報 文

パーウキ一氏の糖定量法に就て

醫學博士 隈川宗雄

須藤憲三 共述

{M. Kumagawa u. K. Sato : Ein Beitrag zur Zuckertiterierung mit ammoniakalischer Kupferlösung nach Pavy. (Salkowski-Festschrift, 1904)}

フリング氏の糖定量法を行ふに當り亞酸化銅の析出により往々終反應を確認し得ざることもあり、此の困難は殊に尿中に存する糖の定量に際して著明に發現するものとす。尿の含糖量僅少にして強度の稀釋を許さざる場合に於ては、析出せる亞水酸化銅は常に乳狀を呈し全然終反應を認識するに能はず。加之析出したる亞酸化銅の一部は尿素の分解によりて發生するアンモニアクに溶解し且つ容易に再酸化 (Reoxydieren) せらるゝも、パーウキ一氏の法に據るときは之等の障礙を避くるを得。此の法にありては空氣の進入を杜絶して還元作用を發起せしむるを以て化生したる亞酸化銅は試薬中に存するアンモニアに因りて溶解せられ無色の液に變ず、即ちパーウキ一氏法に於ける終反應はアンモニア性酸化銅液の完全なる脱色に因りて徴知し得

パーウキ一氏の糖定量法に就て

るものとす。

近來コンハイム自氏は著論文(一)中に於てバ氏の糖定量法の甚だ簡單なるとを稱揚し、且つ注意して之の方法を行ふときは精確なる成績を得べきとを記せり。予等も亦數年來フーリング氏法の代りにバ氏法を採用し加之これに一二の改良を加へたり。

バ氏の法を正確ならしむるには滴定コルベン (Titrierkolben) 内に於ける空氣を充分に排除するを要す。滴定の際空氣がコルベン内に進入するときば、アンモニア液中に溶解せる亞酸化銅は容易に酸化せらるゝを以て、誤謬を醸し得べし。バ氏はコルベン内に於ける空氣の進入を防止せんが爲めアンモニア性銅液を煮沸しコルベン内に存する空氣を排除し滴定の際に於ても不絶沸騰せしめたり。然りと雖ども滴定の際銅液を熱すること強きに過ぐるときはアンモニアは速かに揮散し終反應に達せざる前に於て既に亞酸化銅を析出するに至る、この場合に於ては勿論試験が損失に終るものとす。既述の理由に基き小なる火焰を以て銅液を熱すること必要なるも、糖液を銅液中に滴下するの際温度の下降によりてコルベン内に於ける蒸氣張力の減少を來し外氣の浸入を免れざるものとす、この現象は殊に糖液を速かに滴加するときに於て起り、往々避くべからざることに屬す、之れを證明するには蒸氣の流出管にU字管を連結し管底には少許の水を盛り而して糖液を稍大なる速さに於てコルベン内

に注入するときは其都度外氣はU字管内の水を排してコルベン内に進入するを見るべし、之れによりて是れを観ればバ氏法にありては再酸化を免れざるものと如し之の關係に就ては猶後章に於て論述すべし。

アンモニア蒸氣の外氣中に逸散するを防ぐ爲めバ氏はU字管を蒸氣の流出口に連接し管内には稀硫酸又は水を以て濕したる浮石片を充填せり(二)然れども之の方法に因り充分なる目的を達すること能はず、爾來バ氏はU字管を全く撤去しアンモニア蒸氣をして大氣中に放散せしむるに至れり(三)バ氏法に附帶せる以上二箇の缺陷は予等の方法に因りて全く排除するを得たり、圖に於て明なるが如く還元コルベンより通散するアンモニア蒸氣を捕集せんが爲め予等は H_2SO_4 を容るべきエルレンマイエルン氏のコルベンを用ゐたり、この中には粗製硫酸約 50 水 100 及び 1—2cc. の硫酸銅液 (10%) を盛るべし、此の酸量は約三十回の糖定量に對して充分なり、酸に加へたる硫酸銅は遊離したるアンモニアに對する標指藥なり、硫酸中には小なる口径を有する硝子管を浸し、この管の下端は膨大して硝子瓣を有し、上端は直角に彎曲し厚壁のゴム管に因りてコルベンの瓦斯流出管に連接す、硝子瓣は還元コルベンより硫酸瓶の方向にのみ通路を開き空氣及び液體をしてコルベン内に逆流すること能はざらしむ、還元コルベン内に存する空氣はアンモニア銅液の煮沸に因りて排除

自然大、六分一

作用し得ること。是なり。試に被檢糖液中に含有せらるべき酸素量の概略を算定せん。

の理によりて
滴定の際外氣
は毫もコルベ
ン内に進入す
ることなし。然
りと雖ども猶
再酸化を發生
し得べき餘地
あり、即ち被檢
液(糖液)中に吸
收せられて存
在する酸素が
亞酸化銅に對
して酸化性に

10°Cに於ける水の空氣吸收率：0.01953(アンゼン氏に據る)

水中に吸收せられたる空氣中のO及Nの割合：35(N)：34(O)(ラントア)

10°C. 760 mm 氣壓に於ける酸素の密度1.0 cc. = 0.001362 克(アミノ)

バ氏に因れば一分子の無水葡萄糖は六分子の結晶硫酸銅を還元するを以て

180.096 : 1498.44 克

の割合なり

葡萄糖：硫酸銅

今若し糖液の空氣の吸收率を水のそれと同一なりと假定するときには10.8%の糖液中に吸収せらるゝ酸素の量は0.00009 g なるべし、この酸素の全量が再酸化に消費せられたりと假定するときには、之れが爲めに發生したる酸化銅の酸化力は0.00034 g の葡萄糖即ち0.1%の葡萄糖液0.34 cc.と其價を等うす。故に被檢糖液と共にコルペン中に進入する酸素量にして若し充分なる酸化性を有するものとするときには、到底省略すること能はざる量に屬す、故に予等は空氣を以て飽和したる糖液と瓦斯を含まざる糖液の還元作用に差異あるや否やを検するの必要を認めたり、此の目的に向つて予等はバ氏の記述に従ひ、アンモニア性銅液を調製したり、其集成は次の如し

(4) 結晶硫酸銅

4.158 g

酒石酸加里ナトロン

20.4 g

苛性加里

アセニ水(比重 0.88)

20.4g

300 cc

水を加へて總量を一リートルとなす。

この液 10cc はバ氏によれば 0.003g の無水葡萄糖に該當す、此液の調製に用ゐたる硫酸銅は數回結晶法を施し、猶一回シュミット氏の法(五)によりて精製したるものなり、此銅鹽を 115°C に於て乾燥したるに 98.75% の水を失ひたり、試験に供したる糖液は二種あり、共に 100°C に於て乾燥したるソックスレット氏の純葡萄糖を試験の當日に於て溶解したるものなり、(試験に供したる糖はメルク及カールバウム製藥所より購求したるものゝ二種にして共に同一強度の還元力を有せり)甲は 17-22°C に於て空氣を以て飽和したる水を以て造り、乙は瓦斯を含まざる水を以て造りたり、其の濃度は共に 0.1 及 0.2% なり、瓦斯を含まざる糖液の製法并にこの液をビュレットに盛る方法等に就ては特別なる裝置を要し、従て數多の圖解を要するが故に之れに關する説明を省略す、次に滴定に際して起るべき誤謬を豫防せんが爲め、一二の注意を述べ、一回の試験に對しては常に 20.0cc の銅液を取り 20cc の水を以て稀釋し、前に示したる裝置の各部を連結し、小ブンセン燈の最大なる燐を以て數秒間煮沸すべし、ブンセン燈の管頭は疎大なる網眼を有する銅網を以て被ひコルベン底を去ること約 1.5cm なるを良とす、

ホルベン内の空氣が全く驅出せられたる後、火燭を小(大豆大)にすべし、然れども猶ほホルベン内容は不斷弱く沸騰せざるべからず、こゝに於て糖液をビュレットより一定の速度に於て滴加し銅液の青色殆ど消褪したるときは糖液の滴加を止め約二分間弱く煮沸しつゝホルベン内容の脱色するや否やに注視し猶ほ青色を遺すときは0.05—0.1ccの糖液を追加し再び二分間觀察すべし、數回この操作を反覆し銅液の青色全く消褪し無色となるに至るべし、糖液の追加過剰なるときはホルベンの内容は黄色を呈す、この變色は既に0.1cc (0.1%糖液)の過剰追加に因りて現はるゝものなり、亞酸化銅の析出に因するものと混同視すべからず、この現象は無意味に大なる火燭を用ひアンモニアが速に揮散したるときに於て起るものなり、若し前述の方法に従ひ火燭を以て加熱するときは亞酸化銅を析出せしむることなく約三十分間加熱を持續するを得。

次表に掲げたる數は各自殆ど相一致する分析結果の平均數なり。

銅液の重量	糖下度の滴速	糖液の消費量			
		1.0% 瓦斯を含むもの	2.0% 瓦斯を含むもの	1.0%の糖液に換算するときは	2.0%の糖液に換算するときは
銅液及び水 各 20.0cc	30cc/2—3 (即ち一分時 間に約百二十滴)	9.81cc	9.82cc	4.88 (1.0%の糖液に換算するときは) 9.76cc	4.83 (1.0%の糖液に換算するときは) 9.66cc

報

文

以上の試験によるときは次の事實を推斷するを得べし。

(一) 糖液滴加の速度は定限内(一分時間に $8-10$ 滴)に於ては糖の還元作用に殆ど影響なし、然れども以上の表を精細に觀察するときには糖液滴加の速度を減じ、煮沸時間を延長するに従ひ、稍や其の還元力を増加するを見るべし。

(二) 瓦斯を含まざる糖液と空氣を以て飽和したる糖液の還元力が殆ど全く同一なる事は豫想外なりしも、實驗上明瞭なりとす、其の理由としては二箇の出來得べき條件あり、第一、コルベン内に滴加せらるる糖液中の酸素量は既述の計算に因りて得たるものに比すれば甚だ僅少にして再酸化に對しては毫も影響を來さざること、第二、酸素は理論上の量に於て糖液と共に銅液中に進入するも、沸點に於ては亞酸化銅を酸化することなく、アンモニア蒸氣によりて直に銅液中より排除せらるること、この二途に外ならざるべし、之の兩條件の事實に近きことに就ては後更に記載する所あるべし、其の何たるを問はず以上の結果によりて實地上樞要なる事實を得たり、即ち滴定の際糖液の瓦斯含量に對し毫も注意するの要なきことは是れなり。

(三) 表に示したる數は各自相符合する數多の成績の平均數にして、しかも各數の相

銅液及び水 各 20.0cc	9.5cc/5-6 (一分間に約六 十滴の割合)	9.60cc	9.72	4.83cc (1.0%の糖液に 換算するとき) 9.60cc	4.83cc (1.0%の糖液に 換算するとき) 9.60cc
-------------------	--------------------------------	--------	------	--	--

互の差は甚だ僅少なるを以て、予等はこれより 9.72cc なる平均數を算定し、以下の觀察に對する基礎となし得るを信ず、バ氏の銅液 20.0cc は氏の記載によれば 0.1% の糖液 10.0cc に相當すべき割合なるも、予等のこの試験成績によるときは僅に 9.72cc を以て足れりとす。故に予等の方法に在りては試薬一リール中に 4.278g (バ氏の 4.158g に對して) の結晶硫酸銅を要する割合なり、以上の理由に基き予等はバ氏液中の硫酸銅量を變更して 4.278g となし他の成分は總て同氏の記載に憑據し一新銅液を調製したり、この新銅液 20.0cc は予等の裝置を用ゐたる場合に於ては 0.1% の糖液 10.0cc に該當するものとす。

バ氏の銅量と予等の銅量との差即ち 0.13g に就ては如何の説明を與ふべきか、既に述べたるが如くバ氏の法に従て滴定するときはコルベン内に多少空氣の進入するを免れざるを以て、再酸化を發し得るも、予等の裝置を用るときは再酸化を全く防ぎ得るものとす、亞酸化銅の再酸化せらるゝこと多きときは、從て多量の糖液を用ゐざるべからざるは當然の理なり。この故に、予等はバ氏法に於ける糖量の過剰消費は空氣中の酸素に因りて惹起せらるゝ再酸化に歸すべきものゝ如く思考せり、然るに空氣を以て飽和したる糖液を以て滴定するも、其酸素は再酸化性に作用せざるを以て見れば、前述の推測は當を得たるものに非ざること明なり、故に予等は他の方面に向つ

て其の原因を探ぐりたり。

予等はレービン氏(六)に従ひ、一回の定量に銅液 30cc を採り同量の水を以て稀釋したり、此稀釋の倍數は數多の試験によりて最も當を得たるものと認む、然るにバ氏は彼の著書(Physiologie der Kohlenhydrate)(7)に或は 10cc の銅液を 30cc の水を以て稀釋すべしと記載せり。かのレービン氏の著書中にある混合の割合は蓋しバ氏か最初になしたる報告の抄録に外ならざるべきを以て、バ氏も嘗て 30cc の銅液を稀釋するに 30cc の水を用ゐたりしを推察し得べし、然るにバ氏が爾來少量の銅液を用ゐたるは將して如何なる理由に基けるか、蓋し次に陳ふる處のバ氏の所說によりて明に窺ひ知るを得べし曰く定量を行ふには「又は 30cc の銅液を用ふべし、何となればこの量を取りたる場合に於ては揮散するアンモニアに因りて毫も不快を感ぜざるべければなり」と氏は又記して曰く「安然に煮沸し得んが爲め」或は 30cc の銅液をコルペン内に注ぎ之に 30cc の水を加ふべしと(八)之に依りて是を觀ればバ氏は銅液の酸化力は稀釋度に關係なしと信ぜし者の如く、苛性加里の濃度に對してのみ大なる注意を拂たり故に銅液の稀釋度は糖液に對する酸化作用に影響するや否やを確定するの必要を生ぜり。この關係を明ならしめんが爲め予等は在來のバ氏の銅液と新に溶解したる 30cc の葡萄糖水溶液を用ゐて試験を行ひたり、而して糖液滴加の速度は一分時間に約 30 滴

となしバ氏が示したる銅液5.0ccを水20ccを以て稀釋する代りに20ccを80ccを以てし、10に對する20ccの代りに20を40ccの水を以て稀釋したり、何となればバ氏が示したる少量の銅液に就ては到底僅微の差を正確に認むること能はざりしを以てなり、其の試験成績は次の如し

(平均數)

銅液量	加へたる水量	糖液(2%) 消費量
20cc	0cc	4.66cc
20cc	20cc	4.86cc
20cc	40cc	5.05cc
20cc	80cc	5.30cc

此成績によるときは銅液に加たる水量は、かの酸化力に對して大に影響するを知れり即ち銅液の稀釋度大となるに従ひ其の酸化力を増加す、バ氏法と予等の法とに於ける銅量の差異は實に此處に存す、即ち予等は銅液を稀釋するに同量の水を用ゐ、バ氏は二倍或は四倍量の水を用ゐたればなり、人若しバ氏の銅液を1:10の割合に於て稀釋し予等の裝置を用ゐて滴定する時は、バ氏の裝置を用ゐたるときと全然同一なる結果を得べし、然と雖も若し1:10及び1:20の割合に於て稀釋し之れに就て滴定試

驗を行ふときは既述の理由により各試験成績に著しき差あることを發見すべし。パ氏は實にこの差に就ては全く留意せざりしなり、これ恐くは過少なる銅液(5cc)を用ゐて、滴定したるに歸すべきを信ず、予等も亦如斯く少量なる銅量を用ゐたる場合に於ては終反應を正確に認定し能はざりしなり、パ氏の法と予等の法との間に於ける齟齬は全く銅液の稀釋度に關することを證明したる以來、滴定の際コルベン内に進入したる空氣は劇しく酸化性に作用せざるを知れり、故にパ氏の方法に因りても銅液を二倍の水を以て稀釋するときは正當なる成績を得るなり、然らば空氣の侵入を防止するに對して大なる注意を拂ひたる予等の變更裝置は全く無用に屬すべきものなるか、否、予等の裝置にありてはアンモニアが室内に彌散することなく、大量の銅液を用ゐて安全に滴定するを得、従つて終反應を正確に認定し得るの便利あり。

パ氏の裝置を用ゐて不注意に作業するときには再酸化によりて誤を起すの恐あるも、予等の方法に在りては如何なる場合に於ても全く之れを避くることを得るなり、予等の裝置を用ゐて糖定量を行はんと欲せば、予等の變更したる銅液(一リール中に結晶硫酸銅 $4.918g$ を含むもの)を用ふべし、此銅液 30.0cc は既に述べたるが如く 0.01g の無水葡萄糖に因りて完全に還元せらるゝものとす、若し被檢液の含糖量多量なるときは豫め水を以て稀釋し約 0.1—0.2% とすべし。

又かの煮沸時間の長短が何故に糖液の消費量に影響するかを明にせんが爲め次の試験を行ひたり、之の試験にはバ氏が示したる銅液と予等の装置とを用ゐ、亜酸化銅の析出せざる範圍内に於て糖液滴加の速度を出來得る丈け甚しく變動したり、これによりて得たる成績は次の如し。

銅の液量	糖液滴加の速度	糖液1%の消費量	
	10—20秒 時間10—20秒	9.93cc	
バ氏銅液 水 11.0 cc 11.0 cc	9.6cc/2—3' (約120滴/1')	9.81cc	
	9.5cc/5—6' (約60滴/1')	9.66cc	
	9.3/10—12' (約30滴/1')	9.46cc	

この成績によるときは、糖液の還元力は煮沸時間の長さと共に増加す、今若し10—20秒時間に9.8cc(一分時間内に約千滴の割合)に因りて得たる糖液の消費量と10—12分間内に9.3cc(一分時間内に約三十滴を加へたる)ときの糖の消費量とを比較せば、實に

0.47cc (3.93—9.46) 即ち 5% の差あるを見出すべし、之れに因りて見れば煮沸時間永きときは銅液の Spontane Reduction を起すを知るべし、然りと雖ども之の不快なる關係は實施の際に於ては殆ど注意を値せざるべし、何となれば斯の如く極めて急劇なる、或は緩慢なる糖液注加は實際上却て困難なることなればなり、故に一分時間に 80—120 滴 (2—3cc) の速さを以て滴定するときは常に正當にして良く符合する成績を得べし。

終に尿中に於ける糖定量法に就て一言せん、パークー氏法は又糖尿中の糖量を測定するに好適す、約 1% の糖を含有する尿はフーリング氏の法に因りては到底其の糖量を測定すること能はずと雖ども、バ氏の方法に在りては猶ほ終反應を正確に認識するを得べし、液の糖量に就ては既に述べたるが如く豫め水を以て稀釋し、含糖量を以て約 0.1—0.2% とすべし、若し尿の含糖量僅少 (1% 前後) なるときは豫め醋酸鉛を以て脱色するを要す、如斯く脱色法を施すときは常尿にありてもアンモニア銅法によりて能く其の還元力を測定することを得。

引用書目

- (1) Otto Cohnheir, Zeitschrift f. Biologie, Bd. 36, S. 129; Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. 23, S. 25 u. Bd. 39, S. 340.

- (2) Zeitschrift f. Analyt. Chemie, Bd. 19, S. 98.
- (3) Pavy, Die Physiologie der Kohlehydrate, 1895, S. 75.
- (4) l. c. S. 75.
- (5) Schmidt, Pharmaceutische Chemie, 1893, Bd. I, S. 913.
- (6) W. F. Löbisch, Anleitung zur Harnanalyse, III. Auflage, S. 219.
- (7) l. c. S. 76.
- (8) l. c. S. 78.