

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3833253号
(P3833253)

(45) 発行日 平成18年10月11日(2006.10.11)

(24) 登録日 平成18年7月28日(2006.7.28)

(51) Int. Cl.	F I		
GO 1 N 33/52 (2006.01)	GO 1 N 33/52	C	
GO 1 N 21/78 (2006.01)	GO 1 N 21/78	C	
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48	A	
GO 1 N 33/493 (2006.01)	GO 1 N 33/52	A	
	GO 1 N 33/493	A	

請求項の数 3 (全 4 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平8-526568</p> <p>(86) (22) 出願日 平成8年2月24日(1996.2.24)</p> <p>(65) 公表番号 特表平11-501724</p> <p>(43) 公表日 平成11年2月9日(1999.2.9)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/EP1996/000774</p> <p>(87) 国際公開番号 W01996/027794</p> <p>(87) 国際公開日 平成8年9月12日(1996.9.12)</p> <p>審査請求日 平成15年2月24日(2003.2.24)</p> <p>(31) 優先権主張番号 19507685.0</p> <p>(32) 優先日 平成7年3月4日(1995.3.4)</p> <p>(33) 優先権主張国 ドイツ(DE)</p>	<p>(73) 特許権者 メルク パテント ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフトング ドイツ連邦共和国 デー-64293 ダ ルムシュタット フランクフルター シ ュトラーセ 250</p> <p>(74) 代理人 弁理士 葛和 清司</p> <p>(72) 発明者 フィッシャー, ウォルフガング ドイツ連邦共和国 デー-64283 ダ ルムシュタット、クレーヴェーク 27</p> <p>(72) 発明者 グロー, トーマス ドイツ連邦共和国 デー-65451 ケ ルシュテルバッハ、フランクフルター シ ュトラーセ 32</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
---	--

(54) 【発明の名称】 ヨウ化物測定の方法と手段

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

サンプルを精製活性炭により前処理し、サンプル溶液をクロモゲンおよび過酸溶液と混合し、呈色反応を視覚的または測光的に評価することを特徴とする、尿中のヨウ化物の測定方法。

【請求項2】

サンプルを活性炭を含む抽出カラムにより前処理することを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

クロモゲンおよび過酸溶液を含む、精製活性炭により前処理された尿中のヨウ化物の測定キット。

【発明の詳細な説明】

本発明は、水溶液、好ましくは尿中のヨウ化物測定の方法と手段に関する。臨床診断において、尿中のヨウ化物の測定は甲状腺機能のモニターに重要な役割をする。食物や飼料中のヨウ化物の測定も、重要になって来ている。平常使用できる適当な速い方法は、今まで尿中のヨウ化物の測定について記載されていない。

よく知られている方法では、尿を強酸で処理するか、高温で灰化する。これに続いて、触媒量のヨウ化物の触媒作用によるセリウム(IV)イオンのセリウム(III)イオンへの還元を測定してヨウ化物の測定を行う(Sandell-Kolthoff反応)。強酸(70%中の過塩素酸カリ)での処理、または炭酸カリを用いた尿の乾燥灰化は、セリウムイオンの還元を邪

10

20

腐する物質を取り除くのに役立つ。これは有毒な過塩素酸蒸気を生成する結果となり、同様に生成する過塩素酸塩は爆発性であることが知られている。

クロロプロマジンと過酸化水素を用いるヨウ化物の測定方法が記載されている (Anal. Chim. Acta 282, 87 (1993)) が、これは特に尿、また食物や飼料にある多くの物質の干渉を受けやすい。更に、独国特許 (A 37 43 224) に、クロモゲンおよびヨウ化物がサンプル液に加えられた過酸の測定方法が開示されている。しかし、当業者は、この出版物からこの反応がヨウ化物の検出に用いられることができるとは類推できない。

本発明の目的は、要求される厳密な前処理や有毒物質の生成無しに、訓練されていない者でも、水溶液中のヨウ化物が少量であっても半定量的または定量的にさえ測定できる手段を用いるヨウ化物の測定の簡便で迅速な試験方法を提供することである。

10

本発明は、サンプル液をクロモゲンおよび過酸と混合し、呈色反応を視覚的または測光的に評価することを特徴とする水溶液中のヨウ化物の測定方法を提供するものである。尿中のヨウ化物の測定には、好ましくは、尿サンプルを精製活性炭によって前処理する。ここで、精製活性炭が抽出カラム中に存在すると好都合である。

本発明は、クロモゲン、過酸溶液および所望により、活性炭を含む抽出カラムを含む水溶液中のヨウ化物の測定手段を提供するものである。

本発明の方法は、干渉物に邪魔されにくく、尿中のヨウ化物の公知の測定方法よりも有意に速く行えることが発見された。ヨウ化物濃度が $6 \mu\text{g} / \text{dl}$ に低下しても、高濃度アニオンマトリックスの存在下で検出できる。有機マトリックスの無い水溶液において、ヨウ化物の検出の限界は $0.2 \mu\text{g} / \text{dl}$ である。

20

本発明の工程に、使用されるクロモゲンは、過酸の存在下触媒としてヨウ化物を用いて酸化できる文献公知の全てのクロモゲンでよい。好ましくは、*o*-および *p*-フェニレンジアミン、ベンチジンおよびベンチジン誘導体等の芳香族アミン、特にテトラメチルベンチジンが適当である。クロモゲン濃度は、1 から 5mM、好ましくは約 2.5mM である。

過酸溶液は、例えば、過酢酸、過プロピオン酸、過酪酸、過安息香酸等の水溶液、好ましくは過酢酸水溶液である。該水溶液の濃度は 1 から 5 %、好ましくは約 2.5% である。

本発明の手段は、過酸溶液およびクロモゲン溶液の二つの溶液から成るか、または過酸溶液は別にしてクロモゲンは、所望により有機酸と共に吸収マトリックスに含浸した形であってもよい。

使用できる吸収マトリックスは、迅速試験に通常使用される全てのものである。フィルターペーパーの使用が最も広がっているが、また他の吸収セルロース、グラスファイバーまたはプラスチック製品を使用できる。吸収支持体、好ましくはフィルターペーパーを、それ自体公知の方法でクロモゲンおよび、所望により、さらに必要な試薬を含む含浸液を用いて含浸する。含浸し乾燥したペーパーを正方形または長方形に作り、ついでそれ自体公知の方法でプラスチックフィルム、紙細片または金属細片の上にくっつけるか貼ることができる。

30

また、吸収支持体を、含浸の前または含浸の後に細片方向に垂直に切断されたプラスチックテープに、便利な棒を作るため細片状につけてもよい。

反応を最適 pH の範囲で進行させるためにクロモゲン溶液は、所望により、緩衝剤を含む。ヨウ化物の測定に必要な物質で含浸したマトリックスを用いて行うならば、緩衝剤の存在も都合がよい。

40

緩衝剤として、pH を 3 から 7 の範囲に保持し、検出反応に干渉しないものがよい。使用される緩衝剤濃度は、サンプル溶液の pH およびそこに存在する遊離の酸または塩基による。適当な緩衝剤は、クエン酸塩、リン酸塩、ホウ酸塩等の通常の塩である。好ましくは、クエン酸、マロン酸、コハク酸等の固形有機酸およびそれらの塩、特にクエン酸の使用である。即使用の緩衝液の代わりに、市販の濃縮緩衝剤の使用も可能である。

テトラメチルベンチジンをクロモゲンとして使用する場合、最強の呈色は約 4 の pH でおこる。7 までの pH 値を有する緩衝液も使用できるが、若干弱い検出限界となる。

尿中のヨウ化物の測定において、サンプル溶液を活性炭、特に精製活性炭によって前処理することが重要である。市販の活性炭上の干渉性の硫黄含有物質が、呈色反応に不利な影

50

響をもつから、精製が一般的に必要である。このために、活性炭を1N塩酸で処理し、ついで測定に使用される緩衝液で調整する。

好ましくは、活性炭をカラムにのせるから、活性炭の細孔サイズを50から150 μ mの範囲とする。もっと小さい細孔の場合、水溶液の透過が制限され、より大きい細孔の場合、活性炭の吸収性が弱くなる。抽出カラムは、一測定に対し活性炭約0.1から0.4g、好ましくは0.2gを含む。勿論、測定はバッチ法でも行われる。

活性炭を含む抽出カラムの助けを借りて尿中のヨウ化物の測定を、緩衝液で希釈した尿サンプルを調整カラムに導き行われ、その後このサンプルをすてる。次いで、分析される希釈尿サンプルをカラムによって精製し、測定容器またはキュベットに集める。このように前処理された尿サンプルをクロモゲン溶液、次いで過酸溶液と混合し、呈色反応を、予め決められた時間、例えば、一分後にカラースケールによるかまたは測光的に評価する。本発明の工程におけるヨウ化物の測定範囲は、ヨウ化物6から100 μ g/dlである。吸収支持体を使用するヨウ化物の測定において、測定範囲は20から200 μ g/dlである。

活性炭を用いるサンプル調製を、例えば、ミネラルウォーター、海水、食卓塩等のヨウ化物の測定においてははぶく。干渉マトリックスを除かねばならぬ場合とか、それ自体の色を有し、例えば、ミルクの場合を含むある種の食物や飼料において測光的または視覚的な評価を困難にする物質が存在すれば、サンプル調製が必要である。

実施例 1

試薬液

クロモゲン溶液の調製：

テトラメチルベンチジン600mgをエタノール1000mlに溶かす(2.5mM)。

即使用の緩衝液(pH4)は、水1000ml中にクエン酸11.7g、苛性ソーダ4.4gおよび塩化水素1.6gを含む。

過酸溶液は、水100ml中に過酸2.5gを含む。

実施例 2

尿中のヨウ化物の測定

a) サンプル調製

1N塩酸および実施例1で示された緩衝液を、活性炭0.2gを含む抽出カラムに順次導く。緩衝液で希釈された尿サンプル2ml(尿1ml、緩衝液4ml)をカラムに導き、すてる。次いで、希釈された尿サンプル2mlをカラムに導き、測定容器に集める。

b) 測定の実行

得られた尿サンプルを、2.5mMのテトラメチルベンチジン溶液200 μ l、次いで2.5%過酸溶液一滴と混合する。ヨウ化物の濃度に従って、緑から青の呈色反応が起こり、一分後カラースケールを用いて比較する。

測光的評価には、溶液を10mmキュベットに入れ、吸収極大を646nmで測定する。

実施例 3

試験棒の製造

テトラメチルベンチジン1.5gおよびクエン酸2.5gを順次、エタノール500mlおよび水100mlの混合物の中に攪拌しながら溶解する。

支持体としての8cm巾の白いPVCフィルムにくっつけられている6mm巾のペーパーの細片をクロモゲンを含む溶液で含浸する(適用量：ペーパー1mにつき含浸1ml)。乾燥後、フィルムを6mm巾の細片に切断する(試験棒)。

2.5%過酸溶液一滴を実施例2a)に従って調製された尿サンプルに加え、混合物を振り混ぜる。試験棒を直ちに約一秒浸す。余分の溶液を振り除く。約10秒余りしてから、比較をカラースケールを用いて行う。尿中の以下のヨウ化物濃度は、反応帯の異なる青の着色で区別できる：20、50、100、200 μ g/dl。

フロントページの続き

(72)発明者 バイル, シュテファニー
ドイツ連邦共和国 デー - 6 4 5 4 6 メルフェルデン、フリードリッヒ - エベルト - シュトラ
セ 1 0

審査官 竹中 靖典

(56)参考文献 特開平 0 1 - 1 9 7 6 5 3 (J P , A)
特開昭 5 6 - 1 2 5 6 6 8 (J P , A)
特開昭 5 3 - 0 4 8 7 9 6 (J P , A)
Endocrinol. Japon., 1 9 8 6 年, Vol.33 No.6, 9 0 5 - 9 1 1
北海道立衛生研究所報, 1 9 9 0 年, 40, 3 6 - 4 1

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/48 ~ 33/98
G01N 31/00 ~ 31/22