UDC 545.33:547.427.3

191. 滝浦 潔, 小泉京子: ポーラログラフィーによるグリコール類の定量*

Kiyoshi Takiura and Kyoko Koizumi: Determination of Glycols by Polarography.

(Pharmaceutical Faculty, University of Osaka**)

For the micro-determination of glycols, polarography was utilized in the known method for glycol splitting. In the existing procedure, IO_3^- formed and excess of IO_3^- are measured and the amount of glycol is calculated from the amount of IO_3^- consumed. Attempt was made to determine this amount of IO_3^- consumed directly by polarography, and examinations were made on optimal conditions for the kind and pH of buffer solution, kind of anode to be used, amount of reagent and sample to be used, and reaction time. As a result optimal conditions for determination were determined as follows: Ten cc. of approx. $10^{-3}M$ KIO_4 in Sørensen's buffer (pH 7) is added to 1 cc. of the test solution (ca. $10^{-3}M$) and the mixture is allowed to stand for a definite length of time (15 mins. to 1.5 hrs. according to the kind of sample used) to complete the reaction. To this mixture 0.1 cc. of 1% gelatin solution is added and this is immediately submitted to polarography, using H-type electrolyte cell. The amount of excess KIO_4 (X) is determined from the wave height of the 1st wave. The same procedure is carried out using 1 cc. of distilled water in place of the sample solution and the amount of original KIO_4 (Y) is determined. The amount of the sample is calculated from the amount of KIO_4 used, X, and Y.

This procedure was used in the determination of several kinds of straight-chain polyhydric alcohols, pentoses, and hexoses, and satisfactory results were obtained.

(Received February 18, 1958)

過ヨード酸によるグリコール類の開裂反応がポリアルコール類, 殊に糖類の定量に応用出来る事は既によく知られている。

グリコール開裂反応式

(i) 鎖状ポリアルコールの場合

(ii) アルドースの場合

(iii) ケトースの場合

その定量法には大別して, (1) 開裂により生じたホルムアルデヒド又は養酸を定量する方法, (2) 過ヨード酸の減量を測定する方法, の2つがある。後者の場合, 即ち過ヨード酸の減量の測定は従来主にヨードメトリーによつていたが, 滴定法では微量域の定量が困難である。そこで著者等はヨードメトリーの代りにポーラログラフィーを応用してこの定量法のマイクロ化を試み, 所期の目的を達したので報告する。

IO_3^- 及び IO_4^- のポーラログラフィーについては Souchay¹⁾ 等の研究があり, IO_3^- は一段波を生じ IO_4^- は第1波: $\text{IO}_4^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{IO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$ 第2波: $\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons \text{I}^- + 3\text{H}_2\text{O}$ の二段波を与える。その二段波のうち第1波は IO_4^- から IO_3^- へで2電子還元, 第2波は IO_3^- から I^- へで6電子還元であるから第2波は第1波の3倍の波高を持つ (Fig. 1)。グリコール開裂の際反応液中には生成した IO_3^- と残余の IO_4^- が共に存在

* 第7回日本薬学会近畿支部総会講演。

** Hotarugaike, Toyonaka, Osaka-fu.

(1) P. Souchay: Anal. Chim. Acta 2, 17 (1948).

するわけであるが、 IO_3^- と IO_4^- の共存時のポーログラムはその第 1 波が IO_4^- の濃度を示し第 2 波は IO_3^- と IO_4^- の和を示す。そこで定量には第 1 波を用い反応前の IO_4^- 量と反応後の残余の IO_4^- 量とをそれぞれ測定し、両者の差として消費量を求める。この消費 IO_4^- 量から計算によりグリコール量を求める事が出来るはずである。ところが実際に滴下水銀電極で条件を種々に変えてポーログラムをとつてみると、 IO_4^- の第 1 波の前に残余電流があらわれないので第 1 波の i_a を測る事が出来ない。しかし Souchay も示しているように適当な条件を選ぶと、ガルバ零線から第 2 波の残余電流の位置迄の高さ (a) が第 2 波の波高の 1/3 となり、ちょうど第 1 波の拡散電流に一致するからこの高さ (a) を第 1 波の波高として用い得るのである。

又この第 1 波はオルト過沃度酸イオンとメタ過沃度酸イオンにより挙動を異にし、メタは i_a/C が一定しているのに対して、オルトは濃度により変化し従つて波高との比例性が得られないという実験結果が Coe 等²⁾により示されている。市販の遊離酸 ($\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) はオルト型でしかも潮解性があり、基準物質としても適当と思えないから著者等の実験ではメタ型でかつ安定なカリウム塩 (KIO_4) を試薬に使う事にした。

以上に述べた事を基にしてグリコール類の定量法を組み立てる為に緩衝液の種類と pH、陽極の種類、試薬の量及び反応時間等の影響につき細かい条件調査を行つた。その結果は次の通りである。

緩衝液の種類と pH この定量法においては迅速かつ簡便に操作が行えるように考慮したので、原則としてグリコール開裂反応後直ちにポーログラフに移り得るように途中で pH を調節したり試薬を加えたりしない方針をとつた。この為大きくわけて、酸性側では酢酸緩衝液、中性付近では磷酸緩衝液、アルカリ性側では炭酸緩衝液を用い pH 3~10 の範囲内で最適条件を追求した。 KIO_4 のポーログラフの面から考えると pH が小さくなるに従い、第 2 波の半波電位が正の方へ移動して第 1 波の拡散電流のプラトーが狭くなり、波高を測るのに不便な上に酸性が強くなると Hg が IO_4^- と反応し易くなり、酢酸緩衝液中では相当量の HgIO_4 又は HgIO_3 が生じて誤差の原因となる。又 pH が 9 以上になると第 1 波の拡散電流が一定せず定量不能となる。しかるに中性付近ではこれらの障害が起らない。pH 7 の Sørensen 緩衝液中では Fig. 2 に示す如く拡散電流と IO_4^- 濃度がよく比例し、従つてこの条件は定量に適していると考えられる。グリコール開裂の面から考えても酢酸緩衝液及び

Fig. 1. Polarograms of Iodate and Periodate

Fig. 2. Relationship between i_a and Concentration of KIO_4 in Sørensen Buffer (pH 7.0)

Fig. 3. H-Shape Cell

(2) R. H. Coe, L. B. Rogers: J. Am. Chem. Soc. **70**, 3276 (1948).

炭酸緩衝液中での反応速度は磷酸緩衝液中でのそれと比べるといちじるしく遅くて実用的ではない。

以上の観点から緩衝液としては pH 7 の Sørensen 緩衝液が最適である。

陽極の種類 最初は普通の静止水銀極を用いていたが、陽極の水銀と KIO_4 が直接反応し、Hg の為に IO_4^- の一部が還元されてその濃度低下を起す事が判つたので以後は外部陽極を用いる事にした。外部陽極としては飽和甘汞電極等も使えるが、これは取扱いが不便であるから Fig. 3 に示した如き H型の電解槽を用い、電解液と陽極水銀とがなるべく接触しないようにした。

試薬の量 従来の滴定法では必要量の 4 倍の試薬を加え、又これだけ過剰にないと反応が完全に進行しないとされていた。しかし IO_4^- の初濃度が大きいと反応がグリコール開裂でとどまらず、更に進行し、 IO_4^- が余分に消費されて誤差の原因となるものと思われる(実験の結果がその様になつている)。そこで KIO_4 量を段々にへらしてみたところ、必要量の 2~2.5 倍量でも反応が完全に進みしかもこの濃度では副反応の起りにくい事が判つた。

検体量 試薬量が決めれば検体量も自ら決まるわけである。 KIO_4 のポーラログラフィーに於ける至適濃度は $10^{-3}M$ 前後である。例えばアルドヘキソースの場合その 1 mol に対して KIO_4 が 5 mol 必要であり、その必要量の 2 倍量用いるものとすれば、アルドヘキソース検体(分子量約 180)の濃度は $10^{-4}M$ になればよい。

ポーラログラフィーを行うには検液の 5 cc は必要である。そこで 5 cc 中のアルドヘキソース量を計算すると約 0.09 mg となる。実験にはホールピペットの大きさの都合等で検液 10 cc とし、0.18 mg ($10^{-6}M$) 前後の検体を用いると都合がよい。 $10^{-6}M$ 以下の低濃度ではポーラログラムをとる場合に感度を上げねばならず、又 $0.020 \mu A/mm$ 以上の感度にするると不純物等に起因する前放電物質が相当大きく影響し、ガルバ零線から第 2 波の残余電流迄の高さ (Fig. 1. a) が第 1 波の拡散電流の波高と一致しなくなる。この場合ガルバ零線の代りに緩衝液のポーラログラムを利用してこの様な影響を緩和する事が出来るが、検体の濃度範囲はやはり $10^{-6}M/10 cc$ 程度とする方が実用的である。

反応時間 検体の種類により反応所要時間が異り、室温では早い場合 15 分、遅い場合 1 時間半位で完結する。あまり長時間放置するとグリコール開裂だけで停止せずに反応が更に進むけれども、少くとも 1~2 時間程度では over oxidation が認められない。個々の検体についての測定結果は Table I に示した通りであるが、反応時間は明らかに立体配位に関係している。例えば 3 つのアルドヘキソース(グルコース、ガラクトース、マンノース)を比較してみた時、反応速度は cis-グリコール基の数に比例し、その為 cis-グリコール基を 2 つ持つマンノースが 15 分で反応を完結しているのに反し、それを 1 つしか持たないグルコースとガラクトースは反応完結に 1 時間、ないし 1 時間半を要している。

最適定量条件 以上に述べたように個々の詳しい条件調査を終えたのでこれに基づき、次に述べるように定量条件を決定した。即ち、検液 $10^{-3}M$ 濃度のもの 1 cc を取り、これに約 $10^{-3}M \text{KIO}_4$ (Sørensen 緩衝液) 溶液 10 cc を加え適当な時間放置して反応を完結させた後、1%ゼラチン溶液 0.1 cc を加え直ちに感度 $0.040 \mu A/mm$ でポーラログラフィーを行い、 KIO_4 過剰量 (X) を測定する。一方検液の代りに蒸留水 1 cc を用い他の条件は同じようにして元の KIO_4 量即ち盲験値 (Y) を求める。検体量は使用した KIO_4 量と (Y) 及び (X) から次の計算式により算出される。

$$\text{計算式: 検体量} = \text{KIO}_4 \text{ 使用量} \times \frac{\text{Mol. Wt. (検体)}}{(n+1) \times \text{Mol. Wt. (KIO}_4\text{)}} \times \frac{Y-X}{Y}$$

但し n はグリコール開裂反応式(前出)中の係数

定量結果は Table I に示した通りであるが著者等が用いたサンプルについてはすべて満足な結果が得られている。

Table I. Determination of Polyhydric Alcohols, Pentoses, and Hexoses

Sample	$\frac{Y-X}{Y}$	Reagent used (mg)	Sample (mg.)		%	Reaction Time (hrs.)
			Taken	Found		
Mannitol	0.424	2.914	0.199	0.196	98.5	.15
	0.428	2.914	0.199	0.198	99.5	.30
	0.537	2.296	0.198	0.196	99.0	.30

Sorbitol	{	0.433	2.815	0.193	0.193	100.0	.15
		0.428	2.815	0.193	0.191	99.3	1.00
		0.431	2.815	0.193	0.192	99.8	2.00
Xylose	{	0.373	2.287	0.140	0.139	99.3	.30
		0.367	2.296	0.140	0.138	98.9	.30
		0.362	2.296	0.140	0.136	97.4	1.00
L-Arabinose	{	0.463	2.309	0.181	0.175	96.7	.30
		0.482	2.296	0.181	0.181	100.0	1.30
		0.480	2.309	0.181	0.181	100.0	2.00
D-Arabinose	{	0.365	2.914	0.179	0.174	97.2	.15
		0.374	2.914	0.179	0.178	99.4	.30
		0.393	2.915	0.180	0.180	100.0	2.00
Glucose	{	0.413	2.904	0.194	0.188	96.9	1.00
		0.431	2.904	0.194	0.196	99.0	1.30
		0.422	2.914	0.194	0.192	101.0	1.30
Galactose	{	0.419	2.904	0.193	0.191	99.0	1.00
		0.428	2.904	0.193	0.195	101.0	1.30
		0.426	2.904	0.193	0.194	100.5	2.00
Mannose	{	0.486	2.787	0.209	0.212	101.4	.15
		0.440	2.904	0.202	0.200	99.0	.15
		0.441	2.904	0.202	0.201	99.5	.30
Sorbitol	{	0.395	2.951	0.228	0.228	100.0	.30
		0.399	2.951	0.228	0.231	101.3	1.00
		0.397	2.951	0.228	0.229	100.4	2.30
Fructose	{	0.316	2.951	0.187	0.183	97.9	.30
		0.317	2.951	0.187	0.183	97.9	.30
		0.319	2.951	0.187	0.184	98.4	.30

このポーラログラフイーを利用した定量法を用いると、例えば単糖類では $10^{-6}M/10\text{ cc}$ もあればポーラログラフイーの誤差範囲内で正確に定量出来るのであるから、この方法は微量の種類についてその構造を研究する際に充分利用価値があるものと信ずる。

なお、本研究の費用の一部は昭和32年度文部省科学研究費に仰いだ。ここに感謝の意を表する。

実 験 の 部

装置と測定条件 柳本ポーラログラフ装置 P-EL-3 型に柳本ガルバネコーダー GR3 型を接続して使用。水銀滴下電極は $m^{2/3} \cdot t^{1/6} = 1.24$ 。電解槽は Fig. 3 に示した H 型のもの。測定は $25^{\circ} \pm 0.1^{\circ}$ の恒温槽中、感度 $0.040 \mu A/mm$, damping 3 で行い、 $-0.6V$ に於ける波高を測定した。

試薬及び検体 試薬としては市販の試薬特級 KIO_4 を恒量乾燥して用いた。基準物質には 50% EtOH で再結晶した純粋なマンニトを使った。これを上記の方法で定量すると 100% 純粋である事はいうまでもない。各検体は市販の試薬特級品を恒量乾燥し、それぞれ mp が正しい事を確認して用いた。

緩衝液 pH 7 の Sprensen 緩衝液をつくる為、 $M/15 KH_2PO_4$ と $M/15 Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ を適当に混合し、ガラス電極 pH メーターで pH 7 に調整した。

定量法 最適定量条件（前述）に基づいて行つた。なお、H 型電解槽の陽極側と陰極側との間は 5 号ガラスフィルターで仕切つてあるのでイオン流通による短時間内のイオン濃度の変化は無視し得るから、陽極側の液としては緩衝液を用いてもよいし、又反応液の残りをを用いてもよい。

大阪大学薬学部