

第 1 表

No.	充 填 劑	比表面積 cm ² /cm ³	(E-E ₀)/c kg/cm ²	(E'-E ₀ ')/c kg/cm ²
1	炭 マ グ	17.8×10 ⁴	18.0(10分) 18.0(30分) 18.3(15分)	3.3 (10分) 3.5(30分) 3.3 (15分)
2	三 號 亞 鉛 華	14.9×10 ⁴	15.2(10分) 12.8(50分) 15.9(15分)	2.32(10分)
3	チ タ ン 白	11.6×10 ⁴	11.0(10分)	1.92(15分)
4	リ ト ホ ン	9.4×10 ⁴	12.0(10分) 12.9(15分)	1.14(15分)
5	關 西 亞 鉛 華	7.6×10 ⁴	11.25(10分) 13.6(15分)	1.57(15分)
6	堺 炭 カ ル	5.1×10 ⁴	15.6(10分) 17.1(30分) 13.5(15分)	1.52(10分) 1.81(15分)
7	カ タ ル ボ	2.9×10 ⁴	13.6(10分) 13.9(30分) 16.75(15分) 12.5(50分)	1.32(10分)
8	ネ オ ア ル コ ン	1.4×10 ⁴	2.4(30分)	
9	重 質 炭 カ ル	2 ×10 ⁴	13.0(10分) 7.9(35分) 12.6(15分)	0.53(10分) 0.70(15分)
10	コ ス モ ス 20 カ ー ボ ン	13.2×10 ⁴	17.8(15分)	
11	フ モ ネ ッ ク ス カ ー ボ ン	13.4×10 ⁴	18.1(20分)	2.15(20分)
12	野 口 カ ー ボ ン	12.1×10 ⁴	18.6(10分)	
13	三 池 合 成 カ ー ボ ン	6.1×10 ⁴	8.0(15分)	0.99(15分)

〔主〕 () 内は 140°C の加硫時間。比表面積測定は富久氏に依る。

以上の結果充填剤の作用はその表面におけるゴムとの密着の結果一種の物理的の加硫を考えてよいが、化學的の加硫に比べて伸びの大きいところでは特に弾性の大きく出る特長があると云える。

(昭和 24 年 2 月 28 日 受 理)

生體組織中のビタミン B₁ 定量法に 關する研究

Studies on the Determination of Vitamine B₁ in Living Tissue.

近藤金助・満田久輝・岩井和夫

Kinsuke Kondo, Hisateru Mitsuda and Kazuo Iwai

生體組織中の B₁ を正確に定量するには、第一に完全に且つ安定に B₁ を抽出する事が肝要である。従來抽出剤としては鹽酸、硫酸、醋酸並に酒精が用いられているも、特に抽出條件を詳細に究めた報告は極めて少ない。ここに於て著者等は 0.1%醋酸(pH 3.5)、鹽酸(pH 3.5 並に 4.5)、枸橼酸緩衝液(pH 4.5)並に醋酸緩衝液(pH 4.5)を抽出剤として、その各々の抽出能

ビタミンB₁の抽出劑に関する實驗

抽出劑	麥酒酵母		蠶豆の種實		米胚芽	
	B ₁ 量 (r%)	比	B ₁ 量 (r%)	比	B ₁ 量 (r%)	比
0.1% CH ₃ COOH	6896.6	100.0	404.0	100.0	10619.4	100.0
HCl (pH 4.5)	5333.3	77.3	340.4	84.3	9022.5	85.0
HCl (pH 3.5)	5393.6	78.2	333.3	82.5	8275.8	77.9
Citrate buffer (pH 4.5)	6250.0	90.6	367.0	90.8	10256.4	96.6
Acetate buffer (pH 4.5)	6153.8	89.2	388.0	96.0	10434.7	98.3

醋酸に依る Prebluda 反應の呈色増強に関する實驗

	No.	B ₁ r	吸着 白土 g	水 cc	D cc	0.1% 醋酸 cc	A cc	B cc	水 cc	C cc	B ₁ 量 r	呈色率
Vitamin B ₁ Citrate buffer (pH 4.5) 20cc=40rB ₁	1	40	0.2	8	0	0	0.2	0.2	10	6	22.2	55.5
	2	40	0.2	4	4	0	0.2	0.2	10	6	40.0	100.0
	3	40	0.2	0	0	8	0.2	0.2	10	6	25.8	64.5
Vitamin B ₁ 0.1% CH ₃ COOH 20cc=40rB ₁	4	40	0.2	4	4	0	0.2	0.2	10	6	43.5	108.8
	5	40	0.2	3	4	1	0.2	0.2	10	6	44.7	111.8
	6	40	0.2	1	4	3	0.2	0.2	10	6	46.2	115.5
	7	40	0.2	0	4	5	0.2	0.2	10	6	42.1	105.5

A: 0.6g の p-Aminoacetophenone を 9cc の conc. HCl にとかし、水にて 100cc とする。
 B: 23g の亞硝酸普達を水にてとかして 100cc とする。
 C: 20g の NaOH と 28g の NaHCO₃ を水にてとかして 350cc とする。
 D: 1g の Phenol を 95% Alcohol 200cc にとかす。

を麥酒酵母、蠶豆の種實並に米胚芽に就き比較した結果明らかに 0.1% 醋酸が最高の抽出能を示す事を見出した。醋酸は Prebluda 反應の呈色増強劑として Ethanol, Phenol と同様の作用を有する事を見出したが、純ビタミン B₁ の場合は常に従來の方法に比し 16% 呈色が増強されるも、天然物の場合はその増強率が一定しないものもあるので定量法の改良に用いるには更に検討しなければならないが、醋酸を抽出劑に用いる B₁ 定量法(チアゾ法)に於ける一注意事項として吸着白土を酸性の水(鹽酸 pH 4.5)にて十分洗滌して完全に醋酸を除去して次の操作に移らねばならない事を強調する。

上述の抽出能の比較實驗に於ては勿論この醋酸の呈色増強を除いて比較したものであり、明らかに抽出能の差に基因している。

次に生體組織より B₁ を抽出する實驗材料としては B₁ 含量が極めて多大である點、細胞膜強靱にして抽出至難である點並に Phosphatase が極めて強力に存在する點より生酵母が最適と考え次表の如き各種の抽出條件につき定量比較して見た。その結果 Phosphatase が急速に完全に不活性化され、しかも co-carboxylase の加水分解が行われぬ點として 100°C の熱

生酵母中のビタミン B₁ の抽出条件に関する研究

No.	抽出劑	抽出条件	B ₁ /g	備考
1	CH ₃ COOH	100°C, 3 mins.	18.53	Free
2	HCl	100°C, 3 mins.	19.64	
3	CH ₃ COOH	100°C, 5 mins.	19.64	Total
4	HCl	100°C, 5 mins.	19.55	
5	CH ₃ COOH	80°C, 15 mins.	22.55	Total
6	HCl	80°C, 15 mins.	20.11	
7	CH ₃ COOH	80°C, 15 mins. + Diastase	68.97	Total
8	CH ₃ COOH	70°C, 30 mins.	37.17	
9	HCl	70°C, 30 mins.	22.83	Total
10	HCl	70°C, 30 mins. 38°C 1夜放置	29.03	
11	HCl	70°C, 30 mins. + Diastase	68.71	Total
12	CH ₃ COOH	60°C, 30 mins.	59.73	
13	CH ₃ COOH	60°C, 30 mins. 38°C 1夜放置	68.71	Total
14	CH ₃ COOH	60°C, 30 mins. 80°C, 15 mins.	50.51	
15	CH ₃ COOH	60°C, 30 mins. + Diastase	68.97	Total
16	CH ₃ COOH	80°C, 15 mins. 60°C, 30 mins.	21.66	
17	CH ₃ COOH	No. 16 + Diastase	64.16	Total
18	HCl	Toluol ¹ のみ添加し 38°C 1夜放置後 HCl 抽出	7.27	
19	HCl	No. 18 + 80°C, 15 mins.	7.35	Total
20	HCl	80°C, 15 mins. Toluol 38°C 1夜放置	21.39	
21	CH ₃ COOH	Toluol ² , Diastase 38°C //	46.57	Total
22	CH ₃ COOH	Toluol ² , Papain 38°C //	45.20	
23	CH ₃ COOH	Toluol ² , Pepsin 38°C //	44.97	Total
24	CH ₃ COOH	Toluol ² , Cystein 38°C //	54.46	
25	CH ₃ COOH	室温 1 時間攪拌抽出	0	

Toluol¹ (Autolysis) Toluol² (Antiseptic)
 CH₃COOH (0.1% pH 3.5) HCl (pH 4.51)

水中に 3~5 分間保つか、100°C の熱水に浸漬して抽出液温を 80°C に 5~15 分間保つのが眞の遊離型 B₁ を定量する最善の方法であつて、酵母の如く Phosphatase の強力な試料では従來の方法の如く 80°C の温浴中に 15 分間保つたり、70°C, 30 分間 (Melnick & Field 及び 芦田) の處理及び 60°C, 30 分間 (酵母の致死温度) の處理にては眞の遊離型の定量は困難である。次に總ビタミン B₁ 定量法としては Diastase を加えて 38°C に 1 夜反應せしめただけでは不十分であつてやはり 80°C, 15 分間 (70°C, 30 分, 60°C, 30 分間にても良い) 加熱抽出後 Diastase を 38°C 1 夜作用せしめて總ビタミン B₁ を定量するのが最も正確である。上記の方法に従つて數多くの培養酵母の B₁ の形態を検した處、總ビタミン B₁ 68.97γ/g の中遊離型は 19.64γ/g (28.48%) にして結合型は 49.33γ/g (71.52%) であり、總 B₁ 量の 70% 前後が co-carboxylase として存在して居るものと考えらる。

(昭和 24 年 2 月 28 日 受理)