321. 溝淵貫一： ゲンノショウコ試験法研究（第2報） メチレン青による定量値と
皮粉使用の定量値との関係について

Kan-ichi Mizobuchi : Studies on the Test Method for *Geranium nepalense* Sweet. II.*
On the Relation between the Determination Value of Tannic Acid by
Methylene Blue and that Determined by the Method Using Hide Powder.

(Faculty of Pharmacy, Tokushima University**)

タンニン酸がメチレン青をD化***する力を利用してタンニン酸含有生薬中のタンニン酸の定量が可能であることが明らかにされた¹⁾ので著者はゲンノショウコの葉体についてはこのD化法定量値と皮粉使用定量値²⁾との間には如何なる関係があるかを明らかにして簡易且つ迅速に出来るゲンノショウコ中のタンニン酸の新定量法発見の目的で本研究を行い次の各項を明らかにすることが出来た。即ち(1)メチレン青D化法による定量には標準タンニン酸溶液と検液との組み合わせ方によつて3方法 (Table I) が考えられるがこのうち検液組と標準組と組合

Table I. Combination Method, Content of Each Class, and its
Concentration Exponent

Name of method Combination	1st Method A×C	2nd Method B×C	3rd Method A×C
Name of class	Contents, concentration exponent		
A	{ Mixture of the test soln. and methylene blue soln. C. E. of the test soln. C. E. 3, C. E. 4, C. E. 5, C. E. 6, C. E. 7		
B	{ Mixture of the standard tannic acid soln. and methylene blue soln. C. E. of the standard tannic acid soln. C. E. 1, C. E. 2, C. E. 3, C. E. 4, C. E. 5		
C	{ Mixture of methylene blue soln. plus the mixture of the standard tannic acid soln. and the test soln. C. E. of the standard tannic acid soln. C. E. 2, C. E. 3, C. E. 4, C. E. 5, C. E. 6 C. E. of the test soln. C. E. 3, C. E. 4, C. E. 5, C. E. 6, C. E. 7		

The methylene blue soln. contains gram equivalent of NaOH.

わせる定量法が最適である, (2) D化法定量値をY, 皮粉使用の定量値をXとすると常に $Y > X$ であるがこの原因はクエルチリン, クエルセチン並びに没食子酸等によるものであると考えられる, (3) YとXの間には次報で詳論する如く皮粉でタンニン酸を除去した検液についてのD化法定量値は年間を通じて極めて小さく且つ変動も僅かであることから $X = \left(\frac{Y+1.5}{1.25} \right) \frac{A}{100}$ (但しAは標準タンニン酸の純度) なる関係式が成立する。従つて検体ゲンノショウコのY値を実測すれば本式を利用することによつて容易に皮粉使用の定量値に近似的なタンニン酸含有量を推定することが可能である。

本研究は徳島大伊東教授を主班とする毛管分析による和漢薬試験法研究の1部であつて本研究実施に当り終始御指導を賜つた伊東教授に深謝する。なお研究費は昭和27年, 28年度の文部省科学試験研究費の1部を使用した重ねて謝意を表する。

実 験 の 部

D化用メチレン青水溶液, 検体, 並びに検液の調製法は第1報* の場合と同様である。

検液組 (A) の調製法 検液 5 cc に蒸留水 15 cc を加えて 20 cc とし 1000 倍希釈液 (C. E. 2) としこの

* 第1報: 本誌 74, 943 (1954).

** 1-Chome, Shomachi, Tokushima.

** 前報参照

1) 伊東, 溝淵: 徳大薬研, 1, 69, (1952).

2) 国際皮革工業化学者会議協定法を指す。

5 cc を順次 2 倍希釈して C. E. 2, C. E. 3, … C. E. 6 の 5 種液を作製し各々に D 化用メチレン青溶液 5 cc を混じて攪拌し各々を 2 等分する（同じものが 2 組出来る）各々の 1 組を A 組とする。

標準タンニン酸水溶液組 (B) の調製法 カルバム製タンニン酸の 100 mg/10L 水溶液を作り原液 (C. E. 0) となし上記と同様にして C. E. 0, C. E. 1, … C. E. 4 の 5 種液を作製し各々に D 化用メチレン青溶液 5 cc を加え上記と同様にして各々の 1 組を B 組とする。

検液と標準タンニン酸溶液 (C) の調製法 検液の C. E. 1 液 5 cc に標準タンニン酸溶液 5 cc を混じこれを 2 等分しこの 1 つを蒸留水で順次 2 倍希釈し 16 倍希釈液まで作製して他の 1 つ共で 5 種液を作製する。各々に上記と同様に D 化用メチレン青溶液を混じて各々を等分し各々の 1 組を C 組とする。

D 化法定量実施 使用の沷紙は東洋沷紙 No. 50, 2 cm×30 cc. 容器は内径, 内高共に 3 cc のガラス円筒である。A, B, C 各組の濃度指数は Table I で示すとおりである。別に D 化用メチレン青溶液のみの C. E. 0,

Fig. 1

C. E. 1, … C. E. 4, の 5 種液を作製して D 組となし作像条件を標示する。Fig. 1 で示すように A, B, C 組を隣接して配列しこれらに沷紙を垂らして液が吸盡くされるまで放置し沷紙が乾燥後各々のメチレン青の昇高 y を測定する。本研究実施中温度 8~35°, 湿度 68~90%の間では D 組の C. E. 0 のメチレン青の昇高は 15 cm に等しいか又はこれよりやや小であつたので $C=15$ (C 組の C でない) として各像の $\log_2(c-y)$ を求める。Fig 1 で示す如くセクションペーパーを用い C. E. を横軸に、各々の C. E. に対する $\log_2(c-y)$ 値を縦軸線にとり、かくして得られる点を最も多く通過する平行直線を引く。

計算法 検液 (原液) 100 cc 中のタンニン酸量を x mg とし A, B, C 各組の最初のを便宜上 C. E. 0

Table II. Relation between C. E. and mg./100 cc. (ITO)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	100	99.2	98.7	98.0	97.2	96.6	96.0	95.2	94.6	94.0
0.1	93.2	92.6	92.0	91.3	90.7	90.1	89.7	88.9	88.2	87.6
0.2	87.0	86.4	85.9	85.3	84.7	84.1	83.5	83.0	82.4	81.9
0.3	81.3	80.7	80.2	79.6	79.1	78.5	78.0	77.4	76.9	76.3
0.4	75.9	75.4	74.7	74.3	73.8	73.3	72.8	72.3	71.8	71.3
0.5	70.8	70.2	69.7	69.2	68.7	68.3	67.8	67.3	66.9	66.4
0.6	65.9	65.5	65.0	64.6	64.1	63.7	63.3	63.0	62.4	62.0
0.7	61.5	61.1	60.7	60.3	59.9	59.4	59.0	58.7	58.2	57.8
0.8	57.4	57.0	56.6	56.2	55.9	55.5	55.1	54.7	54.3	54.0
0.9	53.6	53.2	52.8	52.5	52.1	51.8	51.4	51.1	50.7	50.4

1.0	50.0	49.6	49.3	49.0	48.6	48.3	48.0	47.6	47.3	47.0
1.1	46.7	46.3	46.0	45.7	45.4	45.1	44.8	44.5	44.2	43.8
1.2	43.5	43.0	42.9	42.7	42.4	42.1	41.8	41.5	41.2	40.9
1.3	40.6	40.4	40.1	39.8	39.5	39.3	39.0	38.7	38.5	38.2
1.4	37.9	37.7	37.4	37.1	36.9	36.6	36.4	36.1	35.9	35.7
1.5	35.3	35.1	34.8	34.6	34.4	34.1	33.9	33.7	33.4	33.2
1.6	33.0	32.7	32.5	32.3	32.1	31.9	31.6	31.4	31.2	31.0
1.7	30.8	30.6	30.4	30.1	29.9	29.7	29.5	29.3	29.1	29.0
1.8	28.7	28.5	28.3	28.1	27.9	27.7	27.6	27.4	27.2	27.0
1.9	26.8	26.6	26.4	26.3	26.1	25.9	25.7	25.5	25.3	25.2
2.0	25.0	24.8	24.2	24.5	24.3	24.2	24.0	23.8	23.6	23.5

とする。(1) $A \times B$ の場合 A の C.E. 0 の $\log_2(c-y)$ と B の C.E. 1.14 の $\log_2(c-y)$ とが等しいので両者のタンニン酸含量は等しいという考えから A C.E. 0 = B C.E. 1.14...I なる関係が得られる。 A の C.E. 0 は原液の $1/8$ に当る (Table I 参照) 従つて含有されるタンニン酸量も $x/8$ となる。 B C.E. 0 は原液の $1/2$ に当り標準タンニン酸量は 50 mg となる。C.E. 1.14 は (Table II³⁾ 参照) 0.454 に当る。従つて I 式より $x/8 = 50 \text{ mg} \times 0.454$ なる式が得られる。本式より $x = 181.6 \text{ mg}$ 即ち $x = 18.16\%$ となる。(2) $A \times C$ の場合 同様に A C.E. 0 = C C.E. 1...II 式が得られる。此場合の C.C.E. 0 は標準タンニン酸は $1/4$ 、検液は $1/8$ に希釈されている (Table I 参照) この C.E. 1 は Table II より 0.5 に当るので C C.E. 1 は $(x/8 + 25 \text{ mg}) 0.5$ となり従つて II 式は $x/8 = (x/8 + 25 \text{ mg}) 0.5$ となる。本式より $x = 200 \text{ mg}$ 即ち $x = 20\%$ となる。(3) $B \times C$ の場合 同様に B C.E. 0.15 = C C.E. 0...III 式が得られる。 B の C.E. 0 は 50 mg であつて C E. 0.15 は表により 0.901 であるので B C.E. 0.15 は $50 \text{ mg} \times 0.901$ となる。従つて III 式より $50 \text{ mg} \times 0.901 = x/8 + 25 \text{ mg}$ なる式が得られこれより $x = 160.4 \text{ mg}$ 即ち $x = 16.04\%$ となる。

Table III. Determination Value of Tannic Acid by Methylene Blue

Exptl. group No.	Determination value %			Average value	Difference	Exptl. group No.	Determination value %			Average value	Difference
	by 1st method	by 2nd method	by 3rd method				by 1st method	by 2nd method	by 3rd method		
2	20.00	22.00	18.00	19.80	0.7	30	23.50	27.00	21.40	25.30	0.2
	20.00	19.00	18.00				24.10	28.40	23.80		
	21.00	20.00	20.00				26.40	25.70	24.00		
	21.00	21.00	18.00				26.40	28.40	24.00		
	20.50						25.10				
3	25.00	25.00	23.00	22.80	0.5	31	18.70	20.00	18.60	19.50	0
	27.00	28.00	22.00				18.90	18.70	17.30		
	20.00	22.00	18.00				20.20	22.10	18.10		
	21.00	25.00	18.00				20.20	21.50	19.20		
	23.30						19.50				
5	23.00	24.00	21.00	22.66	0.2	32	17.40	16.40	17.30	18.40	0
	22.00	25.00	20.00				18.00	18.70	17.30		
	24.00	25.00	22.00				18.00	18.70	17.30		
	22.00	25.00	20.00				20.00	23.10	18.60		
	22.80						18.40				
6	22.00	24.00	20.00	21.20	0.1	34	23.00	20.80	22.90	23.90	0.1
	22.00	25.00	19.00				23.50	25.70	21.10		
	20.00	21.00	18.00				24.30	29.00	20.80		
	21.00	22.00	20.00				25.00	26.00	25.00		
	21.30						24.00				
7	24.00	29.00	20.00	23.80	0.3	36	19.30	20.90	19.70	19.30	0.4
	23.00	27.00	21.00				19.00	25.70	13.60		
	24.00	29.00	20.00				18.20	20.00	16.00		
	23.00	27.00	19.00				19.00	25.00	14.00		
	23.50						18.90				
8	21.00	27.00	17.00			38	30.70	32.00	29.30		

	24.00		19.00			29.90	31.30	27.00		
	20.00	23.00	17.00			32.50		27.60		
	21.00	23.00	20.00							
	21.50			21.10	0.4	31.00			30.10	0.9
16	19.00	21.00	17.00			39	24.60	25.00	24.40	
	21.00	21.00	20.00				25.00	25.70	24.40	
	21.00	25.00	21.00				25.00	26.00		
	22.00	25.60	20.00							
	20.80			21.10	0.3		24.90		25.00	0.1
17	20.00	26.00	16.00			41	25.50	25.00	25.70	
	21.00	27.00	16.00				23.70	29.40	26.00	
	19.00	25.00	14.00				26.40		22.90	
	18.00	24.00	15.00				26.40		23.50	
	19.50			20.10	0.6		25.50		25.40	0.1
19	16.00	19.00	14.00			43	24.00	27.00	21.60	
	19.00		13.00				23.00	25.00	21.60	
	16.00	20.00	13.00				24.00	27.00	21.20	
	17.00	22.00	13.00				24.00	24.50	23.80	
	17.00			16.50	0.5		23.80		23.90	0.1
20	20.00	25.00	16.00			51	9.70		7.00	
	19.00	23.00	16.00				7.80	12.30	6.20	
	19.00	27.00	13.00				9.70	13.60	8.40	
	19.00	22.00	17.00				11.20	11.40	11.10	
	19.30			18.70	0.6		9.60		9.70	0.1
22	22.00	29.00	17.00			53	19.30	19.10	19.20	
	23.00	29.00	18.60				20.70	21.50	20.00	
	23.00	25.00	21.00				19.30	20.60	18.10	
	22.00	24.00	21.00				20.40	23.10	19.20	
	22.50			22.90	0.4		19.90		20.00	0.1
23	19.30	19.20	19.20			54	23.00	24.80	21.70	
	20.30	20.60	20.00				23.00	24.80	21.70	
	23.70	29.00	20.00				22.70	22.30	23.80	
	23.70	29.50	19.50				23.00	22.80	24.60	
	21.80			22.00	0.2		22.90		23.20	0.3
24	23.60	29.00	19.60			56	25.20	25.00	23.00	
	22.00	24.50	21.00				23.80	29.30	23.00	
	19.30	20.00	18.60				22.60	27.00	22.00	
	21.40	25.70	17.80				26.40	27.00	23.00	
	21.60			21.90	0.3		24.50		24.80	0.1
27	22.80	28.40	20.20			57	31.40	34.80	29.20	
	21.40	24.10	20.80				30.80		26.00	
	20.00	20.50	20.80				30.80		29.20	
	20.70	22.10	20.50				31.40		25.40	
	21.20			21.30	0.1				29.70	0.4
29	13.80	14.50	12.50			58	25.20	30.90	21.40	
	15.90	19.70	14.80				23.80	25.40	22.10	
	13.20	16.40	10.80				22.60	25.70	20.00	
	10.70	10.30	11.40				26.40	29.30	21.70	
	13.40			13.70	0.3		24.50		24.80	0.3

* Difference between the average value of the three methods and that of four determination values by the 1st method.

Table IV. Comparison between the Three Determination Values

Exptl. group No.	Determination value by the methylene blue D-fied method	Determination value by the method using hide powder*	Value** calcd. from formula $Y=1.25X-1.5$	Difference between the value calcd. from the formula and that of the method using hide powder
5	22.8	20.0	19.4	0.6
6	21.3	18.0	18.2	0.2
8	21.5	18.4	18.4	0
9	23.5	19.0	20.0	1.0
11	24.9	21.5	21.1	0.4

12	20.3	17.5	17.4	0.1
20	19.3	17.0	16.0	0.4
21	23.8	20.7	20.2	0.5
23	21.8	18.7	18.6	0.1
25	28.4	24.8	23.9	0.9
26	26.9	22.5	22.7	0.2
27	21.2	17.6	18.1	0.5
28	26.0	22.2	22.0	0.3
31	19.5	17.1	16.8	0.3
33	25.5	21.4	21.6	0.2
36	18.9	15.9	16.3	0.4
38	31.0	25.8	26.0	0.2
39	25.0	21.8	21.2	0.6
43	23.8	19.4	20.2	0.8
53	19.9	16.6	17.1	0.5
54	22.9	19.0	19.5	0.5
55	24.5	21.3	20.8	0.5
56	24.7	21.7	21.0	0.7
57	31.1	25.4	26.1	0.7

* Method of the International Association of Leather Trade Chemist.

** Value of X obtained by replacing the determination value of the methylene blue D-fied method in Y .

Fig. 2

第1法による定量値を検体のD化定量値として Y とし同一検体について皮粉使用の定量値を X として 24 検体について X, Y を求めると Table IV で示すようになる。 X, Y のグラフを求めると Fig. 2 で示すように直線関係が得られ定規法で決定した係数を代入すると $Y=1.25X-1.5$ なる関係式が得られる。

考察 D化法定量に関しては標準タンニン酸溶液組との組合せ方によつて3つの法が考えられ各法についての検討は既になされている⁴⁾ のでゲンノショウコについてはいずれの方法が最適であるかを研究する目的で 30 検体について3法による定量実験結果をまとめると Table III で示すようになる。本表において各検体とも第1法の定量値は第2法と第3法値の中間を示し且つ各検体ともそれぞれについての総平均値は第1法による4実験例の平均値と略一致することが認められることから第1法による定量実験の平均値をその検体のD化法による定量として採用し、24 検

体についてD化法定量と皮粉使用の定量とを平行して行いその結果をまとめると Table IV の如くなる。即ち常に $Y > X$ となる。この原因を追求中黄芩においてメチレン青をD化し塩化第2鉄試液に対してタンニン酸の如き反応を呈するものはオオゴニン、バイカリン等であること認めた⁵⁾。ゲンノショウコの成分中これらに近似のものはクエルチトリン、クエルセチン等であるので、純粹クエルチトリンについて実験し、D化力を有することを確認した。ここにおいて $Y > X$ の原因は本実験並びに従来の文献で報ぜられていることから推してクエルチトリン、クエルセチン並びに没食子酸 (D化力を有する⁴⁾) 等によると考えられる。なおクエルチトリン、クエルセチン並びに没食子酸等をゲンノショウコ中の非タンニン質と呼称することを提案する。 X, Y 間の関係式 $Y=1.25X-1.5$ における恒数は温度 $8 \sim 35^\circ$ 、湿度 $68 \sim 90\%$ の間では使用用紙の種類によつて定まるものである。本式よ

4) 伊東, 溝淵: 徳大薬研, 1, 69, (1952).

5) 東, 溝淵: 生薬学雑誌に発表の予定

り $X = \frac{Y+1.5}{1.25}$ 式が導かれ Y に実測値を代入するとゲンノシヨウコ中 (葉体のみ) のタンニン酸含量値の推定が可能となるが本研究では X, Y の関係を見るために一応標準タンニン酸を 100% のものとして計算したが実際は 100% 以下であり従つて両定量値の差は Table IV に示すより更に小となることが考えられる。

徳島大学薬学部

Summary

Determination of tannic acid in Geranium (dried herb of *Geranium nepalense*) by methylene blue can be divided into three methods by the combination of the tannic acid solution used as the standard and the sample solution. Experimental results indicated that the determination by the combination of the sample solution and standard tannic acid solution was the best method. Using the same sample and taking X as the value determined with hide powder and Y as the value of determination by methylene blue, the relationship between X and Y may be indicated by $X = \frac{Y + 1.5 \times \frac{A}{100}}{1.25 \times \frac{A}{100}}$ (where A is the purity of the standard tannic acid solution). Therefore, by the actual measurement of Y , tannic acid content approximating X can be obtained.

(Received June 17, 1954)

321. 溝淵貫一： ゲンノシヨウコ試験法研究 (第3報) ゲンノシヨウコ中メチレン青 D 化性非タンニン質量について

Kan-ichi Mizobuchi: Studies on the Test Method for *Geranium nepalense* Sweet.

III. On the Quantity of Non-tannic Substances of *Geranium nepalense* Sweet which D-Fies Methylene Blue.

(Faculty of Pharmacy, Tokushima University)

第2報でゲンノシヨウコ中のタンニン酸含量に関して標準として使用したタンニン酸を一応純度 100% とするとメチレン青による定量 (メチレン青 D 化法による定量) 値は皮粉使用の定量値より大であつてこれはゲンノシヨウコ中の非タンニン質によると考えられると報じた。しかしながらこのことが確認されるためには使用した標準用タンニン酸の純度を決定し、この結果をもつて標準用タンニン酸溶液についての両定量値の関係を明らかにする必要がある。これらの事項を究明して更に両定量値に差があつてこの差が非タンニン質とすればゲンノシヨウコ (葉体) に含有される量はゲンノシヨウコ中メチレン青総 D 化物質量に対して如何なる割合にあるかを明らかにする目的で本研究を開始し、次の各項を明らかにすることが出来た。即ち (1) 標準として使用したカルバムタンニン酸の純度は 88% で、従つて第2報で報じたメチレン青による定量値を補正すると予期した如く皮粉使用の定量値との差は少くなり、更に第2報で明らかにすることが出来たメチレン青による定量値を Y 、皮粉使用の定量値を X とする時の $X = \frac{Y + 1.05 \times \frac{A}{100}}{1.25 \times \frac{A}{100}}$ なる式において $\frac{A}{100}$ の代りに 0.88 を代入して Y を実測すれば本

式を利用することによつて皮粉使用の定量値に近似的なタンニン酸含有量を推定することが出来る。(2) 標準用タンニン酸水溶液についての両定量値は実験誤差範囲内では等しい。(3) 非タンニン質量は実験誤差と考えられる少数例を除くと主としてゲンノシヨウコ中メチレン青総 D 化物質量の 2~8% である。(4) メチレン青総 D 化物質量値 Y を用いてゲンノシヨウコ中のタンニン酸量 X を (2) より求めることが出来るが (3) の