

オーレオマイシンの化学的 測定法に就いて*

藤井 審・富田輝雄

On the Chemical Determination of Aureomycin by Titrating
Organic Chlorine in Aureomycin Molecule

By

Minoru FUJII and Teruo TOMIDA

The organic chlorine in aureomycin molecule is liberated by heating-5minutes-of aureomycin preparation with 5 ml. of kalium-permanganate solution (4g/100 cc) and ca. 9 ml. of N-NaOH to make alkaline. After that, it is cooled, 5 ml. of glucose solution (50 %) added to decolorize it, and then acidified with 5ml. of 5N-HNO₃. White precipitations are resulted from adding 10 ml. of N/50 AgNO₃ solution in it, so after filtrating it, the excess of silver-solution is titrated with N/50 (NH₄)—CNS-saturated solution using 0.5 ml. of Fe(NH₄)(SO₄)₂-solution as indicator.

Content(mg) of aureomycin in sample will be calculated as following equation:

$$0.7092\text{mg} \times (A - B) \times \frac{478.5}{35.5} = AM \text{ mg.}$$

A : Total chlorine in sample

B : Unorganic chlorine in sample ; N/50 AgNO₃ 1 cc = 0.7092 mg Cl.

The results thus obtained by this chemical method are excellent until ca. 100 mg. of total chlorine in sample.

緒 言

魚肉の鮮度保持の為種々の抗生素が使用せられて好結果を得ている。特にオーレオマイシン (Aureomycin—AMと略す) の効果が著しく認められ既に広く実用化されつつある。併しAMの作用機転に関してはいくつかの研究があり、或は磷の代謝を阻止するとか或は適応酵素の形成を阻止するとかいわれているが、AMの直接的な作用に就いては未決定である。而してAMの保藏効果及びその効果的な使用法を知るためにはAMを出来るだけ正確に測定する必要がある。測定方法として今日行われているのは細菌に対するAMの作用力から測定するカップ法及び重層法或は光電比色計を用いる比濁法やAMの濃度を直接計る比色計法等がある。細菌を用いる方法は最も直接的で又実際的であるが、常時細菌を保存していない所では実施出

* 水産講習所研究業績 第212号

来ないし、実施しても菌の取扱いに相当の修練を要し、どんな実験室でも手堅に行うというわけにはいかない。比色法は最も簡単でAMの純粹溶液に就いての試験では良い数値を得たが稀釀度が過ぎると不正確になり易い。著者等はAM分子構成員である塩素を定量する方法を考案し、AMの標準液を測定した所光電比色計を用いた場合と同じ成績を示した。尙此の方法はすべての有機態塩素を測定するものであるから若しAM分子環が開裂して不活性になつた様な状態に於ても尙塩素が結合しているならば此の塩素をも併せ測定するわけである。この様な懸念から2, 3の実験を試みたのであるが、過マンガン酸カリの酸化過程に於て芳香環の開裂に先だつて容易に塩素は遊離される様な結果を得た。

即ち有機態塩素として測定したものはすべてAM分子より遊離したものと推定して差支えないものと思う。

実験の部

測定方法

試料にKMnO₄ 5 cc (4 g/100 cc) 及びN—NaOH約9 ccを添加し反応液をpH 9~10とし加熱沸騰を5分間持続させ、冷却後グルコーズ5 cc (約50%のもの) を添加して脱色し次に5 N—HNO₃ 5 ccを添加して酸性とし濾過し濾液にN/50AgNO₃液10 ccを加えると白沈を生ずる。濾過水洗し全濾液を低温(砂皿上)で蒸発濃縮し約10 cc前後となし飽和硫酸第二鉄塩液(Fe (NH₄)₂(SO₄)₂) 0.5 ccを加え之を指示薬としてN/50(NH₄)CNSで滴定をする(Acc) 対照として同一試料を酸化することなく之に直ちに5 N—HNO₃ 5 cc及びN/50AgNO₃液を加え以下上述と同じ処理をして滴定を行う(B cc)。

(A-B) cc値は所謂有機態塩素を表すことになるから

$$0.7092 \text{ mg} \times (A-B) \times \frac{478.5}{35.5} = \text{AM mg.}$$

$$\text{N/50 AgNO}_3 1 \text{ cc} = 0.7092 \text{ mg} \cdots \text{Cl.}$$

1) AM溶液 (0.1 g/100 cc) の測定

純度90%といわれるAM粉末試料を用いて、0.1 g/100 cc濃度溶液を作り、その5 ccを用いて前記の方法により測定し同時に光電比色計により測定した値と比較した結果は第1表の通りである。

Table 1. Determination of aureomycin by the chemical method and by means of photoelectric colorimeter.

Analytical value	Chemical method.
0.087 %	Total chlorine = 12.4466 mg Unorganic chlorine = 6.0788 mg $\therefore \text{AM-Cl} = 12.4466 - 6.0788 = 6.3678 \text{ mg}$
Analytical value	Photoelectric colorimeter
0.086%	(安田誠一氏測定…大洋漁業研究室)

この表の示す通り両測定値はよく一致する。併し光電比色計で測定する場合 0.05 %前後が最も信頼出来る値を得るとのことと、事実溶液の稀釀度が測定値に大きな影響をあたえることは次の結果から明である。即ち上記試料を $\frac{1}{10}$ 及び $\frac{1}{20}$ に稀釀した場合、比色計の読みは夫々 0.0071% 及び 0.0032% の値を示した。しかし化学的方法には此の様な缺点はない。

2) 塩化銀沈殿の可視限界

此の化学的方法は塩化銀の沈殿反応を基礎にしているのであるから、塩化銀として白色沈殿を認め得る最少量の塩素含量を知つておく必要がある。硝酸酸性にした N/50 AgNO₃ 10 cc 溶液に N/50 NaCl を滴加して白色沈殿を生ずる最少量を求めて反応液 1 cc 中の塩素量を算出した所 2.36r (as Cl) / 1 cc 反応液が限度であることを知つた。

3) 酸化剤 KMnO₄ (4 g/100 cc) 5 cc の酸化限界

アルカリ性に於て 5 cc の KMnO₄ の有する酸化限界を知るため、AM 試料の cc 数を変えて夫々酸化し総塩素量を求め第 2 表 (a.b) の如き結果を得た。この表の示す様に試料の倍数に応

Table 2. The maximum limit of oxidation-capacity of oxidizer-5cc of KMnO₄ (4g/100cc) —.

(a)

Aureomycin solution (0.1 g/100 cc) cc	Total-chlorine (mg)
5	0.6378
10	1.3106
15	2.0151

(b)

Aureomycin solution (0.1 g/100 cc) cc	Total-chlorine (mg)
5	0.6404
20	2.5700
30	3.9756
40	4.9657

じて実験値も夫々比例的数値を得たが、AM 40 cc の場合やや低い値であつた。即ち試料中の総塩素量が約 100 mg 以内の場合には正確なる値をあたえることを知つた。尙酸化液は AM 液が増加するにつれ黄色を増す。之は AM 分子中の芳香環の開裂が不充分になつてくるためと考えるが塩素原子はそれよりも容易に遊離されるということは測定値が夫々よく一致することからも明かである（この論文の大要は昭和 31 年 5 月日本水中国・四国支部例会に於て発表した）。