相関分析の結果各条件における反応の B₁ 濃度と吸光係数との間の回帰には何等有意の差なく, 上記条件範囲内では呈色液に何の影響もないことを認めた.

終りに本研究発表の機会を与えられた研究所長桑田 智博士に謹謝し, 統計面で御助言下さった門川清美氏に深謝する.

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

The procedures and errors in the formalin-azo method of determining vitamin B₁ used for the testing of B₁ crystals or injections were statistically examined. It was found that this method gave error of only within 1.7% and was advantageous in that it needed no strict control of the reagents used.

(Received September 10, 1953)

330. 渡辺 厚, 藤原 洋, 吉田慰子: ビタミン B₁ 定量法の誤差要因 (第3報) ビタミン B₁ 定量法の誤差の比較

Astushi Watanabe, Hiroshi Fujiwara, and Toshiko Yoshida: Sources of Variation in Determination of Vitamin B₁. III. Comparison of the Error in Vitamin B₁ Assay.

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.)

種々のビタミン B₁ (以下 B₁ と略称す) 定量法のうち蛍光法はその反応が B₁ に対して特異的であるが誤差が大きく, 比色法は精度は大きいが特異性がないとされている. 著者等は B₁ 定量の各方法の誤差を明らかにし, それを比較検討する目的で本研究を行つた. 一般に定量法の誤差を比較する為には実験中に誤差の混入する機会をすべて含ませなければならない. B₁ 定量法のうち比較的よく使用されている蛍光法 (前報に既出), ホルマリンアゾ法及び紫外外部吸収測定法の4方法について試料調製時の誤差と呈色反応 (或いは蛍光反応) による誤差とに大別してこれを比較しようとした. 即ちまず2種の標準液を調製し, その各々から各定量法の最適濃度の液2種を作製し, その各々について同一定量法を5回くり返した. これを図示すれば Fig. 1 のようになる.

この20回の測定結果のばらつき (不偏分散) σ^2 は標準液間のばらつき σ_S^2 , 希釈操作によるばらつき σ_D^2 , 呈色操作によるばらつき σ_R^2 の和となり, $\sigma^2 = \sigma_S^2 + \sigma_D^2 + \sigma_R^2$, 定量時に必然的に混入する誤差のすべてを含んでいる. 故に各定量法の σ^2 を比較すればその誤差を比較すると同時に誤差の原因をつかむことができる.

まず 200 γ /cc の B₁ 標準液2種を調製し, この標準液について各方法の最適濃度即ちホルマリンアゾ法では 100 γ /cc, 紫外外部吸収測定, 蛍光法では 10 γ /cc に希釈し, この液を2種類調製した. 4種の液について各々5回ずつ各方法で反復実験し吸光係数或いは蛍光度を求めた. 測定値から B₁ 濃度を求めるには20回実験して得た測定値の平均から算出した. Table I がその結果である.

紫外外部吸収測定では 246 m μ における吸収を Beckman Model DU Spectrophotometer でしらべた. 要因を検討する為に個々の方法について分散分析を行つた.

Fig. 1

Table I

定量法		ホルマリニアゾ法		紫外部吸収測定法		螢光法 (赤血塩法)		螢光法 (プロムチアン法)	
処理		吸光度	推定 B ₁ 濃度 (γ /cc)	吸光度	推定 B ₁ 濃度 (γ /cc)	螢光度	推定 B ₁ 濃度 (γ /cc)	螢光度	推定 B ₁ 濃度 (γ /cc)
A	1	0.625	197.8	0.427	199.7	96	211.5	149.8	196.8
		0.629	199.3	0.429	200.7	94	207.1	153.3	201.3
		0.638	202	0.427	199.7	99	218.2	152.3	200.2
		0.633	200.4	0.428	200.2	94	206	148	194.6
		0.633	200.4	0.428	200.2	94	207.2	148.7	195.4
	2	0.638	202	0.427	199.7	93	205	151.2	198.7
		0.627	198.6	0.426	199.2	89	196.2	151.9	199.7
		0.645	204.3	0.427	199.7	93	205	158.6	208.5
		0.640	202.7	0.426	199.2	93	205	156.7	205.8
		0.633	200.4	0.426	199.2	92	202.8	153.8	202.2
B	3	0.605	191.7	0.428	200.2	90	198.4	152.8	200.7
		0.650	205.8	0.428	200.2	90	198.4	152.8	200.7
		0.622	197	0.428	200.2	84	185.2	148.1	194.7
		0.620	196.3	0.428	200.2	88	194	152.8	202.2
		0.626	198.2	0.428	200.2	89	196.2	151.2	198.8
	4	0.618	195.6	0.429	200.7	82	180.8	148.5	195.2
		0.645	204.2	0.429	200.7	90	198.3	153.9	202.3
		0.642	203.3	0.428	200.2	90	198.3	157.4	206.8
		0.630	199.5	0.429	200.7	85	187.3	148.2	193.4
		0.634	200.8	0.429	200.7	90	198.3	153.5	201.8

分 散 分 析 表

定 量 法		ホルマリニアゾ法		紫外部吸収測定法		螢光法 (赤血塩法)		螢 光 法 (プロムチアン法)	
要 因	df	平 方 和	平均平方	平 方 和	平均平方	平 方 和	平均平方	平 方 和	平均平方
全 体	19	221.02	11.632	4.852	0.2443	1535.01	80.78	314.25	14.537
級 間	3	39.52	13.14	3.759	1.253	995.81	331.94	74.53	24.84
級 内	16	181.50	10.08	1.093	0.0683	539.2	32.7	239.72	13.982

級内の変動は反応操作及び測定操作による誤差であり、級間はこれに希釈操作による変動の加わつたものである。各方法の級内と級間を比較すると紫外部吸収測定にはその間に有意の差があるが、他の方法にはない。これは紫外部吸収測定法の誤差に希釈操作による誤差が強く影響していることを示す。

定量法の誤差としては紫外部吸収測定法が一番小さいが、これは本法に反応操作が伴わないので当然である。他の3法については等分散の検定からホルマリニアゾ法とプロムチアン法、プロムチアン法と赤血塩法の間には不偏分散に有意の差があるが、これだけの実験では級内の誤差が2つのチオクローム法の間に殆んど差がないのでそれぞれの方法の間の誤差が違ふと断定するのは早計であるか、一応誤差から定量法の順位をつけると紫外部吸収測定法、ホルマリニアゾ法、プロムチアン法、赤血塩法となる。

Table I から各方法の誤差百分率を求めると次のようになる。

ホルマリニアゾ法	1.701%
紫外部吸収測定法	0.247
チオクローム法 (プロムチアン法)	1.907
〃 (赤血塩法)	4.494

終りに本研究発表の機会を与えられた研究所長桑田 智博士に謹謝し、統計面で御助言を下さった門川清美氏に深謝する。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

The sources of errors in the fluorescent method (potassium ferricyanide and cyanogen bromide methods), formaldehyde-azo method, and ultraviolet absorption measurements for the determination of vitamin B₁ were taken up, experimental designs made accordingly, and errors were comparatively examined statistically. The order in which less error occurred were ultraviolet absorption measurements, formaldehyde-azo, cyanogen bromide, and ferricyanide methods.

(Received September 10, 1953)

340. 富田眞雄, 渡邊恭男: Diphenyl Ether 誘導体の Grignard 試薬による開裂反応 (第2報¹⁾)

Masao Tomita and Yasuo Watanabe: Cleavage Reaction of Diphenyl Ether Derivatives by Grignard Reagent. II.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto*)

前報¹⁾で著者等は数種の methoxydiphenyl ether 誘導体に無水塩化コバルトの存在の下に butyl- 或いは *tert*-butylmagnesium bromide を作用せしめる時は何れも diphenyl ether を構成するエーテル型酸素結合が切断されること、並びにその切断方向は液体アンモニア中金属ナトリウムによる開裂反応の場合とは全く反対なることを明かにした。著者等は本反応を構造式 (I) 或いは (II) 等で示される biscoclaurine 型塩基の分解反応に応用する目的で更に数種の基本型物質の切断反応につき吟味したのでその結果を報告する。

* Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

1) 富田, 渡辺: 本誌 73, 918 (1953).