Fig. 10. Dipterex (DX)

しており、この方法によると、少くとも今回使用した殺虫剤そのもの、およびそれらの OH^- 攻撃による加水分

解後の環境においても、原物質として数 mg の量で検出と定性を行いうることが明かとなった.

本研究に際して、使用した有機リン酸系殺虫剤を提供された各会社になじし、厚く感謝の意を表する。

文 献

- 1) 塚元久雄, 奥井誠一: "裁判化学"100~116 (南山堂).
- 2) 世良完介: 日本の医学 **1**, 328 (1959).
- 3) 西山誠二郎, 丹羽瀬驥, 千葉幹雄: 科学と捜査 **10**, 209 (昭和 32 年).
- 4) G. S. Hanes, F. A. Isherwood: Nature **164**, 1107 (1949); Bandurski, Axelroad: J. Biol. Chem. **193**, 405 (1951).
- 5) J. J. Menn, W. R. Erwin, H. T. Gordon: J. Agr. Food Chem. **5** 601 (1957); C. A. **51** 16989 h (1957).
- 6) O. Fäss: Acta Chem. Scand. **1**, 8 (1947).
- 7) R. J. L. Allen: Biochem. J. **34**, 858 (1940).
- 8) B. C. Saunders et al.: J. Chem. Soc. **1948**, 699.

コールドパーマメントウェーブ液に関する
衛生化学的研究 (II)

各種メルカプト化合物ならびにその関連異常物質の
ペーパークロマトグラフィー

東京都立衛生研究所 田村健夫・戸谷哲也・面高静子

Hygienic Chemical Studies on Cold Permanent Wave Lotion (II)

Paper Chromatography of Various Mercapto-Compounds and Related Substances

T. Tamura, T. Totani and S. Omodaka

(from the Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

In an investigation of mercapto-compounds and related substances used as cold permanent wave lotion (C), an ascending chromatographic process was examined. The compounds were: thioglycolic acid (I), dithiodiglycolic acid, thioethanol, l-thioglycerol, thiolacetic acid, dithiodiglycol amide, iso-octylthioglycolate, glycoldimercaptoacetate, mercaptoethylamine, thiodiglycolic acid, β -thiodiglycolate, pseudothiohydantoin, thiourea, Bunte salt, dicyandiamide, Na_2S (II), Na_2SO_3 (III) and $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (IV).

The solvent is BuOH:HOAc:H₂O (5:1:4), BuOH:conc. NH₄OH:H₂O (5:1:4) and BuOH:EtOH:H₂O (4:1:5). The chromatogram was sprayed with the following reagents; ammoniacal AgNO₃, Cu(OAc)₂, Mn(OAc)₂, Co(OAc)₂, resazurin and rhodamine 6G to detect the spots. The sample of (I) was allowed to stand with alkali and the solution was submitted to chromatography, showing four spots with R_f values different from that of (I).

まえがき

従来メルカプト化合物のペーパークロマトグラフィー(PC)に関する報告¹⁾は、一部の天然物に関する報告以外は比較的少く、ことにコールドパーマネント液(コールド液)の分析を目的としたものは、きわめてわずかである。さきにわれわれはコールド液中のチオグリコール酸ヒドラジッドの分離確認に、PCが有利に活用し得ることを報告²⁾(これを第1報とする)したが、今後さらにチオグリコール酸以外の多数のメルカプト化合物が使用される可能性から、これらの分離確認、チオグリコール酸の製造法に起因する不純物質の分離確認を目的として検討し、分離能、顕色剤、アルカリの影響、不純物質検出の可能性などに関し、若干の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 試料

対象とした試料は、第1表と第2表に示すように13種のメルカプト化合物、またコールド液中の副成分である

3種のアルカノールアミン、さらに現在代表的なチオグリコール酸の製造法として知られている硫化ソーダ法、ハイボ法、チオ尿素法の原料、中間体で製品に混在のおそれのある物質11種を選んだ。

2. PCによる分離

試験溶液の調製： 試料の大部分は水溶液としたが thiosalicylic acid, thioacetic acid, glycol dimercaptoacetate, iso-octylthioglycolate, toluenethiol は Isopropanol ないし Toluene を用いた。また dithiodiglycol amide は 1% 塩酸に溶かし、各試験溶液の濃度はいずれも 1% とした。

展開条件： 試験溶液 0.005 ml を塗布量とし、3種の溶媒を用い、第1報に従って一次元上昇法により展開し、風乾後はできるだけ速かに顕色した。その R_f 値は第1表のとおりである。

溶媒 { S-1; n-BuOH:HOAc:H₂O (5:1:4)
S-2; n-BuOH:conc. NH₄OH:H₂O (5:1:4)
S-3; n-BuOH:EtOH:H₂O (4:1:5)

第1表 各試料の分離能 (R_f 値×100)

No.	試料名	品質	S-1	S-2	S-3
1	Thioglycolic acid	E 70 %	80	2	78
2	Dithiodiglycolic acid	自製	81	3	80
3	Thioethanol	東化 EP	85	82	82
4	1-Thioglycerol	東化 GR	68	50	65
5	Thiolactic acid	東化 GR	85	4	80
6	Thiomalic acid	E 99.2 %	75	0	86
7	Thiosalicylic acid	東化 GR	95	10	85
8	Thiolacetic acid	東化 GR	95	15 tailing	94
9	α-Toluene thiol	東化 GR	100	—	12
10	Dithiodiglycol amide	自製	47	17	54
11	Iso-octylthioglycolate	E 98.5 %	99	99	93
12	Glycol dimercaptoacetate	E 97 %	87	20 tailing	83
13	Mercaptoethylamine·HCl	E 96 %	12	10	28
14	Monoethanolamine	日東	28	43	52
15	Diethanolamine	日東	34	50	54
16	Triethanolamine	日東	34	54	70
17	Thiodiglycolic acid	E 97.3 %	76	86	78

18	β -Thiodiglycolate	化 E P	74	75	72
19	Monochloroacetic acid	S	76	18	84
20	Glycolic acid	S	66	45	66
21	Bunte salt	自 製	[0] 8, [82]	0	[10] 26
22	Pseudothiohydantoine	A	27, [48]	7, [18] [37]	34, [52] [71]
23	Thiourea	S	45	33	50
24	Dicyandiamide	S	48	35	53
25	Na ₂ S	S	3	0	6
26	Na ₂ SO ₃	S	3	0	0
27	Na ₂ S ₂ O ₃	S	3	0	7

[]...副 spot

E: Evans Chemetic Inc., 東化: 東京化成, 日東: 日東化学, A: アリミノ化学, S: 試薬級

すなわち S-1 の溶媒によるときは, メルカプト化合物の相互間において, thioglycolic acid, thiosalicylic acid, dithiodiglycolamide および mercaptoethylamine·HCl がよく分離する. また dithiodiglycolamide は methyl thioglycolate にアンモニアを反応させて得た結晶物をそのまま PC すると, Rf 値×100 は 18, 47, 62 および 76 の四つの spots があらわれ, アルコールから再結して, はじめて単一の spot が得られる. このような比較的単純な反応と考えられるものでも, 副反応の多いことが認められた.

またアルカノールアミンの相互は, モノ体を分離できるが di と tri 体は, 3 種の溶媒ともやや困難である.

溶媒 S-2 で行うときは, 一般に Rf 値が低く, S-1 で高い値を示した親水性の大きい thioglycolic acid, thiolacetic acid など, S-2 によると低下する. これに反し, 親油性の大きい thioethanol, iso-octyl thioglycolate など, 高い Rf 値を示すから確認に役立つ. S-3 の溶媒は Rf 値が高くなる傾向があり, S²⁻, S₂O₃²⁻ が原点からはじめて上昇する.

またメルカプト化合物によっては, ときに数箇の Spots がみられ, 原因について明かでない場合もあり, 本系化合物の PC 法の難しい一面と考えられる. Bunte salt は酸性溶媒により展開中に一部分解し, 中性溶媒でもこの傾向がある. Bunte salt をあらかじめ濃厚な酸で処理した液について PC すると, thioglycolic acid のほか, 3~4 箇の spots が認められ, ハイボ法による thioglycolic acid 製造法の副反応が多いことが推定できる.

また pseudothiohydantoine は展開後にあらかじめアルカリで処理すると dicyandiamide としても検出可

能である.

このほか予期しない spot がみられる原因については, 後述するようにアルカリの影響がある. 一般に塩基性溶媒を展開剤とするときは, 当然のことながら sulfhydryl 基の酸化はすみやかになり, 顕色剤の選択を考慮しなければならない. また S-3 のような溶媒では, 使用するアルコールはその含有アルデヒドを除去しないと, 酸化還元系顕色剤に著しい影響を与える. 以上の点から, S-1 のような酸性溶媒は無難である.

3. 顕色剤

酸化還元系試薬あるいはキレート試薬とも考えられる多数の金属塩類について検討し, 従来あまりメルカプト化合物の PC 顕色剤には用いられていない Cu²⁺, Mn²⁺, Co²⁺ などに選択性が認められた. また適当な顕色剤の無いものについては, pH 指示薬を使用し, かなり良好な結果が得られた.

各顕色剤の種類はつぎのとおりで, その呈色状態を第 2 表に示す.

- アンモニア性 AgNO₃
- Tollens 試薬
- 1% Cu(OAc)₂·H₂O
- 10% Mn(OAc)₂·4H₂O
- 5% CoCl₂·4H₂O
- アルカリ性 FCNP 試薬...10% NaOH, 10% ニトロプルシッドナトリウムおよび 10% フェリシアン化カリウムを等量ずつ混和し, 3 倍容量の水で希釈し, 20 分後に使用する. 冷所に保存する.
- 0.1% Resazurin アルコール溶液
- 0.1% Rhodamine 6G

第2表 PCにおける顯色状態

No.	試料名	顯色剤							
		a	b	c	d	e	f	g	h
1	Thioglycolic acid	BW $\pm$	BW $\pm$	BW $\pm$	V $+$	BW $\pm$	G $\pm$	O $\pm$	V $\pm$
2	Dithiodiglycolic acid	—	BW $\pm$	—	—	—	—	O $\pm$	—
3	Thioethanol	Y $\pm$	Y $\pm$	—	—	—	—	O $\pm$	—
4	1-Thioglycerol	Y $+$	Y $\pm$	—	LB $+$	V BW $\pm$	P $+$	O $\pm$	—
5	Thiolactic acid	V $+$	Y $\pm$	BWV $\pm$	V $\pm$	BW $\pm$	—	O $\pm$	V $\pm$
6	Thiomalic acid	V $+$	Y $\pm$	BWV $\pm$	V $\pm$	BW $\pm$	W $\pm$	O $\pm$	—
7	Thiosalicylic acid	Gr $\pm$	BW $\pm$	V $\pm$	—	—	W $\pm$	O $\pm$	V $+$
8	Thiolacetic acid	LBW $\pm$	LBW $\pm$	—	—	—	B $+$	V B $+$	—
9	α -Toluenethiol	BW $+$	Gr $\pm$	—	—	—	—	O $+$	—
10	Dithiodiglycol amide	YBW $+$	YBW $\pm$	Gr $\pm$	—	—	B $+$	V B $+$	—
11	Iso-octyl thioglycolate	Gr $+$	Y $\pm$	Y $+$	LG $\times$	LBW $\pm$	—	O $\pm$	—
12	Glycol dimercapto acetate	Y $+$	Y $\pm$	—	LG $+$	LBW $\pm$	G $+$	O $\pm$	—
13	Mercaptoethylamine · HCl	V $+$	W $\pm$	BW $+$	—	—	B $\pm$	O $+$	—
14	Mono-ethanol amine	—	W $+$	LB $\pm$	BW $\pm$	BW $+$	P $+$	VR $\pm$	—
15	Diethanolamine	—	W $+$	LB $\pm$	BW $\pm$	B $+$	P $+$	VR $\pm$	—
16	Triethanol amine	—	W $+$	LB $+$	BW $\pm$	V $+$	P $+$	VR $\pm$	—
17	Thiodiglycolic acid	—	W $\pm$	—	—	—	—	O $\pm$	—
18	β -Thiodiglycolate	—	W $\pm$	—	—	—	—	VR $\pm$	—
19	Mono-chloroacetic acid	W $\pm$	W $+$	—	—	—	—	O $+$	—
20	Glycolic acid	W $\pm$	W $+$	—	—	—	—	O $\pm$	—
21	Bunte salt	V $\pm$	W $\pm$	—	—	—	B $+$	VR $\pm$	V $\pm$
22	Pseudothiohydantoine	Y $\pm$	W $\pm$	V $\pm$	—	—	R $\pm$	O $+$	V $\pm$
23	Thiourea	LBW $\pm$	W $\pm$	—	—	—	V $\pm$	O $\pm$	—
24	Dicyanodiamide	—	W $\pm$	—	—	P $\pm$	VR $\pm$	—	—
25	Na ₂ S	BW $\pm$	BW $\pm$	—	—	—	B $\pm$	VR $+$	V $\pm$
26	Na ₂ SO ₃	BW $\pm$	BW $\pm$	—	BW $\pm$	—	B $\pm$	P $\pm$	V $\pm$
27	Na ₂ S ₂ O ₃	BW $\pm$	BW $\pm$	—	—	—	B $\pm$	O $\pm$	V $\pm$

BW…かつ色, Y…黄色, V…紫色, Gr…灰色, G…緑色, L…明, O…橙, R…赤色, P…桃色, B…青色, W…白色

呈色強度: $\pm > \pm > + > \pm$

各顯色剤の特異性について述べると, アンモニア性硝酸銀は, 噴霧後直ちに発色する dithiodiglycol amide, thiourea をはじめとして, 発色時間に差異が認められ, 至適放置時間は約1時間以内である。

本試薬が dithiodiglycol amide を除いて disulfide に陰性であるに対し, Tollens 試薬のようなアルカリ性顯色剤は disulfide にも陽性となる。Tollens 試薬はかつ色の地に白色ないし黄色の spot を生ずる場合が多く, チオエーテル, dicyandiamide も陽性となるなど広範な呈色を示し, きわめて鋭敏であるが, 非常に選択性に乏しい。

有色金属塩のうちでは, CoCl₂ によって 1-thiogly-

cerol, iso-octyl glycolate, glycol dimercapto acetate が呈色するが Cu(OAc)₂ とは呈色せず, また SO₃²⁻ は Mn(OAc)₂ で特異的に呈色する。これらの金属試薬は噴霧後1時間程度放置すると強度を増し, なおさらにアンモニアを噴霧すると, 呈色に変化がみられる。

FCNP 試薬は試料によって呈色の色調が異り, S₂O₃²⁻ にも感度がよく, dicyandiamide も陽性となる点 Grote 試薬, pentacyanoammineferrate にはみられない特徴があるが, pH の変化に影響されやすい。また pseudo thiohydantoine は濃厚な水酸化アルカリを, さらに噴霧すると強く呈色する。

また pH 指示薬のなかで resazurin が青紫色の地に橙色ないし紫青色の美しい呈色を示し、展開溶媒の液性も風乾を完全に行えば、ほとんど障害とならないで意外に好結果を得た。本試薬はアルカノールアミンの発色に特に適し、別に monoethanolamine はニンヒドリンで、また triethanolamine は塩化白金ヨウ素液によって顕色できた。

興味のある事実として、 S^{2-} 、 SO_3^{2-} および $S_2O_3^{2-}$ などが、rhodamine 6G によって、特異的に呈色することを見出したが、本呈色がアルカノールアミンとかメルカプトカルボン酸などの酸、塩基によってほとんど呈色しないところから、別の呈色機構にもとづくものと推定される。

なおこの他にもやや適当な結果を得たものに 5% Pb(OAc)₂ (90°, 5分間加熱)、5% NiCl₂、1% KMnO₄ などがあるが、ヨウ化アジド液また *o*-phenanthroline あるいは dipyridyl と FeCl₃、さらに 3, 4-dinitrobenzoic acid, 3, 5-dinitrobenzoic acid, 3, 5-dinitrosalicylic acid, *o*-dinitrobenzene, cacotelin などの Nitro 化合物をアルカリの共存下で行う反応は、満足すべき結果が得られなかった。

4. コールド液中 S^{2-} 、 SO_3^{2-} および $S_2O_3^{2-}$ の確認

PC 法による SO_3^{2-} の確認限界は rhodamine 6G または FCNP 試薬によって約 0.2% である。

しかるに実際にコールド液中に添加して行うときは、2% 以上含有しないと検出できない。このことは SO_3^{2-} と disulfide との反応³⁾ として知られているとおり、つぎの反応式によって、 SO_3^{2-} が消費されることを証明するものであって、硫化物についても全く同様のことがいえる。

すなわちコールド液は経日変化によって、従来一部にいわれていたように硫化物、亜硫酸が、thioglycolic acid から分解残存するようなことはなく、disulfide の生成に比例してむしろ減少し、よほど大量に添加されていない限り、これら検出の可能性は少いものと考えられる。

しかしチオ硫酸塩については、直接 disulfide と反応することはなく、事実コールド液中に $S_2O_3^{2-}$ を添加しても、ほとんど鋭敏度の低下が認められず、0.05% の低濃度でも検出可能であった。

thiourea, dicyanodiamide も FCNP 試薬によって、それぞれ 0.01 および 0.05% まで検出できた。

また市販コールド液の新しいもの、1~2年を経過し

たもの15種ずつについて PC を行った結果、例えば S-1 の溶媒および rhodamine 6G の噴霧によって古いコールド液 4 種から、Rf 値が 0.05, 0.16, 0.20, 0.35 および 0.82 のような数箇の spots が見出され、新しいものからは全く認めることができなかった。これらの Spots は Rf 値の点で S^{2-} 、 SO_3^{2-} などとは異り、別の thioglycolic acid の分解産物と考えられるが、現在までのところ明らかでない。

5. PC 上塩基の影響 thioglycolic acid に希薄なアルカリ、特に monoethanol amine とか水酸化アルカリを加えたものを PC すると、S-1 の溶媒、および AgNO₃ 顕色により Rf 値が 0.02, 0.08, 0.13 および 0.74 のように数箇の spots がみられる。従来水酸化ナトリウム添加のコールド液の pH が、経日的にかなり変動しやすいことが知られており⁴⁾、また重合も考えられるが、本実験経過を列記すると、およそ次のようである。

- ① 塩基性の大きい塩基ほど著明である。
- ② 経日的にはほぼ増大する。
- ③ 塩基 2 Mol を加えると、spot が増加しやすい。
- ④ 単に酸を加えて酸性とした液を PC しても変化がなく、溶媒抽出によって、はじめて塩基の影響のない単一の spot が得られる。
- ⑤ Rf 値の小さいものほど塩基性が大きい。
- ⑥ 従来メルカプトカルボン酸に附加した金属塩は、キレートを形成するため、その結合の強固なことが認められている。

以上のことから、次の二つの式が考えられる。

(1)は既知の反応³⁾ であるが、上記の⑥項を充分説明できず、(2)は②項と矛盾する。まだ詳しい検査はしていないが、メルカプト化合物の PC に際しては、塩基の影響を常に考慮し、コールド液はもちろんのこと、ガラスびんからのアルカリ溶出にも注意し、酸性での溶媒抽出を行うべきである。

結 論

1. 各種のメルカプト化合物と関連物質 27 種を、3 種の溶媒と 9 種の顕色剤とによって分離確認することができた。
2. SO_3^{2-} および S^{2-} は disulfide と反応するため、コールド液中から検出される可能性は少いが、 $S_2O_3^{2-}$ は

可能性がある。

3. アルカリの影響はきわめて重要で、PC 前に酸性で溶媒抽出すべきである。

文献 1) D. Hellhammer: Mitt. Lebensm. Hyg. 47 61 (1956); 中村, 岡本: 繊維学会誌 16, 179 (1960); 2) 田村, 戸谷: 東京都衛生局職員業務

研究発表会報告書 24, 92 (1959); 3) M. Stricks, M. Kolthoff: J. Am. Chem. Soc., 73, 4569 (1951); A. Schoberl, H. Eck; Ann. 522 97 (1936); 4) R. Keithler: "The Formulation of Cosmetics and Cosmetic Specialties" (1956).

サイアミンと強塩基性陰イオン交換樹脂との反応 (V)

チオール化合物のイオン交換について

国立公衆衛生院 坂上 米次

Reaction between Thiamine and Strong-base Anion Exchange Resin (V)

Ion Exchange Reaction of Thiol-Compounds

Yoneji Sakagami

(from the Institute of Public Health, Tokyo)

The preceding papers have been described about the reaction between thiamine chloride hydrochloride and the free-base form of strong-base anion exchanger, Amberlite IRA-400 and Dowex 1. Thiamine was found to be uptaken by the exchanger and to exist as the thiol-form of thiamine in the exchanger. It is not considerable that the thiol-form of thiamine has exchangeable functional groups except for the sulfhydryl group. However, knowledge of ion exchange reaction about thiol-compounds is limited.

Therefore, ion exchange reaction between thiol-compounds (thioglycol, thioglycerol and dimercaprol) and the free-base form of strong-base anion exchanger was studied. It was established that these thiol-compounds were uptaken by the exchanger and this sorption step was based on the stoichiometric relation. And the sulfhydryl group of the thiol-compounds was proved to have the ability of combination with the quaternary ammonium group of the exchanger. Accordingly the sulfhydryl group of the thiol-form of thiamine in the exchanger is concluded to combine with the ion active group of the exchanger.

まえがき

これまでの報告¹⁾において、サイアミン(以下 B_1 と略称する)は、強塩基性陰イオン交換樹脂に捕捉され、捕捉された B_1 はチオール型として存在していることを確かめ、またチオール型 B_1 は SH 基以外に、強塩基性樹脂の交換基に結合できる官能基を有しないことから、 B_1 は強塩基性陰イオン交換樹脂との反応において、チオール型に移行し、イオン交換により、SH 基において樹脂に捕捉されるとするのが、最も妥当であることを述べた。

しかし一般にチオール化合物($X-SH$)が、陰イオン交換に関与することについては知見に乏しく、わずかにチオペンタールの分析に Amberlite IRA-400 を用いた

報告²⁾の抄録を見出したのみで、反応に関して確かめることはできなかった。よって本報においては、チオール化合物と強塩基性陰イオン交換樹脂との反応について検討した結果を述べ、さらに上記の B_1 と強塩基性樹脂との結合に関する推論の妥当性を明らかにしたい。

チオール化合物($X-SH$)の SH 基は水溶液中で弱酸の性質を示し、今日までに知られている合成チオール化合物の SH 基のイオン解離は、X 原子団の構成内容によりきわめて多様で、それらの pK 値の分布は、ほぼ酢酸とフェノールとの pK 値の間に存在している³⁾。従ってチオール化合物が陰イオン交換に関与する可能性は、酢酸⁴⁾およびフェノール⁵⁾が陰イオンとして強塩基性樹脂