		100.3		—	
	平均	100.4		100.4		100.3		99.8	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数			D	測定回数
	使用機器	Beckman DU型 1号		Beckman DU型 1号				島津QV 50型 2号	
7	第1日目	99.8%	8 8	100.2%	8 8			100.2%	10
	第2日目	100.1		100.1				—	
	平均	100.0		100.2				100.2	
試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数	C	測定回数	D	測定回数
	使用機器	Beckman DU型 1号		Beckman DU型 2号		Beckman DU型 3号		島津QV 50型 3号	
8	第1日目	100.6%	6 6	100.5%	6 6	100.1%	6 6	100.5%	10
	第2日目	100.4		100.8		100.3		—	
	平均	100.5		100.6		100.2		100.5	

* 試料1～4の使用機器は、Beckman DU型分光光度計4台を測定者によって任意に使用した。

Table 2 紫外吸収法によるビタミンA油の試験成績

試料	測定者	A	測定回数	B	測定回数			D	測定回数
	使用機器*	Beckman DU型		Beckman DU型				日立 EPU 2A型	
中間製品 1	第 1 日	102.1%	3	102.2%	3			103.5%	3
	第 2 日								
	第 3 日								
	平均								
製品 1	第 1 日	98.9%	3	99.1%	3			100.2%	12
	第 2 日	98.8	3	98.9	3			—	
	第 3 日	99.0	3	98.9	3			—	
	平均	98.9		99.0				100.2	
中間製品 2	第 1 日	103.8%	2	104.0%	2	105.1%	2	104.4%	2
	第 2 日	104.2	2	104.0	2	104.4	2	104.5	2
	第 3 日	104.1	2	103.1	2	104.6	2	104.2	2
	平均	104.0		103.7		104.7		104.4	
製品 2	第 1 日	99.5%	6	99.7%	6	100.6%	6	100.3%	6
	第 2 日	99.5	6	99.7	6	99.9	6	100.2	9
	第 3 日								
	平均	99.5		99.7		100.2		100.2	
製品 3	第 1 日	100.6%	3	100.4%	5	100.8%	6	100.9%	6
	第 2 日	100.6	3	100.8	6	—		—	
	第 3 日								
	平均	100.6		100.6		100.8		100.9	
製品 3	第 1 日	100.8%	3	101.0%	5	101.0%	6		
	第 2 日	100.7	3	100.9	6	—			
	第 3 日								
	平均	100.8		101.0		101.0			

約 10,000 国際単位を含むように精製ゴマ油に溶かして調製された油液約 0.8 g を精密に量り、イソプロパノールに溶かして正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、イソプロパノールを加えて正確に 100 ml とし、この液につき、層長 10 mm で波長 326 mμ における吸光度を測定し、 $E_{1cm}^{1\%}$ を計算する。

all-trans ビタミンAアセテートの量(%)

$$= \frac{E_{1cm}^{1\%}}{5.30} \times 100$$

ただし、20°における all-trans ビタミンAアセテートの $E_{1cm}^{1\%}$ (326 mμ, イソプロパノール) を 1540、したがって 1 g 中 all-trans ビタミンAアセレート 10,000 国際単位を含む油液の $E_{1cm}^{1\%}$ (326 mμ, イソプロパノール) を 5.30 とした。

3. 実験結果

3・1 NBS フィルターによる検定結果

ベックマン DU 型 1 号、島津 QV50 型 2 号および日立 EPU 2A 型分光光度計を用いて NBS フィルター

Jena BG 14-209 および Corning HT Yellow N-17 を測定した値と NBS における検定値との差を Fig. 1 および Fig. 2 に示す。ベックマン DU 型と島津 QV 50 型はかなり類似した特性を示したが、日立 EPU 2A 型は大きい異常値を示した。

3.2 塩酸チアミン液の定量結果

2.1 の方法によって塩酸チアミン液を定量した結果を Table 1 に示す。標準物質を用いる場合、NBS フィルターで検定の際異常値を示した日立 EPU 2A 型分光光度計を用いても、その定量値はベックマン DU 型分光光度計の定量値と 0.7 % 以内で一致した。

3.3 ビタミンA油の定量結果

2.2 の方法によってビタミンA油を定量した結果を Table 2 に示す。NBS フィルターの検定で異常値を示した日立 EPU 2A 型分光光度計を用いた定量値は、ベックマン DU 型分光光度計の定量値に比較して約 1.3 % の差を認めた。しかし、NBS フィルターの検定でその特性が近似したベックマン DU 型 1 号と島津 QV 50 型 2 号によるそれぞれの定量値は、試料の製品 2 の 1 例 (0.7%) を除き、0.4% 以内で一致し、同一機種の島津 QV 50 型 1 号と 2 号およびベックマン DU 型 1 号と 2 号によるそれぞれの定量値は 0.2~0.3% 以内で一致した。

ビタミンA油の定量結果では、以上のような成績を収めたが、けい光や散乱光の強い試料では、別の機種間における誤差が、それぞれの試料に応じて検討されなければならないと思われる。また、今回使用した NBS フィルターは可視領域の検定のみしかできないものであるが、実際定量に用いられる波長領域を NBS フィルターのようなもので検定できるならば、一層機器間の差による定量値の誤差を小さくできると考えられる。

以上の成績から、一般にあらかじめ定めた E 値によって吸光度による定量を行なうことは、標準品を使う方法より誤差が大きくなり、その大きな原因は機器の種類によることがいえる。また、当所のビタミンA油および塩酸チアミン液標準品は、以上の誤差範囲で定量し、平均値をとっている。

終わりに、この実験に協力いただいた武田薬品工業株式会社に深謝する。

文 献

- 1) 長沢佳熊ら：標準品を用いる分光光度法による定量値の再現性について 日本分析化学会・日本化学会共催、分析化学討論会 (1967. 2. 7.)

N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン とアンスラニル酸の水溶液中での反応

山羽 力・朝比奈正人

Reaction of N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and Anthranilic Acid in Aqueous Solution

Tsutomu YAMAHA and Masato ASAHINA

When C^{14} -labelled N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine was incubated with anthranilic acid in aqueous solution under the moderate conditions, methyl anthranilate, N-methyl and N-nitroguanyl anthranilic acids were formed though in low yields, especially the methylation being most favorable at pH 4.0.

(Received May 31, 1969)

杉村らは強い突然変異物質である N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NG) を水溶液として、ダイコクネズミに飲料水のかわりに与え、高率に腺胃ガンを作ることに成功した¹⁾。それ以来、NG と核酸あるいはタンパク質の相互作用について多くの研究がなされ、核酸塩基、とくにグアニンの 7 位の炭素のメチル化^{2), 3)} およびタンパク質のリジン残基の ε-アミノ

基のニトログアニル化^{4), 5)} が報告されている。

著者らはメチル炭素およびグアニジン炭素を ^{14}C で標識した NG とアンスラニル酸の水溶液を温和な条件で反応させ、メチル化およびニトログアニル化の程度を比較検討した。アンスラニル酸を受容体として選んだ理由は、その分子中にメチル化、ニトログアニル化を受けやすいカルボキシル基およびアミノ基をもつこ

とと、このものまたはその誘導体が紫外線下で強い蛍光をもつため、反応生成物の確認が容易であることによる。

実験材料および方法

試 薬

[メチル- ^{14}C] NG (4.2 mCi/mmol) および [グアニジノ- ^{14}C] NG (3.8 mCi/mmol)：第一化学薬品より購入，キャリア NG で適当な比放射能に希釈して用いた。

N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NG)：Aldrich Chemical 社製。

アンスラニル酸，アンスラニル酸メチル，N-メチルアンスラニル酸：東京化成製。

薄層クロマトグラフィー

シリカゲルプレート（東洋ろ紙クロマトシート）を用い，溶媒(1) n-プロパノール：n-ブタノール：エタノール：濃アンモニア水（6：3：3：2）または(2) 0.2 M リン酸-水素ナトリウム飽和イソアミルアルコールで展開後，紫外線（マナスライト 2536 Å）で蛍光を，またラジオクロマトグラムスキャナー（Packard Model 7200）で放射能の分布を調べた。

放射能の計測

薄層クロマトグラム上の放射能をもつスポットをかきとり，メタノール 1 ml で溶出後，トルエンシンチレータ液（PPO 6 g, POPOP 0.5 g/l トルエン）を用い，Packard Tricarb 314 EX シンチレーションスペクトロメーターで計測した。

実験結果

1) [メチル- ^{14}C] NG を用いた場合

アンスラニル酸 3.64 μmoles と [メチル- ^{14}C] NG 7.45 μmoles (0.41 μCi) を含む各種 pH 溶液 0.4 ml を室温で遮光して 24 時間放置後，凍結乾燥し，これを 0.1 ml のメタノールに溶かし不溶成分を遠沈し，その上清 50 μl をシリカゲルプレートにスポットして溶媒(1)で展開する。同時にアンスラニル酸，アンスラニル酸メチルエステルおよび N-メチルアンスラニル酸の標準品を展開し，それぞれのスポットの位置を紫外線下の蛍光により調べる。一方，放射能の分布をクロマトスキャナーで調べると，pH 4.0, 7.0, 10.0 で反応させた場合，Fig. 1 に示すような結果が得られる。

アンスラニル酸メチルと N-メチルアンスラニル酸に相当するスポットの放射能を測定し，反応に用いた [メチル- ^{14}C] NG に対する収率を計算すると Table 1 のようになる。

これから解るように pH 4.0 の場合が最もメチル化

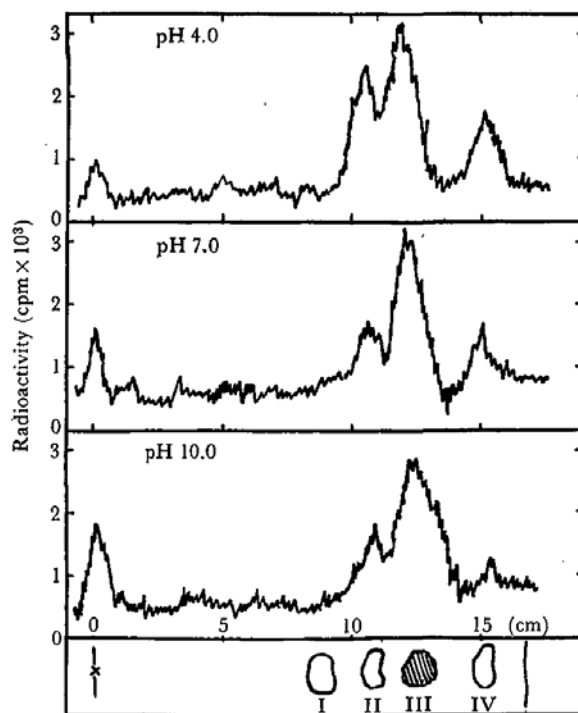


Fig. 1. Thin-layer chromatogram of the reaction products of [methyl- ^{14}C] NG and anthranilic acid at the different pHs

- I. anthranilic acid,
II. N-methyl anthranilic acid,
III. NG, IV. methyl anthranilate

Table 1. Recovery of [methyl- ^{14}C] anthranilate and N-[methyl- ^{14}C] anthranilic acid

pH	[methyl- ^{14}C] anthranilate	N-[methyl- ^{14}C] anthranilic acid
4.0	0.55%	0.41%
7.0	0.19	0.14
10.0	0.18	0.05

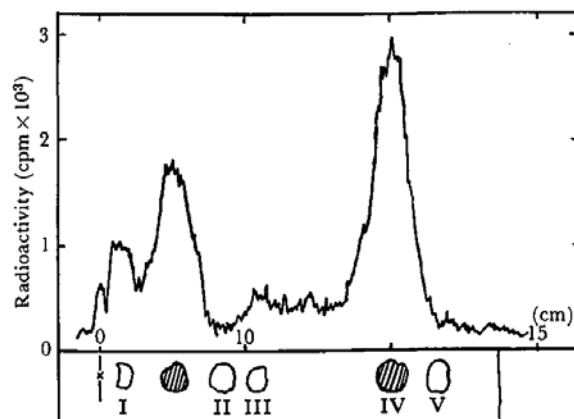


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of the reaction products of [guanidino- ^{14}C] NG and anthranilic acid at pH 7.0

- I. nitroguanyl anthranilic acid,
II. anthranilic acid,
III. N-methyl anthranilic acid,
IV. NG, V. methyl anthranilate

の収率がよい。pH 10.0 でエステル化の値が低いのはアルカリ性のため、生じたエステルが加水分解する可能性も考えられる。N-メチランスラニル酸は未反応の〔メチル¹⁴C〕NGとスポットの位置が近いので、N-メチル化の収率については余り正確な値は望めず、ここに得られた数値も幾分高い値を示していると思われる。また、pH 1.0の場合はNG自身のニトロ基がはずれるためか、メチル化はほとんど認められなかった。

2) 〔グアニジノ-¹⁴C〕NGを用いた場合

アンスラニル酸 11.2 μ moles, リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) 50 μ moles, 〔グアニジノ-¹⁴C〕NG 11.9 μ moles (4.5 μ C) を含む反応液 2 ml を室温で遮光して24時間放置後減圧乾燥し、エタノール 1 ml に溶かし、その遠沈上清 10 μ l をシリカゲルプレートにスポットし、溶媒(2)で展開後、紫外線およびクロマトスキャナーで調べ

ると Fig. 2 のようになる。

スポット I は紫外線下に強い白色の螢光をもち、IRおよび呈色反応(遊離アミノ基の反応陰性)などにより、アンスラニル酸のアミノ基がニトログアニル化された物質と予想される。このものをプレートからかきとって放射能を測定すると、その収率は反応に用いた〔グアニジノ-¹⁴C〕NGの0.62%に相当する。

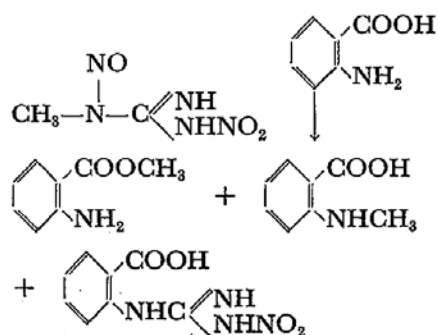
結 論

以上の結果からNGとアンスラニル酸を水溶液中で温和な条件で反応させると、低収率だが、下記に示すようにアンスラニル酸のメチルエステル化、N-メチル化およびニトログアニル化が起ることが分った。

終りに本研究に終始御鞭達をいただいた国立衛生試験所長石館守三博士に感謝の意を表する。

文 献

- 1) T. Sugimura, S. Fujimura: *Nature*, **216**, 943 (1967).
- 2) V. M. Graddock: *Biochem. J.*, **106**, 921 (1968).
- 3) P. D. Lawley: *Nature*, **218**, 580 (1968).
- 4) 横島徹意, 長谷川賢, 藤村真示, 杉村隆: *生化学*, **40**, 457 (1968).
- 5) T. Sugimura, S. Fujimura, M. Nagao, M. Yokoshima, M. Hasegawa: *Biochim. Biophys. Acta*, **170**, 427 (1968).



医療用プラスチックの物理的ならびに化学的研究 (第3報)

滅菌済み輸液, 輸血セットの包装について

大場琢磨・伊東 宏・堀部 隆・水町彰吾
篠崎 正・菊池 寛

Studies on Physical and Chemical Properties of Plastics for Medical Use. III On Packaging of Sterilized Disposable Transfusion and Infusion Sets

Takuma ŌBA, Hiroshi ITO, Takashi HORIBE, Shōgo MIZUMACHI,
Tadashi SHINOZAKI and Hiroshi KIKUCHI

Seventeen samples of disposable transfusion and infusion sets were studied on their packing envelope, which were made of synthetic resin film and classified into single and double envelope systems. The films of double envelopes now in use were made of polyethylene or polypropylene and that of single were polyethylene, polycello or nylon. Pinhole of the films were tested after they were dropped down to a concrete floor from 1.2 m in height.

As the results, pinhole resulted in many films, and it was concluded that the thickness of the film must be not less than 0.06 mm even in double envelope system, and a strong film such as nylon or polyester must be available in single envelope system.

(Received May 31, 1969)

副腎皮質ホルモン含有軟膏類の試験成績

長沢佳熊・越村栄之助・川村次良・中路幸男
木村俊夫・木島敬二・太田美矢子

On the Results of the Tests of Ointments and Creams Containing Glucosteroids

Kakuma NAGASAWA, Einosuke KOSHIMURA, Jiro KAWAMURA, Yukio NAKAJI,
Toshio KIMURA, Keiji KIJIMA and Miyako ŌTA

One hundred and forty one ointment and cream preparations collected from their makers for the systematic inspection requested by the minister in 1968 were tested. The results were shown as follows.

glucosteroid % for the labelled amount	Nos. of preparations
0~ 10	1
41~ 50	1
61~ 70	1
71~ 80	7
81~ 90	28
91~100	49
101~110	33
111~120	15
121~130	2
131~140	4

(Received May 31, 1969)

昭和43年度一斉収去試験として集められた副腎皮質ホルモン（糖質）含有の市販軟膏，クリーム類 141 製品についての試験成績を報告する。

1. 含有ホルモン

ホルモンの種類 12. 酢酸ヒドロコルチゾン 4, プレドニゾロン 35, 酢酸コルチゾン 21, ヒドロコルチゾンおよびデキサメサゾンそれぞれ 11, トリアムシノロン・アセトナイド 7, フルオシノロン・アセトナイド 3, 酢酸メチルプレドニゾロン 2, 吉草酸ベタメサゾン, メタスルホ安息香酸デキサメサゾン・ナトリウム*, ホルモコルタール, リン酸デキサメサゾン・ナトリウム*それぞれ 1. (*は水溶性)

2. 基 剤

流動パラフィン, ワセリン, 各種の植物油などの親油性のもの, ポリエチレングリコールなどの親水性のもの, そのほか, 多種多様である。

3. 配合剤

抗生物質, 殺抗菌剤, 抗ヒスタミン剤, 皮膚賦活剤, ビタミン剤, 局所麻酔剤, 防腐剤, 香料などが含まれ

ているが, 全製品中の 5% 以上を占めているものをつぎに掲げる。ただし, 抗生物質は, 抗菌性物質製剤基準によるものが今回の試験から除かれているので, その数が少なく, 5% 以下であった。

スルファジアジン, スルフィソミジン, ヘキサクロロフェン, ビチオノール, 塩酸ジフェンヒドラミン, アラントイン, 塩酸ピリドキシン, 酢酸トコフェロール, 塩酸ジブカイン, パラオキシ安息香酸アルキル, ハッカ油, ローズ油。

4. 試験法

4.1. 申請書に記載された試験法では, 定量法のあるもの 67, 確認試験は記載されているが定量法の記載のないもの 54, 確認試験および定量法を全く欠くもの 20 (そのうち定量不可能, または困難, あるいは研究中であると記載して故意に定量法を記載していないもの 5)。

4.2. 定量法の種類は, 紫外部吸収法 20(6) (そのうち訂正取消 3), トリフェニルテトラゾリウムクロリド (TPTC) 法 21(26), ブルーテトラゾリウム (BT) 法

Table 1 2種以上の定量法を必要とした試料の成績

試料番号	UV 法	TPTC 法	BT 法	INH 法
1			48	86
2			30	106
3			77	107
4			151	107
5			71	114
6			0	83
7			36	77
8			0	87
9			0	138
10			27	86
11			116	35
12			178	135
13			26	47
14			37	93
15			35	75
16	171		78	95
17	285		74	102
18			49	91
19			61	108
20	170		85	96
21			36	97
22			44	85
23			0	112
24			136	81
25	137		73	106
26			8	88
27			41	72
28		426		112
29			327	104
30			60	103
31			68	92
32			72	76
33	551	71	68	78
34			81	85

Table 2 含量に対する製品数の分布

含 量	製品数	含 量	製品数
0~10%	1	101~110%	33
41~50	1	111~120	15
61~70	1	121~130	2
71~80	7	131~140	4
81~90	28	合 計	141
91~100	49		

14 (11), イソニコチン酸ヒドラジド (INH) 法 6 (19), Porter-Silver (PS) 法 1 (1), ジブチルパラクレゾール (DBC) 法 4 (4), パラアミノジメチルアニリン・塩化すず (PADA・Sn) 法 1 (0) である。ただし, () 内の数は当所で実際に行なった数である。

4.3. 前操作法

(1) 試料にそのままエタノールを加えて熱時かき混ぜ, 冷後ろ過する。

(2) ベンゼンに溶かし, 吸着剤として乾燥シリカゲルまたはセライトなどを用いる液体カラムクロマトグラフ法を行なう。

(3) そのほかの方法として, ジラル試薬, 溶媒間の分配を利用するものなど種々の方法があるが省略する。

5. 成 績

申請書記載の方法に必ずしも依存しないで, 定量法の記載のないものを含めて, まず, TPTC 法を主体として定量し, 参考値として UV 法を併用した。それらの中で, 定量値が著しく高いものまたは低いものについては INH 法で測定し, それでも低いもので, 申請書に記載されたものは, その方法をも検討した。2 種以上の定量法を適用したものは Table 1 のとおりである。

UV 法は波長約 240 mμ の吸光度, TPTC 法および BT 法はコルチコイドの C-21-OH の還元性, INH 法はコルチコイドの C-3 のケトンと C-4 および C-5 間の二重結合, すなわち, α, β-不飽和ケトンによる反応で, したがって, UV 法ではしばしばフェノール性の約 280 mμ の極大吸光度を持つものが影響し, BT 法および TPTC 法では, 乳糖, 果糖のような, 糖の還元性が陽性に反応し, INH 法では, テストステロン, プログステロン, 鉱質コルチコイド (デスオキシコルトンなど) も反応するので, それらの異なった反応基による 2 方法以上の定量法を併用することが必要で, また, ある場合には, クロマトグラフ法, 溶媒抽出法によって, コルチコイドの分離を行なってから, 前述の各方法を用いた場合もある。それらのくわしい報告は, 別に研究報告として本誌次号に発表する予定である。

これらの値は, その方法を検討し, 理由のつく場合は 100 % に近い値を採用して含量とした。その結果を Table 2 に示した。

以上を通覧し, 不良と明らかに結論づけられるものは 50 % 以下の 2 製品で, 全試料数 (141 製品) の約 1.4 % に相当する。

昭和43年度におけるビタミンの特行試験ならびに一斉取締試験成績

山羽 力・足立 透・渡辺邦子・高橋昭江

Results of the Special Tests Requested by the Minister and the Tests for Systematic Inspection of Vitamins in 1968

Tsutomu YAMAHA, Tōru ADACHI, Kuniko WATANABE and Terue TAKAHASHI

As the results of the systematic inspection of so called "drinking" vitamin preparations in 1968, two of 48 samples tested were out the range between 90 and 140% of the described contents, when thiamine-hydrochloride or -nitrate and ascorbic acid were determined.

In the special tests requested by the Minister of Health and Welfare in 1968, it was concluded that thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide was replaced by thiamine disulfide in the imitated "Arynamin F-25" preparation and that vitamin D was not detected in the poisonous rice oil (Kanemi oil).

(Received May 31, 1969)

1. 特行試験

1) ビタミン剤 台湾政府からの依頼で総理府特別地域連絡局長および薬務局長を経て依頼されたものである。

品目、試験項目および件数 B₁剤錠 (チアミンプロピルジスルフィド, B₂) 1件, E剤錠 (E酢酸エステル) 1件, 栄養内服液 (B₁, B₂, C, FMN) 2件, 混合ビタミン剤錠 (B₁, B₂, C) 1件. カッコ内は試験項目を表わす。

試験結果 多くのものは表示量の95~140%を含んでいたが, 栄養内服液のうちB₁が44%および3%以下, Cが66%のものがあつた。

2) 「アリナミンF25」模造品

試験項目 i) 検体甲および乙についてチアミンテトラヒドロフルフリルジスルフィドの含有の有無. ii) 含有されていない場合はチアミンジスルフィド, 遊離チアミンおよびビタミンB₂の含量。

試験結果 i) 検体甲および乙について薄層クロマトグラフィーを行なったところ, チアミンジスルフィド, 遊離チアミンおよびビタミンB₂に相当するスポットは認められたが, チアミンテトラヒドロフルフリルジスルフィドに相当するスポットは認められなかった。チアミンジスルフィドに相当するスポットを溶出後, I.R. で調べるとチアミンジスルフィド標品と

一致したスペクトル像が得られた。ii) 本品中のチアミンジスルフィド, 遊離チアミンおよびビタミンB₂の含量は前表のとおりである。

なお, ガーリック粉末の試験については生薬部で行なった。

3. ライスオイル ライスオイル中毒事件発生当初, オイル中のビタミンDが原因ではないかという説があつたので本試験を行なった。

品目および試験項目 ライスオイル中のビタミンDの定量。

試験結果 ライスオイルの不純化物を薄層クロマトグラフィーで調べたところ, ビタミンDに相当する成分は検出できなかった。その後, 中毒の原因物質が明らかになったので, これ以上の実験は中止した。

2. 一斉取締試験

この試験は大阪支所と協同行なつたが, ここに本所の分について報告する。

品目 塩酸チアミン, 硝酸チアミンまたはアスコルビン酸を配合したいわゆるドリンク剤 (アンプルに充填されたものを除く)。

試験項目および件数 塩酸チアミン, 硝酸チアミンおよびアスコルビン酸の定量試験。 (総数48検体中の内訳は塩酸チアミン24件, 硝酸チアミン20件, アスコルビン酸11件)。

試験方法 塩酸チアミンの定量は試料を希釈して測定に適当なB₁濃度にしたのち, パームチット吸脱着操作を行ない, 常法通りにチオクローム蛍光法で測定する。硝酸チアミンの定量は塩酸チアミンと同様に操作し, 塩酸チアミン標準品を用い, 同様に計算した値に0.9706を乗じて検液中の硝酸チアミン含量とする。

検 体	チアミン ジスル フィ ド	遊離チアミン (塩酸チアミ ンとして)	ビタミン B ₂ (リボフラミ ンとして)
	mg	mg	mg
甲 (1錠中)	14	1.6	2.5
乙 (")	13	1.5	2.4

アスコルビン酸の定量はインドフェノール滴定法またはインドフェノール・キシレン比色法による。

試験成績 塩酸チアミン, 硝酸チアミンおよびアスコルビン酸は表示量の 90~140 % の場合は適品とし

た。48 検体中に不適品は 2 件であった。すなわち, 塩酸チアミンの含量過多のもの (170%) 1 件, アスコルビン酸の含量不足のもの (71%) 1 件であった。

比色定量法による市販サイクラミン酸ナトリウム中の シクロヘキシルアミンの定量

高村一知・谷村顕雄

Colorimetric Determination of Cyclohexylamine in Commercial Sodium Cyclamate

Kazunori TAKAMURA and Akio TANIMURA

Sodium cyclamate, non-nutritive sweetening agent, contains a trace of cyclohexylamine as contaminant.

Cyclohexylamine contents in commercial sodium cyclamate were determined by quinhydrone method, and as shown in Table 1, cyclohexylamine contents were in a range of 7.5~65.5 ppm, and its mean value was 25.3 ppm.

(Received May 31, 1969)

人工甘味料サイクラミン酸ナトリウムは, 昭和32年食品添加物として指定され, また現在日局にも収載されている。サイクラミン酸ナトリウムは, シクロヘキシルアミンをクロルスルホン酸でスルホン化して製造されるので, 製品中に微量のシクロヘキシルアミンおよびジシクロヘキシルアミンが不純物として混入していることが多い。シクロヘキシルアミンは工業的に加硫促進剤, 可塑剤などにも使用され, 吸収あるいは皮膚接触による中毒が報告されており, また動物に経口投与した場合にも強い毒性を示し, 胃, 腸管に出血が認められている。LD₅₀ は雌ラット, 経口投与で 237 mg/kg である。さらにシクロヘキシルアミンをカンガルーネズミに投与した場合 (10 mg/kg 以上), 細胞の染色体を高率で破壊することが発表されたので, サイクラミン酸に不純物として含まれるシクロヘキシルアミンおよび生体内でサイクラミン酸から生ずるシクロヘキシルアミンが最近注目されるようになった。

しかし現行の食品添加物公定書Ⅱおよび日局Ⅶには, シクロヘキシルアミンを規制する項目はない。われわれは市販のサイクラミン酸ナトリウムについて, そのシクロヘキシルアミン含有量の実態調査の目的で試験をおこなった。

シクロヘキシルアミンの定量法としては, アルカリカラムによるガスクロマトグラフィー, キンヒドロン²⁾あるいはパラキノン³⁾による比色定量法が報告されており, サイクラミン酸ナトリウム中のシクロヘキ

シルアミンの定量法としては, いずれも満足すべき結果が得られている。本実験ではキンヒドロン比色法により定量をおこなった。

実験方法および実験結果

1. 実験方法

市販サイクラミン酸ナトリウム10 g を正確に量り, 50 ml の蒸留水に溶かす。Kolthoff 緩衝液 (pH 12.0) 50 ml およびクロロホルム 6 ml を加えて, 2 分間激しく振盪したのち, 静置してクロロホルム層を分取する。クロロホルム液に脱水芒硝を加えて乾燥したのち, 濾過し, 芒硝をクロロホルムで洗滌し濾液を正確に 6 ml にメスアップする。50%エタノール 1 ml, 1 %

Table 1. Cyclohexylamines content in commercial sodium cyclamate

Sample	Cyclohexylamine (ppm)	Sample	Cyclohexylamine (ppm)
A	13.5	F	28.5
B	7.5	G	15.2
C	24.0	H	16.4
D	22.5	I	43.7
E	16.5	J	65.5

キンヒドロンエタノール溶液 3 ml をそれぞれ正確に量り, 上記のクロロホルム液に加え, 混和したのち 60° の恒温水槽中で 50 分間加温する。冷後 495 mμ におけ