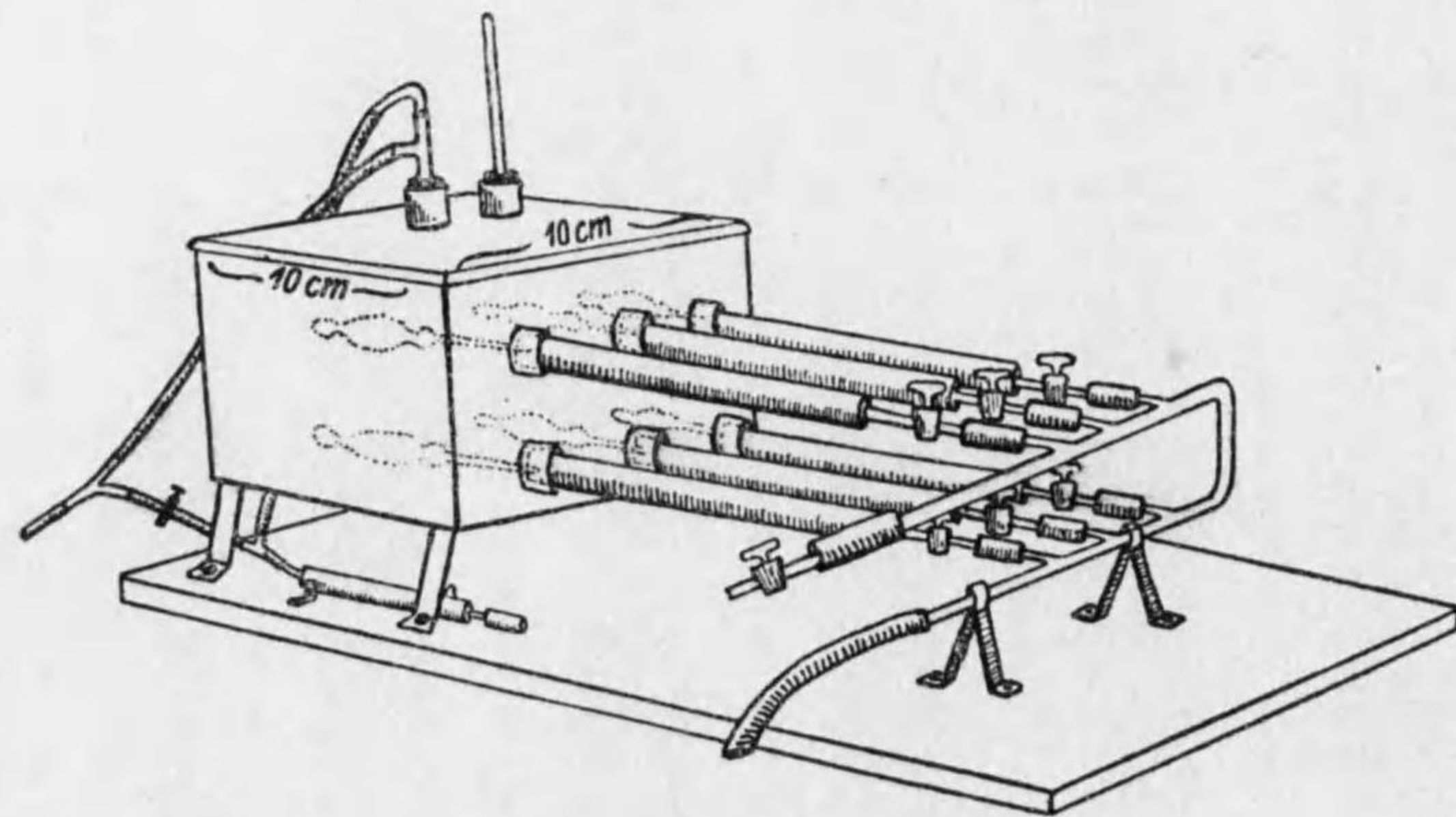


3. 酸化窒素の吸収及び窒素の測定 反應完結したる時は均高球Lを降下せしめD内の瓦斯を悉くFに導き入れ(DはA中の液にて充たさるべし), 次にfを廻轉してDとFとを斷ち, FとHempelの瓦斯量管とを連續せしめ均高球を擧げてF中の混合瓦斯を悉くHempel球に入れF中の水溶液の一部がHempelの第一球の上端に少しく出づるに至らしむべし. 爰に於て廻轉板に附屬する懸鉤をHempelの瓦斯量管の兩脚間に懸け1秒間に2回より早からざる速度にて緩かにHempel球を振盪すべし. 此操作によりHempel球に充たされたる滴性過-Mangan-酸加里液<sup>\*</sup>に接觸したるNOは悉く之に吸収せられ純窒素のみを残留するを以て之をFに戻し均高球及びF管内の液面の高さを均ふしたる後瓦斯の容積を測定すべし.

空測定 上記全操作をAmino基含有液の代りに蒸餾水を用ゐて之を行ふべし.

計算 室温及び氣壓を測定し之に相當する係數を測定によりて得たる窒素の容積に乗する時は用ゐたる被檢液中に於けるAmino-窒素のmg量を得.

注意: i) 滴性過-Mangan-酸加里液は40gのKMnO<sub>4</sub>, 25gのKOHを1lの水に溶解して作成す.



第 22 圖

### 第 27 節 鬼澤の Cholesterin 定量法<sup>1</sup>

原理 組織に2%苛性曹達液の倍量を加へ加熱して溶解せしめ其中に存するCholesterinをAcetonの存在に於てEtherにて浸出し, 之を精製したる後, CholesterinをDigitoninと結合せしめて其重量よりCholesterinを算出す.

實施 浸出 組織を細挫し樽杯内に於て之に約倍量の2% NaOH液を加へ數時間放置し組織が膨脹するを待ちて30-60分間煮沸水浴上に加熱する時は組織は溶解し液は半透明に變ず. 冷却したる後内容を200-250ccの分液漏斗内(第一分液漏斗)に移し, 樽杯を數回数ccの水にてよく洗ひ洗液を悉く分液漏斗に入る. 次で樽杯を更に20ccのAcetonにて洗滌し洗液を分液漏斗に加へたる後分液漏斗をよく振盪す. 夫より100ccのEtherにてよく樽杯を洗ひて之を分液漏斗に注ぎ劇しく振盪し15-30分時放置分離せしむ. 下層の液を注意して他の分液漏斗(第二分液漏斗)に移入し, 上層のEtherを約500ccの大分液漏斗(第三分液漏斗)に入る. 第一分液漏斗を少量のEtherにて洗ひ洗滌液を大分液漏斗に入る. 第一分液漏斗を100ccのEtherにてよく洗滌し之を第二分液漏斗に入れ殘餘のCholesterinを浸出す. 更に又第一分液漏斗を100ccのEtherにて洗ひ之を第二分液漏斗に移しCholesterinを浸出す. 是等Ether浸出液は何れも第三分液漏斗に集め之を5-10ccの滴液にて洗滌し脂酸其他の不純物を除去す. 尚2回水にて洗滌し反應を中性と爲したる後減焔水浴上に於てEtherを蒸散せしめ殘渣を初め水浴上に於て, 次に80°の乾燥器内にて乾燥せしむ, 次で殘渣を純Etherに採り, 隈川・須藤の石綿漏斗(第17圖)にて濾過す. 此濾液を蒸發乾固し其未だ温かき内に約10ccのAcetonを加へ4時間以上放置する時はAceton不溶性物質は沈澱するを以て再び石綿漏斗にて濾過し濾液を蒸發し殘渣を一定量のChloroform又はEtherに溶解し其一定量を採りて定量に供す, 該溶液は無色又は僅

<sup>1</sup> J. of Bioch 70, 45, 1928.

かに黄色を帯びたる液にして純粹の Cholesterin 及其 Ester を含有す。此液を以て遊離 Cholesterin 及 Ester-性-Cholesterin を定量す。

**遊離 Cholesterin の定量** Cholesterin (約 1-3 mg を可さす) を小樽杯内に於て 2 cc の純 Aceton に溶解し之に 2 cc の 1% Digitonin-Alcohol (80%) 溶液を加へ混合物を一夜放置す。翌日 80% の Aceton にて廻轉沈澱管中に移し富永の法に従ひ沈澱管を 5-10 分間 40-50° の水浴中に入れ時々硝子棒を以て内容を攪拌し廻轉沈澱したる後上清を



第 23 圖

Szent-Györgi (第 22 圖) の石綿漏斗に注ぐ、樽杯を 7-10 cc の 80% Aceton にて洗ひ洗液を廻轉沈澱管に移し沈澱を上記の如く洗ひ、廻轉沈澱し、斯の如き洗滌を行ふこゝ更に又一回す、次に沈澱を純 Aceton にて被ひ、硝子棒にてよく攪拌し完全に Szent-Györgi の石綿漏斗に移す。漏斗上の沈澱は 3 回 5 cc の Ether (此 Ether は先づ廻轉沈澱管に入れ管を洗滌したる後漏斗上に注ぐ) を以て洗滌す。よく硝子棒にて攪拌したる後吸引すべし、次に純 Aceton にて洗滌し、終りに數回少量の蒸餾水にて洗ひ、105° の Szent-Györgi の乾燥器(第 21 圖)内にて重量不變

に至るまで乾燥し微量天秤にて秤量すべし。此方法の誤差は 3% を超ゆるこゝなし。Cholesterin-Digitonin 化合物の量に 0.2431 を乗する時は遊離 Cholesterin の量を得べし。

**Ester-性-Cholesterin の定量** Ester-性-Cholesterin は之を 10 倍量以上の滴の飽和 Alcohol 溶液と共に煮沸水浴上に 9 時間加熱する時は悉く遊離 Cholesterin に變ずべし。之を敍上の方法にて浸出及び定量すべし、此處に得たるは全 Cholesterin 量なり、鹼化の際約 2-3% の損失起るを以て 0.25 を乗じたるものを以て全 Cholesterin とすべし。此量より既存遊離 Cholesterin 量を控除したるものは Ester-性-Cholesterin 量なり、

## 第四章 血液の定量的検査

### 血液の採取

直徑約 1 mm, 長約 25 mm の注射針の滅菌し Paraffin 塗したるものを短かき清淨なる Gom 管にて乾燥清淨なる劃度量管の尖端に連續せしめたる後量管の上端より粉末蔘酸加里の少量を撒入せしめて針にまで及ぼさしむ。此際蔘酸鹽の大量は之を避くるを要す。量管の上端に Gom 管をつなぎ Gom 管の他端には硝子管を附して唧口吸引するに便せしむ。Gom 管には量管の上端に近かく挾止子を具ふべし。血液を採取せむと欲せば針を靜脈若くは動脈内に挿入し挾止子及口吸引にて調節しつつ必要量の血液を量管内に入るべし。

### 血液除蛋白濾液の調製

#### Folin 及 Wu の法<sup>1)</sup>

此の方法によりて得たる液は之を非蛋白性窒素, 尿素, 尿酸, Kreatinin, Kreatin, 糖, Amino-酸, 鹽化物等の測定に供し得。

**原理** 血液中の總ての蛋白質を Wolfram-酸にて沈澱せしめ濾過するにあり。

**實施** 採血の際血液の凝固を阻止する爲めに用ゆる蔘酸鹽の量は大に過ぐべからず、10 cc の血液に對し 20 mg の蔘酸曹達若くは蔘酸加里を以て足る。

一定量の血液(約 5-15 cc を用ゆべし)を第 20 圖の如き量管<sup>\*)</sup>を以て約 20 倍容の硝瓶子に入れ、7 倍容の蒸餾水を以て稀釋しよく混合し、更に 1 容量の 10% Wolfram-酸曹達<sup>\*)</sup> (Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) を添加して混合す。硝瓶子を振盪しつつ適當なる量管により混合液に 1 容量の 2/3 定規硫酸<sup>\*)</sup>を加へたる後 Gom 栓を以て硝瓶子の口を閉ぢ暫時強く振盪すべし。此際氣泡

1. J. Biol. Chem. 38, 81, 1919.

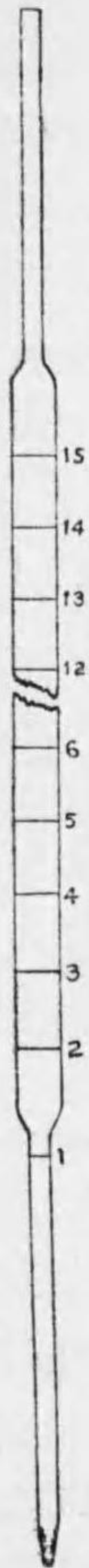
は発生せず且つ振盪の際金屬性の音響を呈するを要す。尙5分以上放置するに沈澱の色は鮮赤色より次第に暗褐色に變ずべし。此等の現象起らざる時は凝固不完全(通常蓆酸鹽の使用量大なる時起る)の徴なるを以て、直ちに10%硫酸を1滴宛加へ各滴加後よく振盪し、氣泡の屏息し暗褐色發生するに至らしむ。混合物を其全量を抱持するに足る漏斗に移し漏斗を時計皿にて蔽ふべし。混合液の當初數ccを濾紙の重疊部に注ぎ濾紙の全體が液にて浸潤せらるるを待ちて全混合液を漏斗上に移す時は初より澄明の濾液を得、然れども若し濾液が少しく濁濁せる時は初めの數ccを再び濾紙上に返戻すべし。

此の濾液を以て各種の定量を行ふに際し一定期間之を保存せんを欲せば之に數滴の Toluol を添加し細菌の作用を防止するを要す。但し葡萄糖は時の経過と共に減少するを以て直ちに之を測定せざるべからず。

注意: i) Folin 及 Wu の量管は之を3本準備し置くを便とす。即ち1は血液濾液原液, 2は Wolfram-酸曹達液, 3は硫酸を測るに用ひ。  
ii) Wolfram-酸曹達液は殆んど全く炭酸を含有せざることを要す。  
iii)  $\frac{2}{3}$  定規硫酸は35gの濃硫酸を水にて稀釋し1lとなしたるものなり。滴定にて其濃度を定め置くべし。酸の濃度を $\frac{2}{3}$ となしたるは之を Wolfram-酸曹達液と同量加ふる際 Wolfram 酸は全く遊離し然かも過剰の硫酸なからしめんとしたるなり。茲に遊離したる Wolfram 酸も殆んど全部は蛋白質に攝取せらるるにより混合物の酸性度少にして Congo-赤紙に對して僅かに酸性を呈するに過ぎず。

iv) 血漿又は血清も亦血液と同様の方法により其蛋白質を除去することを得。即ち5ccの血漿若くは血清を25ccの水を以て稀釋し、之に2.5ccの Wolfram-酸曹達及2.5ccの定規硫酸を加ふ。此時稀釋度は1:7なり。之より以後は之を全液と同様に處理すべし。

第24圖  
Folin 及  
Wu の量管



### 第31節 非蛋白性窒素の定量

#### I. (Folin 及 Wu の法)

**原理** 血液より蛋白質を除去したる濾液の一部分を硫酸及び磷酸の混合液を以て消化し(主として微量-Kjeldahl 消化法なり)凡ての窒素化合物中に含まるる窒素を安門鹽に變化せしめ之を Nessler 化して定量するなり。

**實施** 無蛋白濾液(第183頁に遵ひて作れるもの)を乾燥したる 75 cc の試験管(硬質, 200 mm × 25 mm. にして 35 cc 及 50 cc の處に標識を有す)に入れ、之に 1 cc の硫磷酸混合液を加へ、乾燥したる石英破片を投じたる後燃子上に強く煮沸して固有なる濃煙が管を滴たすに至らしむ。之は通常3-7分にて達せらるべし。煙の發生確然となりたる時煙の大きさを小さなし管の内容が正に煮沸するを觀ぜしむる程度にし試験管の口を時計皿にて蔽ひ 2-3 分間煮沸を繼續すべし。若し2分時の後にて酸化明かに終結せざる時は煮沸を更に繼續すること勿論なり。雖此の如き事は稀有にして普通は1分にして酸化殆んど達成せらる。内容を 70-90 秒放冷せしめたる後之に 15-25 cc の水を加へ、更に放冷せしめて室温に至たれる頃水を加へて標識 35 まで充たすべし。爰に於て量管により 15 cc の Nessler の溶液を加へ清淨なる Gom-栓を施し、よく混合す。溶液若し濁濁したる時は其一部を廻轉沈澱し清澄なる液を用ひて基準液に對し比色するを要す。

基準には通常 0.3 mg の N を硫酸安門の形に於て使用す、基準液の 3 cc (其内に 0.3 mg の N を藏す)を 100 cc 量瓶に入れ、之に 2 cc の硫磷酸混合液、約 50 cc の水及 30 cc の Nessler の液を加へ、標識まで充たし混合す。未知及基準兩液は殆んど同時に Nessler 化せらるるを要す。

**計算** 基準液を 20 mm の高さに定めたる時は未知液の讀みにて 20 を除したるものに 30 を乗じて得たる數は 100 cc 血液中に存する非蛋白性窒素の mg 數を示す。

注意: i) 硫磷酸混合液の調製 300 cc の 85% 磷酸に 50 cc の 5% 硫酸銅を加へ混加し、之に全く安門を含有せざる濃硫酸 100 cc を加へ、再びよく混加し放置して硫酸 Calcium を沈降せしむべし。此沈降速度は極めて徐々なるも約1週

後には上部澄明となるを以て其 50-100 cc を量管にて攝取することを得 (Calcium を全然除去することは必しも緊要なりとはせざるも、之を除去したる方安全なり)。非蛋白性窒素を定量するに用ふるには此消化混合剤は等容量の水にて之を稀釋し、安門の瓦斯を避けて之を貯蔵すべし。

ii) Nessler の試薬 (Folin 及 Wu 式)。150 g の沃度加里及 110 g の沃度を Florence の硝瓶子に入れ、之に 100 cc の水及 140-150 g の金屬水銀を加へ、絶えず強く硝瓶子を振盪し 7-15 分なる時は沃度は殆んど完全に溶解し液は著しく熱せらる。沃素の色が明かに褪色し初めたる時 (未だ赤色を呈するも) 流水下に冷却しつつ絶えず振盪し沃度の赤色退散し複沃度鹽の綠色に變ずるを待つべし。此全操作は普通 15 分よりも長きことなし。茲に於て溶液を過剰の水銀より傾斜により分離し、多量の洗滌液を合し全量を 2 l とす。

かくして得たる沃度水銀加里の根本液を用ゐて Nessler の液を作るには先づ NaOH の飽和液 (100 cc に約 75 g の NaOH を含有す) の上清より 10% NaOH を作り (滴定法により所定の濃度より 5% 以上の誤なきことを確め置くべし) 其 3500 cc 中に 750 cc の複沃化物溶液及 750 cc の蒸餾水を加へ全量を 5 l とすべし。

かくして調製せられたる Nessler の試薬の 15 cc は 1 cc の稀薄硫磷酸混合物を中和し且つ 50 cc の容積内にて安門の存在により色の發起するに適切なる適性度を附與するに足る滴を含有す。

iii) 基準安門溶液の調製: 0.4716 g の純硫酸安門を安門を含有せざる水 1 l に溶解す此の如き液 3 cc は 0.3 mg の N に相當す。

## II. (Koch-McMeekin の法<sup>1)</sup>)

原理 Folin-Wu の方法にて除蛋白したる血液濾液中の有機物を硫酸及び H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> にて酸化して窒素を安門を以て之を直接 Nessler 化により定量す。

實施 3 cc の良く混合したる血液を正確に採り之に 3 cc の 10% Wolfram 酸曹達<sup>ii)</sup>を加へ、混和し之に徐々に常に攪拌しつつ 24 cc の  $\frac{1}{12}$  n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (血液 1 cc に對し常に 8 容量を加ふ) を加へ、良く混和し直径 9 cm の乾燥

濾紙を通じて濾過す。濾液は澄明にして Congo-赤に對して極めて僅かに酸性を呈すべし。濾液の 5 cc を 2.5×20 硬質試験管に移し、之に 1 cc の 1:1 硫酸溶液<sup>iii)</sup>を加へ或は砂浴内にて徐々に加熱するか、或は絶えず振盪しつつ裸焰上にて煮沸して水分を蒸發し去り、更に小燃子を以て加熱を繼續し硫酸の濃き白煙が管内を充たすに至らば小燃子を去り、約 1 分間冷却したる後 1-3 滴の 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を直接に溶液中に落下し再び煮沸す、普通は溶液は水澄に止まれども若し著色する時は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の添加を繰返し前の如く加熱するを要す。終りに靜かに煮沸する程度に 5 分間加熱したる後内容を 100 cc の量瓶に移し約 75 cc に稀釋すべし。之をよく混和し、瓶を廻轉しつつ之に 15 cc の Nessler-Folin 液<sup>iii)</sup>を添加し、直ちに水を加へて全量を 100 cc とし良く混和す。2 本の 100 cc の量瓶の各々に 0.5 若しくは 1.5 cc の基準 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液<sup>iv)</sup>を 1 cc の 1:1 硫酸、及 15 cc Nessler 試薬と共に加へて 0.1 mg 及 0.30 mg の窒素基準液を作り、5-20 分後に比色計を用ひて比較す。

計算 基準液中の窒素の mg を Y とすれば血液 100 cc 中の窒素の mg は

$$\frac{\text{基準液の探讀値} \times Y \times 200}{\text{被檢液の探讀値}}$$

注意: i) 10% Wolfram-酸曹達 200 g の Wolfram-酸曹達を水に溶解して 2000 cc に稀釋す。此のものは少量の炭酸鹽を含有することあるが故に其量を知らむ爲めに溶液の 10 cc を採り之に 1 滴の Phenolphthalein 溶液を加へ  $\frac{1}{10}$  n. 酸を以て滴定すべし。若し 0.4 cc よりも多くの  $\frac{1}{10}$  n. 酸を要する時は Wolfram-酸溶液は餘りに炭酸鹽を多く含む。又溶液が Phenolphthalein に對し弱適性反應を呈せざる時は一部 Wolfram-酸の錯鹽を含有するものなるを以て滴を加へて明かに適性となし 3 分間放置すべし。

ii) 1:1 硫酸安門 注意して 500 cc の濃硫酸を 500 cc の水の中に加へたるもの。

iii) Nessler-Folin 液 (Koch 改良) 1 l の 10% の NaOH 液を作る爲めに 5 cc の透明苛性曹達液を 100 cc の量瓶に入れ標識まで充たし、よく混和し其 25 cc を採り Congo-赤を標示薬として  $\frac{1}{2}$  n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて滴定し、夫れより 1 l 10% NaOH

1. J. Amer. Chem. Soc. 46, 3066, 1924

を作るに要すべき飽和 NaOH の量を計算することを得。次に 22.5 g の沃度を 30 g の KI を含有する 20 cc の水に溶解して加里水銀沃化物を作る全く溶解したる後 30 g の純水銀を加へ良く振盪し時々流水下に漬して熱くなることを防ぐ。上清に沃度に因る黄色が消失するや直ちに水層部を 200 cc の量瓶に入れ之に 1 滴宛の沃度沃度加里液を添加し良く混和したる溶液の數滴を數 cc の冷澱粉溶液に加へたる時かすかに遊離沃度の反應を呈するに至らしむ。之れ溶液中に第一水銀鹽の存在せざることを確むる目的なり。(若し第一水銀鹽存在する時は後に沃化第一水銀の沈澱を發生する虞あり。水溶液に水を加へ全量を 200 cc とす。

975 cc の 10% NaOH 液に上の沃化水銀加里液の全量を加へ良く混和し放置して清澄にすべし。

Nessler 化せんとする液 100 cc 毎に 10 cc の割に此溶液を加ふ。此試薬は Nessler-Folin の原試薬よりも潤濁發生の傾向なきにより之を安門液に添加する時徐々に行はずして一氣に加ふるも差支なし。

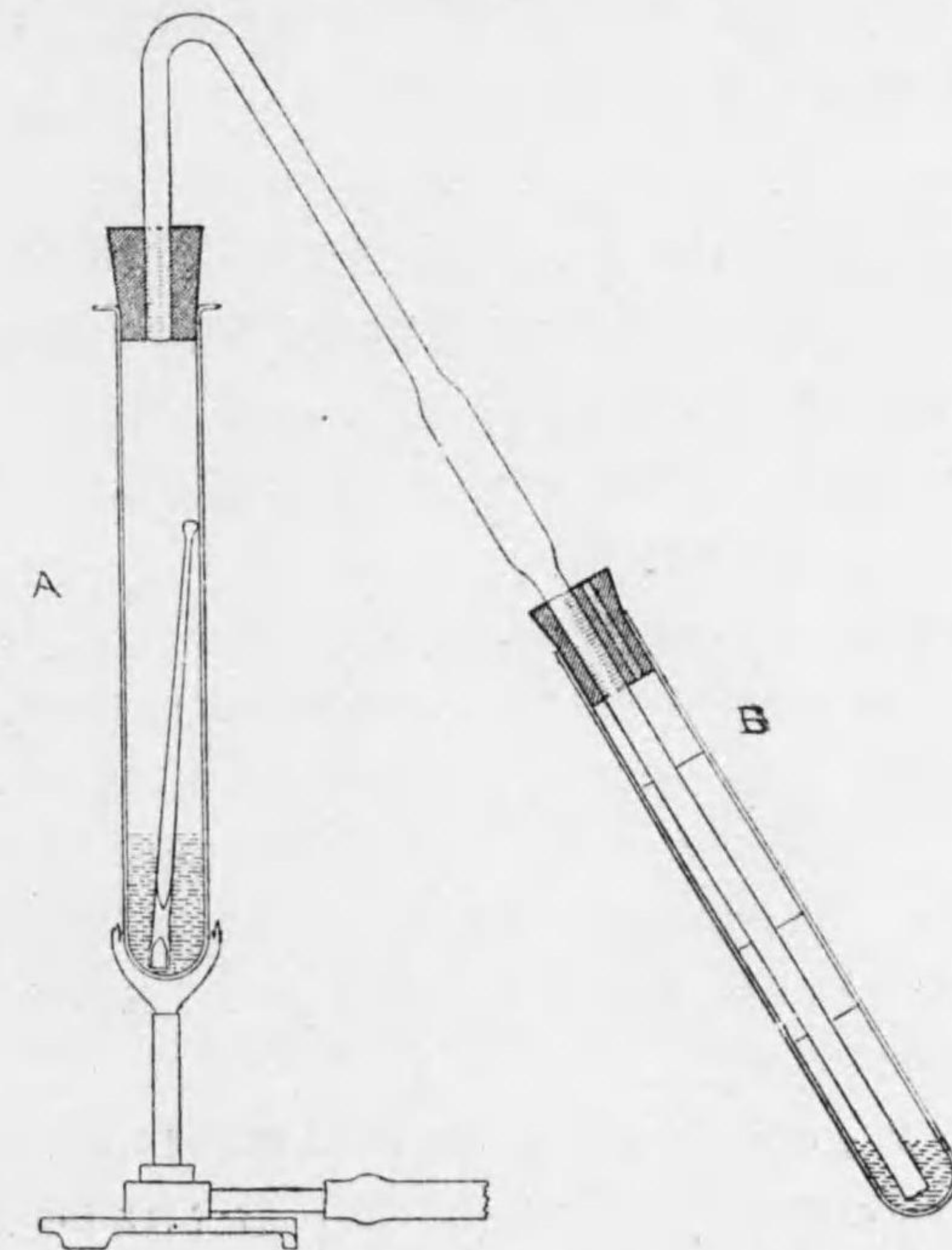
iv) 基準  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  溶液 根本液として 9.4332 g の最純乾燥硫酸安門を秤り之に安門を含まざる 0.2 N.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を加へて 1 l とす。此根本液 100 cc を安門を含まざる 0.2 N.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  液にて稀釋して 1000 cc とす時は基準  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  溶液を得。此液 5 cc 中には 1 mg の窒素を含有す。此溶液を 0.2 N.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  にて調製するは黴の發生を防ぐ爲なり。市販の硫酸安門は純良品にても Pyridin を含有す。之を純化するには之に純 NaOH を加へ安門を純粹の薄硫酸に集收すべし。此液を濃縮し再結晶にて純化するか又は Alcohol を加へて沈澱せしむ。

### 第 32 節 尿素の定量

#### Folin 及 Svedberg の法<sup>1</sup>

原理 尿素を緩衝剤の存在に於て尿素酵素の作用により水解して炭酸安門をなし、爰に生じたる安門を蒸餾し其量を Nessler-化したる後比色法により決定す。

實施 5 cc の Wolfram-酸血液濾液を内容 30 cc の硬質試験管<sup>\*i)</sup>に採り、之に 2 滴の醋酸鹽緩衝剤<sup>\*ii)</sup> 及び 1 cc の 2.5% 大豆浸出液<sup>\*iii)</sup> (當日製成したるもの) 若くは一片の尿素紙<sup>\*iv)</sup> を加へ、施栓したる後室温に 25 分間放置するか又は初温約 45° の 700 cc の水の中に 10 分間放置すべし (之よりも永く放置するも害なし)。尿素酵素紙を使用する際には放置の間に時々



第 25 圖

振盪すべし。管若し温ければ之を冷却し、之に抗突沸管<sup>\*v)</sup> 2滴の抗泡油劑<sup>\*vi)</sup> 及び2 ccの飽和硼砂溶液を加へ直ちに栓を有する導管により圖の如く25 ccの處に標識を有する受容試験管内に繼ぐ、受容管は1 ccの0.1 Nの酸及び1 ccの水を含有す。煮沸管を握子に固定し小燃子を用ひて蒸餾を開始し、内容が煮沸に近づく時焰を小にして初め1分間の煮沸が極めて穩なる如くすべし、夫より強く3分間煮沸し、更に最後の1分間は導出管を受容器の液面より稍々上に舉げて蒸餾すべし。爰に於て他方には受容器と同様な試験管に10 ccの基準硫酸安門溶液(0.1 mg Nを含有するもの)を入れ、各管に1 ccの藤黄溶液<sup>\*vii)</sup>を加へ、水を以て全量を約20 ccに稀釋したる後2.5 ccの Nessler の試薬を添加し、水を以て標識まで満たし混合し比色す。此基準液を用ふる時は8—40 mg %の尿素窒素を測定することを得、血液若し40 mg %よりも多くの尿素窒素を含有する時は血液濾液を水を以て稀釋したる後測定を反復すべし。

#### 計算

$$\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times 0.1 \times \frac{100}{0.5} = \text{血液 100 cc 中の尿素窒素 mg 數}$$

若し未知液を20 mmの高さに固定する時は基準液の讀は直ちに尿素窒素の mg %値を示すべし。

注意: i) 硬質煮沸管 は若し以前に Nessler の液を容れたる時は豫め硝酸にて滌き次に水にて洗滌するを要す。

ii) 醋酸緩衝劑 15 g の醋酸曹達結晶を100 ccの量瓶内にて75 ccの水に溶解し、之に1 ccの水醋酸を加へ、水を以て標識まで充たし、混合す。

iii) 尿素酵素液 0.5 g の大豆粉を清淨なる50 ccの硝子瓶の中に入れ之に20 ccの30% Alcohol(30 ccの95% Alcohol を水にて稀釋し100 ccとなしたるものを用ひて可なり)を加へ、10分間振盪し、濾過若くは廻漚す。此浸出液は放置するに従ひ安門を發生するを以て毎日新たに之を調製すべし。又必要以上の浸出液を測定に使用すべからず。

iv) 尿素紙 30 g の大豆粉を200 ccの清淨なる硝子瓶に入れ之に100 ccの稀薄 Alcohol(30 ccの95% Alcohol に水を加へ100 ccとなしたるもの)及びii)條下の醋酸緩衝劑1 ccを加へ緊く施栓し強く5分間以上振盪し、更に10分以上振盪を續けたる後錫紙にて蔽ひたる廻漚管にて30分間廻漚し、浸出液を磁皿に移し

直ちに厚き濾紙の紙片に吸取らせ、紙片を15 cm 離れて張れる二綿絲上に渡して掛け可成的氣流を當てざる如くして乾燥せしむ。全く乾燥したる時之を1 cm × 2.5 cm の大きに切り廣口罎内に貯ふ。此尿素酵素紙は數ヶ月以上の保存に堪ゆ。尿素酵素は紙面に固定するを以て之にて消化せんとする液と數回よく振盪し基質と酵素との接觸を可良ならしむるを要す。

v) 抗突沸管 圖の如き形狀を有し硬質管にて作り其開放端の直径は2 mm。

vi) 抗泡油劑 1容の原油に約10容の Toluol を加へたるもの。

vii) 藤黄溶液 1 l の量筒に冷水を充たし其表面下に20 g の溶解性藤黄の塊を載せたる金網を漬け18—24時間放置す。金網を除き淨布を通じて液を濾過す

#### Karr の直接 Nessler-化尿素定量法<sup>1)</sup>

原理 血液濾液中の尿素を尿素酵素の作用により炭酸安門に變じ之を保護膠質として藤黄附加の下に Nessler-化す。Pepton 及 Amino-酸の存在に由る影響は小にして臨牀上の検査には差支なし、此法は一時に多量の測定を爲さんとする時簡單にして便なり。

實施 5 ccの Folin-Wu の血液濾液を試験管内に入れ1滴の緩衝劑<sup>\*i)</sup> 及び一片の尿素酵素紙若くは5滴の尿素液を加ふ、他の試験管中に5 ccの基準尿素溶液<sup>\*ii)</sup> を入れ同様に處理す、是等の試験管の各々を50°の水浴内に15分入れたる後其内容を別々に22.5及25 ccの處に標識を有する試験管内に入れ水を以て22.5 ccの標識まで稀釋し、之に3滴の藤黄<sup>\*iii)</sup> 溶液を加へ、Nessler の液を以て25 ccの標識まで充たす、混和し、1分後に採讀すべし。

血液が若し40 mg %以上の尿素窒素を含有する時は、血液濾液の少量を用ひて測定を反復すべし。

計算 未知液を15 mmの高に固定し基準液の讀を採れば血液100 ccの尿素窒素の mg 値を得、濾液を5 ccより少なく採りたる際には之に對する補正を行ふべし。

注意: i) 緩衝劑は前項 Folin の醋酸緩衝劑を用ひて可なり。

ii) 基準尿素液 根本液として0.1286 g の尿素を水に溶解し200 ccに充たした

1) J. Lab. Clin. Med. 9, 3, 1924.

るものを用ひ其5 ccを水を以て100 ccに稀釋す。5 ccの稀釋液は0.075 mg Nを含有す。

ii) 藤黄液 前項 Folin 及 Svedberg の法の注意 vii の條下を見よ。

### 第33節 血液内尿酸の定量

#### Benedict 及 Behre の法<sup>1</sup>

**原理** Folin 及 Wu の法にて除蛋白したる血液濾液に著しき酸性度に於て硝酸銀を加へ Thionein を沈澱除去したる後 Benedict の試薬を加へ發生する色彩を比色して尿酸量を測定する法なり。

**實施** 5 ccの Folin-Wu の濾液を15 ccの廻轉沈澱管に入れ之に2.5 ccの酸性鹽化-Lithium液<sup>ii)</sup>を加へ、反轉して混和し、更に之に2.5 ccの硝酸銀液<sup>iii)</sup>を加へ Gom-栓を施しよく振盪したる後1分間廻澱し上清液を清淨なる試験管内に移し1分間程餘滴の落つるに時を與ふべし。(上清液は時を以て膠質性鹽化銀の爲めに蛋白石濁を呈するこゝあるも之は後青化物の添加に際し消退するを以て毫も差支なし)。

次に基準尿酸液<sup>ii)</sup>より稀薄基準尿酸液を調製すべし、(基準尿酸液は2ヶ月の保存に堪ゆるも稀薄にしたるものは2週を越ゆるこゝを許さず、故に調製時日の疑はしき時は常に新たに調製するを要す)、之には基準尿酸液の10 ccを500 ccの量瓶に移し、半ば蒸餾水を以て充たし、25 ccの稀鹽酸(1容の濃鹽酸に蒸餾水を加へて10倍容に稀釋したるもの)を加へたる後水を以て標識に至るまで充たしむべし。此稀薄基準尿酸液5 cc中には0.02 mgの尿酸を含有す。

第二の試験管に稀薄基準尿酸液5 ccを入れ之に5 ccの蒸餾水を加へて稀釋す。

各管に滴管を用ひて4 ccの5% NaCN液<sup>iv)</sup>を加へたる後更に1 ccのBenedictの砒磷 Wolfram-酸試薬<sup>v)</sup>を加へ直ちに各管を閉ぢ1回顛倒して混和せしめ速かに沸湯中に放置すべし。3分間加熱したる後2分間空氣中にて放冷し次で比色すべし、久しく放置し餘り冷却する時は白色の沈澱發生するこゝあり、此沈澱は加温により溶解す。

**計算** 基準液が0.02 mgの尿酸を含有し、且5 cc血液濾液(0.5 ccの血液に相當す)を用ゐたる場合には原血液100 cc内に含まるる尿酸のmg数は

<sup>1</sup> J. Biol. Chem. 92, 161, 1931.

基準液の液高を未知液の高にて除し之に4を乗じたるものに等しかるべし。

注意: i) 酸性鹽化-Lithium 3g の鹽化-Lithium を蒸留水に溶解し、之に20ccの濃鹽酸を加へたる後水を以て全量を1lに充たしたるもの。

ii) 硝酸銀液 11.6g の硝酸銀を蒸留水に溶解し全量を1lとなしたるもの。

iii) 基準尿酸液 根本液の調製(Benedict 及 Hitchcock: J. Biol. Chem. 20, 623 1915) 9gの純二-Natrium-磷酸鹽結晶を1gの純一-Natrium-磷酸鹽結晶と共に200-300ccの熱湯に溶解し、若し溶液が全く清澄ならざる時は之を濾過し更に熱湯を加へて全量を約500ccとなしたる後直ちに精確に200mgの尿酸を8-10ccの水に浮遊し保有する1lの量瓶中に注加し混合物を攪拌して尿酸を全く溶解せしめ次で之を放冷せしむべし。冷却後混合液に1.4cc(精確)の水醋酸を加へ、且つ水を加へて標識に至らしめよく混和し、約5ccのChloroformを加へ細菌の發生を防止す。此溶液5ccは1mgの尿酸を含有す。

iv) NaCN液 約50gのNaCNを撈杯内に秤り蒸留水に溶解せしめて1lの量瓶内に移し之に2ccの濃安門(比重0.88)を加へたる後全量を蒸留水を以て1lに充たすべし、NaCNは猛毒なるを以て此溶液の調製には大なる注意を拂ふべし、又此溶液は決して量管を用ゆることなく常に滴管を用ひて之を測量すべし、青酸曹達液は2ヶ月毎に之を新たに調製するを可とす。

v) Benedictの尿酸試薬の調製: 1lの量瓶に100gのWolfram-酸曹達を入れ約600ccの水を加へて溶解したる後之に50gの純五酸化砒素、25ccの85%磷酸及20ccの濃鹽酸を添加し、混合物を20分間煮沸し、次で放冷し、冷却後水を加へて1lに稀釋すべし。試薬は永久に之を保有することを得るが如し

### 第34節 Kreatin 及 Kreatinin の定量(Folin-Wu の法)<sup>1</sup>

#### Kreatinin の定量

原理 血液濾液の一部を鹼性 Pikrin-酸鹽溶液にて處理して發生したる色彩を基準液より得たるものと比色して定量す。

實施 25cc(若くは50cc)の飽和純化 Pikrin-酸溶液を清淨なる小硝瓶子に入れ之に5cc(若くは10cc)の10%苛性曹達を加へ混和す。10ccの血液濾液を小硝瓶子又は試験管に入れ、又他の小硝瓶子には5ccの基準 Kreatinin-溶液<sup>\*)</sup>を入れ基準液に水を加へて20ccとす。夫れより上記の新たに調製したる鹼性 Pikrin-酸溶液の5ccを血液濾液に、又10ccを稀釋 Kreatinin 液に加へ、8-10分間放置したる後兩液を比色すべし。但し此際必ず豫め基準 Pikrin-酸-Kreatinin 溶液を比色計の兩杯に入れたる時比色計の視野の兩部が同等の色彩を呈するここを確め置くを要す。又比色は鹼性 Pikrin-酸鹽を加へたる後15分以内にて完了せしむべし。従つて同時に3-5種濾液以上を検するここは避くるを可とす。

計算 基準液の讀みに1.5を乗じたるものを未知液の讀にて除したるものは100cc血液内に存する Kreatinin のmg數を示す。上記測定にて基準液は未知液の倍に稀釋せられ居れるを注目すべし、従つて基準 Kreatinin 液の各5ccは0.03mgを含有するも血液濾液内の0.015mgに相當す。

注意: i) 血液濾液の量僅少にして反復して Kreatinin 量を測定すること能はざる時は基準液を數多作り置くべし。若し各濃度の基準液の準備なくして不意に未知液内の Kreatinin の量著しく大なる結果を得たる時は2倍容の水にて稀釋したる鹼性 Pikrin-酸鹽の適當量を加へて未知液の色調を降下せしめたる後基準液と比色することにより測定を遂行することを得べし。

基準 Kreatinin-液(血液の Kreatinin 及 Kreatin の測定に共に用ひ得らるるもの)の調製、1lの量瓶に6ccの尿分析用基準 Kreatinin-溶液(6mgの Kreatinin を含有す)を入れ之に10ccの定規鹽酸を加へ、水を以て標識まで充たし混和したる後繼に移し4-5滴の Toluol を加ふべし。此液の5ccは0.03mgの Kreatinin

1. Biol. Chem. 38, 81, 1919.



を含み之に 15 cc の水を加へたるものは人血 Kreatinin 量 (通常 100 cc に對し 2 mg) の測定に際し基準として用ゐらるることを得。若し Kreatinin の堆積により血液中の Kreatinin 増加したる場合には此基準 Kreatinin 液 10 cc に 10 cc の水を加へたるもの (100 cc の血液内に 2-4 mg の Kreatinin ある時に適す) 又は 15 cc の基準液に 5 cc の水を加へたるもの (100 cc 血液に 4-6 mg の Kreatinin ある時に適す) を用ゆべし。

#### Kreatin 加 Kreatinin の定量

**原理** 血液濾液中の Kreatin を稀鹽酸と共に加壓蒸熱器内にて加熱して Kreatinin に變化せしめ之を既成 Kreatinin と共に滴性 Pikrin-酸鹽にて處理し定量するに既成 Kreatinin の定量に述べたる所と同じ。

**實施** 5 cc の血液濾液を 25 cc の處に標識を有する試験管に入れ、之に 1 cc の定規鹽酸を加へ、試験管の管口を錫箔にて蔽ひ、加壓蒸熱器内にて 130° に 20 分間加熱す。(又は 155° に 10 分間加熱するも可なり)。冷却せしめたる後之に 5 cc の滴性 Pikrin-酸鹽を加へ 8-10 分間放置し次で水を加へて 25 cc に稀釋す。

基準液を作る爲めに 10 cc の Kreatinin 溶液 (前頁注意 i 参照) を 50 cc の量瓶に入れ之に 2 cc の定規鹽酸及 10 cc の滴性 Pikrin 酸鹽溶液を加へ 10 分間放置したる後水を加へて 50 cc とす。此基準反應液の調製は勿論未知液の測定に先ちて行ひ此基準反應液を以て比色計の兩筒が同等度に照射せられあるを確め置くを要す。

**計算** 基準反應液の高さを通常 20 mm に定む。之を未知液の讀にて除したるものに 6 を乗すれば 100 cc の血液中に存する總 Kreatinin の mg 數を得。

尿毒症にて血液が多量の Kreatinin を含有する際には血液濾液の使用量を 1, 2 又は 3 cc 等に加減し之に水を加へて約 5 cc とし、上記不稀釋濾液の 5 cc の代りに用ふべし。

此方法にて測定せられたる正常血液總 Kreatinin 量は 100 cc の血液に對し約 6 mg なり。

### 第 35 節 血糖の定量

#### 1. Hagedorn 及 Jensen の法<sup>1</sup>

**原理** 血液の蛋白質を水酸化亞鉛にて沈澱せしめ、濾液を Ferricyan-加里液と共に加熱し糖の爲めに還元せられずして残留する Ferricyan-加里の量は之を濾液に沃度加里を添加する際遊離する沃度を Thio-硫酸曹達にて滴定して知り之より糖の爲めに還元せられたる Ferricyan-加里の量を知り従つて糖の量を算出す。此際 Ferricyan-加里及沃度加里間の反應は  $2\text{H}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 2\text{HI} = 2\text{H}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{I}_2$  にして其逆反應は Ferrocyan-鹽を亞鉛鹽として沈澱せしむることによりて之を阻止す。Folin 及び Wu の濾液を使用することを得。

**實施** 15×150 mm の大きさを有する試験管内に 1 cc の 0.1 N NaOH<sup>\*iv)</sup> 及 5 cc の 0.45% 硫酸亞鉛溶液<sup>\*iii)</sup> を管量する時は水酸化亞鉛の膠化狀沈澱發生す。之に 0.1 cc の血液を毛細量管<sup>\*ii)</sup> より添加し量管は之を二回混合液にて洗滌し且つ内容を完全に吹き出したる後試験管を 3 分間煮沸せる水浴内に放置す。茲に於て内容を悉く口径 3-4 cm の漏斗に少量の濕潤綿を軽く裝填したるものを通じて 30×90 mm の試験管内に濾過し、漏斗及び濾紙を 3 cc 宛の水を以て 2 回洗滌し濾液に 2 cc の滴性-Ferrocyan-加里液<sup>\*iv)</sup> を加へ 15 分間之を煮沸水浴内に加熱すべし。冷却せしめたる後に 3 cc の沃化物硫酸鹽溶液<sup>\*v)</sup> 及 2 cc の 3% 醋酸溶液 (鐵を含むべからず) を加へ、遊離したる沃度は 0.005 N Thio-硫酸曹達<sup>\*vi)</sup> にて滴定す。此時飽和食鹽水に溶解性澱粉を 1% の割に溶解したるもの 2 滴を標示薬として用ゆべし。

**計算** 實驗として測定に用ゐたる凡ての試薬を用ひ唯血液のみを添加せずして全測定法を行ふべし。

滴定に使用せられたる Thio-硫酸曹達の滴管の讀みを A とすれば先づ之に Thio-硫酸曹達の實値係數 (2 cc の 0.005 N 沃度酸鹽を滴定するに要する Thio-硫酸鹽溶液の cc 數にて 2 を除したるもの) を乗じて B を得表によりて

1. Bioch. Z. 135, 46, 1923 137, 92, 1923.

0.005 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  の消費量 (cc) と  
葡萄糖量 (mg) との関係

c.c	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.385	0.382	0.379	0.376	0.373	0.370	0.367	0.364	0.361	0.358
0.1	0.355	0.352	0.350	0.348	0.345	0.343	0.341	0.338	0.336	0.333
0.2	0.331	0.329	0.327	0.325	0.323	0.321	0.318	0.316	0.314	0.312
0.3	0.310	0.308	0.306	0.304	0.302	0.300	0.298	0.296	0.294	0.292
0.4	0.290	0.288	0.286	0.284	0.282	0.280	0.278	0.276	0.274	0.272
0.5	0.270	0.268	0.266	0.264	0.262	0.260	0.259	0.257	0.255	0.253
0.6	0.251	0.249	0.247	0.245	0.243	0.241	0.240	0.238	0.236	0.234
0.7	0.232	0.230	0.228	0.226	0.224	0.222	0.221	0.219	0.217	0.215
0.8	0.213	0.211	0.209	0.208	0.206	0.204	0.202	0.200	0.199	0.197
0.9	0.195	0.193	0.191	0.190	0.188	0.186	0.184	0.182	0.181	0.179
1.0	0.177	0.175	0.173	0.172	0.170	0.168	0.166	0.164	0.163	0.161
1.1	0.159	0.157	0.155	0.154	0.152	0.150	0.148	0.146	0.145	0.143
1.2	0.141	0.139	0.138	0.136	0.134	0.132	0.131	0.129	0.127	0.125
1.3	0.124	0.122	0.120	0.119	0.117	0.115	0.113	0.111	0.110	0.108
1.4	0.106	0.104	0.102	0.101	0.099	0.097	0.095	0.093	0.092	0.090
1.5	0.088	0.086	0.084	0.083	0.081	0.079	0.077	0.075	0.074	0.072
1.6	0.070	0.068	0.066	0.065	0.063	0.061	0.059	0.057	0.056	0.054
1.7	0.052	0.050	0.048	0.047	0.045	0.043	0.041	0.039	0.038	0.036
1.8	0.034	0.032	0.031	0.029	0.027	0.025	0.024	0.022	0.020	0.019
1.9	0.017	0.015	0.014	0.012	0.010	0.008	0.007	0.005	0.003	0.002

第 1 表

之に相當する糖の mg 数を求め血液測定により得たる数より空驗にて得たる数を控除する時は血液 0.1 cc 中に於ける葡萄糖の mg 数を得べし。

注意: i) 0.1 cc の量管は全長約 20 cm, 尖端より標識迄は約 10-12 cm なるべし。之を較量するには此量管にて N/10 沃度酸加里液の 0.1 cc を 10 cc の水の内に測り入れ, 常法に従ひて酸及沃度加里溶液を加へ N/200 Thio-硫酸鹽にて滴定し, 他方には同じ沃度酸溶液を N/200 に稀釋し其 2.0 cc を精確に測りて 10 cc の水に入れ同一 Thio-硫酸曹達液にて滴定するに兩滴定値が實驗誤差の範圍(約 0.5%)内に於て一致する時は量管は精確なりとして使用するを得べし。

ii) 0.1 N NaOH. 毎週新たに 2 N NaOH より稀釋して調製すべし。

iii) 0.45% 硫酸亞鉛. 之も亦毎週 45 g/dl の液を稀釋して調製すべし。

iv) 濾性 Ferricyan-加里. 1.65 g の Ferricyan-加里及 10.6 g の無水炭酸曹達を 1 l の水に溶解す。光を遮けて貯藏すべし。炭酸曹達は再結晶を行ひ白金内にて熔融すべし。Ferricyan-加里は市販のもの結晶を水にて洗ひたる後水と共に加熱して溶解し煮沸せる溶液を豫め注意して沸湯にて洗滌したる濾紙を通じ冷水内に保持せられたる蒸發皿内に濾過すべし。此處に發生したる細密の結晶を他の洗滌せられたる濾紙を通じて吸引濾過し再び再結晶を行ふべし。50°にて乾燥す。精製の操作内は常に日光を避くべし。

v) 沃化物硫酸鹽溶液 5.0 g の KI, 10 g の  $\text{ZnSO}_4$ , 50 g の NaCl を水に溶解し全量を 200 cc とす。之には KI 以外のものを先づ溶解し置き, 之に沃度加里を必要量加ふるを便とす。遊離の沃度は厚き濾紙にて濾過する時殆んど完全に之を除去することを得。

vi) 0.005 N Thio-硫酸曹達を作るには 0.7 g の Thio-硫酸曹達を 500 cc の水に溶解し 0.005 N 沃度加里に對し評價すべし。之に要する 0.005 N 沃度酸加里は永久の保存に堪へ Thio-硫酸鹽及 Ferricyan-酸鹽の評價に重要なり。之を作るには精密に 0.3566 g の沃度酸加里(水を含むべからず)を水に溶解し全量を 2000 cc とす。

## 2. Benedict の血糖測定法

原理 血液中に存する非糖還元物質によつて殆んど還元せられざる新銅試薬を用ひて血糖定量法を行ふ。

實施 2 cc の葡萄糖基準液<sup>ii)</sup>及 2 cc の 10 倍稀釋血液濾液を各々 Folin-Wu の糖管<sup>iii)</sup>に入れ其各々に 2 cc の銅試薬<sup>iii)</sup>を加へ振盪したる後強く煮沸したる熱湯中に 5.5 乃至 6 分間入れ, 次で冷水中に 1-2 分放置し各管に 2 cc の Benedict の色彩試薬<sup>iv)</sup>を加へ内容を強く振盪して混和す。1 分の後各管に水を加へて 25 cc 標識に至らしむ。各管をよく反復反轉して内容を完全に混和したる後比色計を用ひて 10 分以内に採讀す。

計算 被檢液を 20 mm の高さに固定し、之に對して基準液を比色したる時の基準液の讀みに 5 を乗する時は血液 100 cc 中の葡萄糖の mg 量を得。

注意: i) 葡萄糖基準液 三種を用意し置くを可とす。a) 根本液, 飽和安息香酸

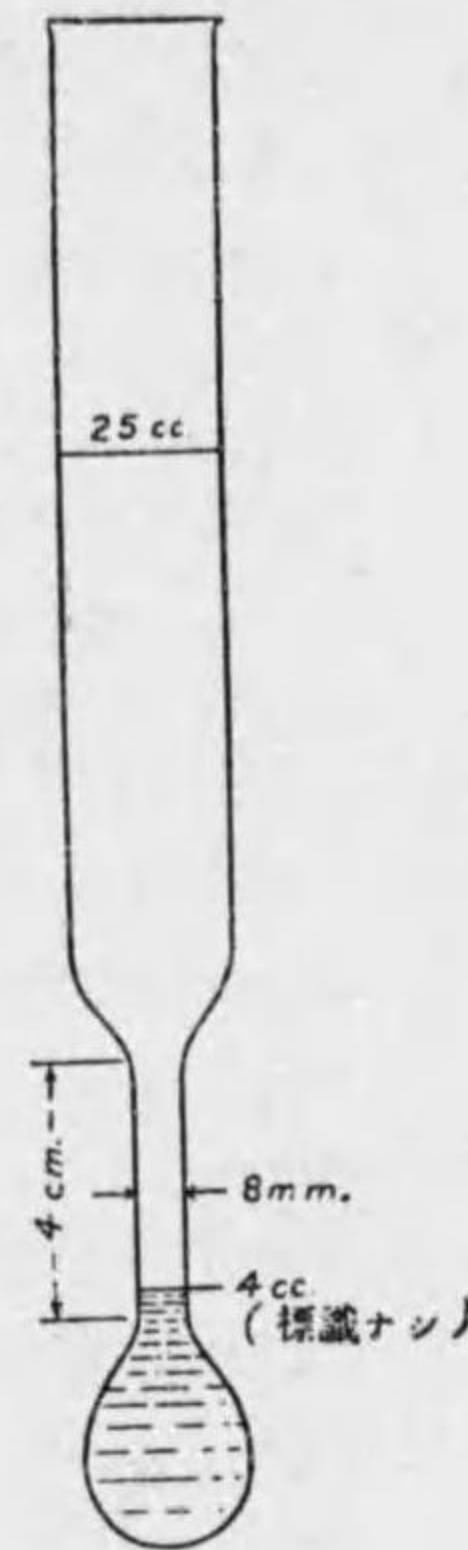
1. J. Biol. Chem. 76, 457, 1928, 38, 165, 1929.

溶液をもつて作れる1%葡萄糖溶液, b) 1 cc中に2 mgの葡萄糖を含有する溶液(20 ccの根本液を水を以て100 ccに稀釋したるもの), c) 2 cc中に葡萄糖0.2もしくは0.4 mgを含有する溶液(b液を稀釋して作る). 是等稀釋基準液は1週間内に2-3回新に作成するを可とす.

ii) Folin-Wuの糖試験管は圖に示す如き形状を有し4 ccの溶液を加へたる時液の表面が管の狭窄部に存在するを要す. 球部の大きさに過ぎ又小に過ぐるものは用に適せずよろしく之を廢棄すべし.

iii) 銅試薬 15 gの無水炭酸曹達, 3 gの Alanin 及 2 gの酒石酸加里曹達を約250 ccの蒸溜水に溶解し, 之に豫め3 gの結晶硫酸銅を100 ccの蒸溜水に溶解したるものを攪拌しつつ添加し全量を水を加へて500 ccとし混和す. この試薬は作成後4-6週間の保存に耐ゆ銅試薬は使用に際し, その各ccに對し1滴の1%の重亜硫酸曹達を加ふべし. (20 ccの試薬に對し1 ccの重亜硫酸曹達を加ふ). 重亜硫酸曹達溶液は毎月1回づつ新に作成するを可とす.

iv) 色彩試薬 150 gの純 Molybden-酸及 75 gの無水炭酸曹達を Erlenmeyerの瓶に入れ之に振盪しつつ少量づつ500 ccの水を加へたる後, 加熱して煮沸せしめ濾過す. 濾紙上の残渣を熱湯を以て洗ひ洗液を濾液に加へ全量を600 ccとす. 之に300 ccの85%  $H_3PO_4$ を加へ水を以て稀釋して1 lとなす.



第 26 圖

### 3. Somogyi-Shaffer-Hartmann の法<sup>1</sup>

原理 解血したる血液より水酸化亜鉛を以て蛋白質を除去し, 殆んご糖以外の還元物質を含まざる濾液を作りその中に存する糖により還元されたる銅を沃度法によりて滴定して糖を測定する法なり. 蛋白質は又銅鹽によりて之を除去する事を得.

實施 A. 除蛋白法 血液の1容を7倍容の水を以て解血し, 之に10%の  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  <sup>\*)</sup>の溶液1容を加へ, 之に絶えず振盪しつつ1容の0.5 n NaOHを加へ施栓しよく振盪し數分の後, 乾きたる濾紙をもつて濾過す. 精密を

1, J. Biol. Chem. 86, 655, 1930.

得んご欲せば血液は Ostwald の量管(收容用)をもつて測り水を以て洗滌するを可とす. 血清又は血漿の際には之を8倍の水にて稀釋し, 硫酸亞鹽及苛性曹達溶液各々0.5容を加ふべし. 微量法としては試験管又は25 ccの Erlenmeyer 瓶に5.8 ccの水を入れ精密なる毛細量管より0.2 ccの血液を加へ管内の解血水を以て數回洗滌し, 混和し. 之に1 ccの1.8%  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ を加へ混和し之に絶えず振盪しつつ1 ccの0.1N NaOHを加へ數分の後乾きたる濾紙を通じて濾過しその濾液の5 cc(0.125 ccの血液に相當す)を用ひて糖を測定す.

B 糖の定量 5 ccの銅試薬<sup>\*)</sup>を大なる試験管(25×250 mm)に入れ之に5 ccの糖溶液(0.1-2.0 mgを含有す)を加へ靜かに振盪しつつ混じ小なる漏斗をもつて試験管を蔽ひ煮沸せる水浴内に15分間加熱したる後浅き水盤内に置いて温度が35-40に冷却したる時, 振盪しつつこれに5 Nの  $H_2SO_4$  1 ccを加へすべての  $Cu_2O$  がただちに溶解するを得しむ. 2分後に0.005 Nの Thio-硫酸曹達を以て滴定す(澱粉を標試薬とす) 5 ccの試薬に同量の水を加へ案山子測定を行ふべし.

計算 案山子滴定値より未知物の滴定値を控除し(Thio-硫酸の所要値)之より次頁の表に従ひ血液中の糖を算出す.

注意: i) 10 ccの硫酸亞鉛溶液を60 ccの水にて稀釋し靜かに NaOH を以て滴定するに12-12.2 ccを加ふれば Phenolphthalein を永久に桃色に染色すべし.

ii) 銅試薬は豫め A, B の二種の溶液を作成し置くを可とす, 即, A液は13 gの  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  を1 l中に含有するもの. B液は50 gの無水重炭酸曹達, 40 gの炭酸曹達, 24 gの酒石酸加里曹達, 36.8 gの酒石酸加里, 1.4 gの沃度酸加里等の各鹽類を個々に少量の25°の水に溶解せしめたる後, 混合し水を以て稀釋し, 1 lとなすべし. 用に臨み A 及 B 液の等量を加へて試薬を作成す.

10倍稀釋血液濾液5ccと銅試薬5ccを水浴内に  
て15分加熱したる際の滴定値に相當する葡萄糖量

0,005 N Thio-硫酸 cc 量	0,005 N Thio-硫酸 $\frac{1}{10}$ cc 量									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	100 cc 血液中に於ける葡萄糖の mg 量									
0			21	23	26	29	31	34	36	39
1	41	44	46	49	51	53	56	58	61	63
2	65	68	70	72	75	77	80	82	84	86
3	89	92	94	97	99	101	103	106	108	110
4	113	115	117	119	121	124	126	128	130	132
5	135	137	139	141	143	146	148	150	152	154
6	157	159	161	163	165	168	170	172	174	176
7	179	181	183	185	187	190	192	194	196	199
8	201	203	205	207	210	212	214	216	218	221
9	223	225	227	230	232	234	237	239	241	243
10	245	248	250	252	254	256	259	261	263	265
11	267	270	272	274	276	279	281	283	285	288
12	290	292	294	296	299	301	303	305	308	310
13	312	314	316	318	321	323	326	328	330	332
14	334	337	339	341	343	345	347	350	352	354
15	356	359	361	363	365	367	370	372	374	376
16	378	381	383	386	388	390	392	394	396	398
17	400									

#### 4. 糖認容力の測定

葡萄糖に対する認容力を検する時は軽度の糖尿症、過甲状腺性糖尿及び腎性糖尿等を區別するこゝを得。

被検者は朝食を攝取せざるを可し。少なくとも試験前數時間は食物を攝取すべからず。

血液を採取し、排尿、尿は検査の爲めに保存すべし。

體重 1 Kilo に對し 1.75 g の割に相當する量の葡萄糖を約 200 乃至 300 cc の水に溶解し Lemon 汁にて味を附けたる後被検者をして之を飲ましめ、夫より 1 時間、2 時間及び 3 時間後に血液を採取し又尿を排泄せしむ。

是等の尿に就き糖の存否を試験し、又各血液分中の葡萄糖量を測定す。

### 第 36 節 血液内 Cholesterin の定量

#### Bloor-Cornell の比色法<sup>1</sup>

**原理** 血液の Cholesterin を Alcohol-Ether 混合液に浸出し、次で乾きたる Chloroform に採り之に失水醋酸を作用せしむる時に發生する青綠色の色彩を基準 Cholesterin 液の夫と比色して定量す。

**實施** 豫め乾燥したる樽杯内に於て 75 cc の Alcohol-Ether<sup>2)</sup> に靜かに攪拌しつつ 3 cc の血液 (血液 1 cc に對し 2-2.5 mg の蔞酸加里を加へて凝固を阻止したるもの) を徐々に量管より加へ、注意して攪拌したる後乾燥したる 250 cc Erlenmeyer 瓶子内に濾過し、樽杯及び濾紙上の残渣を 50 cc の Alcohol-Ether 混合液にて之を數回に分ち洗滌べし。是等の濾液全部を煮沸水浴上に於て注意しつつ煮沸して 80-90 cc に至る迄蒸縮し冷却後乾燥したる 100 cc 量瓶に移し Erlenmeyer 瓶子を少量の Alcohol-Ether にて洗滌し洗滌液を量瓶の中に加へ更に混合液を以て 100 cc の標識に至るまで充たすべし。

此 100 cc 中より精密に 50 cc を管量して乾燥 150 cc Erlenmeyer 瓶子に採り、水浴上に於て 80° を超えざる溫度にて蒸發乾固せしめ (電熱板を用ふる時は過熱の虞あるにより之を避くべし)、次で水流-Pomp に連結して低壓を用る瓶子未だ熱き間に最後の一滴まで蒸發せしむ。(水浴上にて加熱する際には小漏斗を瓶子の口部に挿入して噴散を避くるに努むべし)。

残渣を 3-4 回 5-6 cc の純、乾燥 (水を含まざる) Chloroform<sup>3)</sup> にて處理し漏斗を通じて 25 cc の量瓶の中に移し終に Chloroform を以て 25 cc の標識まで充たす、此 25 cc の Chloroform 中には 1.5 cc の血液内に含まるる Cholesterin の全部を溶存す。

此溶液 5 cc を精密に管量して 10 cc の量筒に採り、2 cc の純失水醋酸及び 0.1 cc の濃硫酸を加へ、次で Chloroform を以て標識まで充たす、よく混和し、15 分間暗處に放置すべし。

1. Cornell: J. Lab. Clin. Med. 14, 251 [1928]

稀薄 Cholesterin 基準液<sup>14)</sup>の 5 cc を 10 cc の量筒中に採り之に 2 cc の失水醋酸及び 0.1 cc の濃硫酸を加へ、次で Chloroform を以て標識まで充たし、混和したる後暗處に放置し 15 分の後比色計を用ひ此基準反應液を 20 mm の高さに固定し被檢反應液の色調を比色すべし。

**計算** 5 cc の Chloroform 浸出液は 0.3 cc の血液に相當し、又 5 cc の基準液は 0.5 mg の Cholesterin を含有するにより、

$0.5 \times \frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times \frac{100}{0.3}$  は 100 cc の血液中に於ける Cholesterin の mg 数を與ふべし。

**注意:** i) **Alcohol-Ether 混合液** 無水-Alcohol (99.8%) 二容量と再餾 Ether の一定量とを混和したるものなり。此際用ゆる Ether は精製して其中に存する水、Alcohol、酸、Aldehyd 等の夾雜物を除去するを要す、之には分液漏斗内にて  $\frac{1}{10}$  容の 1% 苛性曹達液と共に振盪して水以外の夾雜物を除去し數回操作を反復して之を完全にしたる後約  $\frac{1}{20}$  量の無水 CaCl<sub>2</sub> を加へ數分間時々之を振盪し(振盪したる際 Ether が粉狀の CaCl<sub>2</sub> を浮遊せしむる爲めに潤濁し居る時は脱水完全なる證なり) 襲皺濾紙を以て濾過し濾液を蒸餾すれば可なり。

ii) **純、乾燥 Chloroform の調製** Chloroform を  $\frac{1}{10}$  容の 2% NaOH と共に振盪し洗滌したる後、粉末様無水 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を加へ時々振盪して脱水し、次で之を蒸餾すべし。

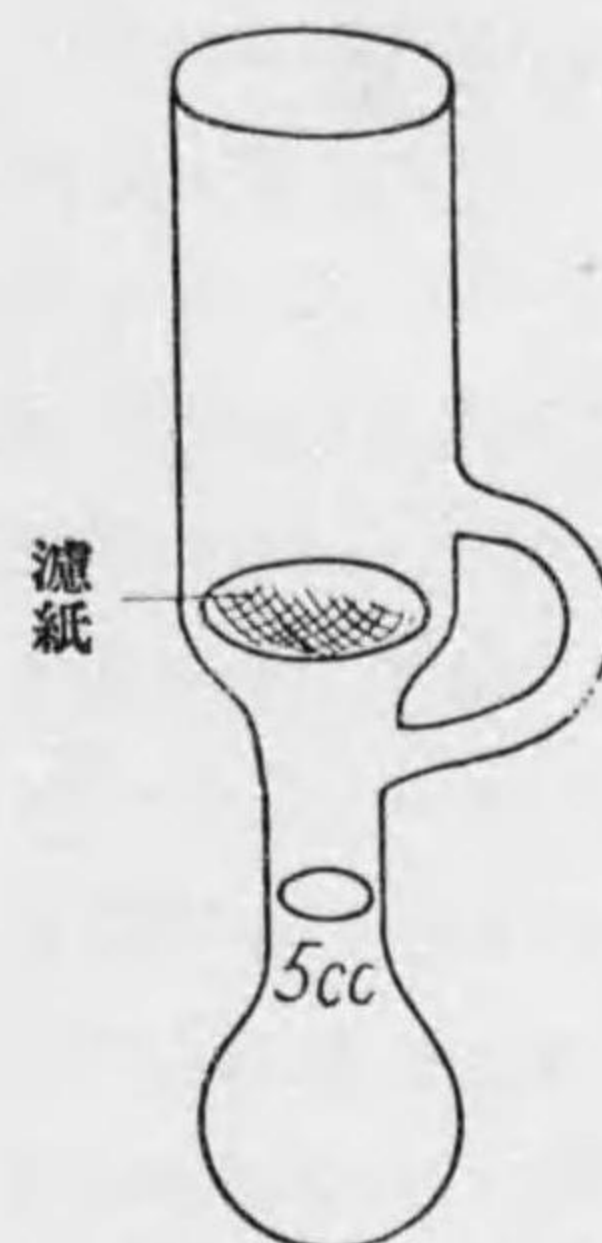
iii) **Cholesterin 基準液** 100 cc 量瓶内に於て 1g の Cholesterin を乾燥 Chloroform<sup>14)</sup> に溶解し次で Chloroform を以て標識まで充たしたるものを根本基準液とし、其 1 cc を精密に管量して第二の 100 cc 量瓶中に移し Chloroform を標識まで加へたるものを以て稀薄基準液となす。其 1 cc は 0.1 mg の Cholesterin を含有す。

#### Leiboff の法<sup>1</sup>

**原理** 血液を濾紙上に乾燥せしめ、特殊の管(第 26 圖)内に於て Chloroform を以て浸出し、失水醋酸を以て色彩反應を行ふ。

**Leiboff の浸出管** 約 100 mm の長、内徑 22 mm の管にして圖の如く 5 cc の處狭窄し居れり。側管は Chloroform の氾逸に具ふ。

1. J. Biol. Chem. 61, 177, 1924; J. Lab. Clin. Med. 15, 776, 1930.



Leiboff の浸出管  
第 27 圖

**實施** 脱脂したる厚濾紙を以て 19 mm 平方の紙片を作り其上に稀酸血液の 0.25 cc を量管より滴下し空中に於て乾燥せしむ。5 cc の Chloroform を浸出管に入れ濾紙を圖の如く(角を少し上に向けて)管内に入れ、管を還流冷却器に繼なきたる後、水浴上に漬らし 30 分浸出す。冷却管を去り、濾紙片を出だしたる後浸出管を室溫に至るまで冷却し、Chloroform を加へて 5 cc 標識まで充たす。他の管に 5 cc の基準 Cholesterin 溶液<sup>14)</sup> (0.4 mg の Cholesterin を含む) を入れ、各管に 2 cc の失水醋酸及び 0.1 cc の濃硫酸を加へ施栓し反轉して混合す。15 分比色用

光線下に放置したる後比色計にて計較す。

**計算**  $\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times 0.4 \times \frac{100}{0.25}$  = 血液 100 cc 中の Cholesterin の mg 量  
未知液を 16 mm の高さに固定する時は基準液の讀の 10 倍値は Cholesterin の mg 量を示す。

**注意:** i) **基準 Cholesterin 溶液** 根本液として 0.160 g の紙 Cholesterin を再蒸餾したる 100 cc Chloroform に溶解す。使用基準液は此根本液 5 cc を Chloroform を以て 100 cc に稀釋して作る。其 5 cc は 0.4 mg の Cholesterin を含有す。

### 第37節 血漿内脂酸及 Cholesterol の定量

Bloor, Pelkan 及 Allen の法<sup>1</sup>

**原理** 血液を Alcohol-Ether 混合液(3:1)に採り、之を熱して脂質及類脂體を浸出し、浸出物を鹼化したる後 Cholesterin を Chloroform に浸出して比色法により測定し、又残渣は之を熱 Alcohol にて處理して脂酸曹達を浸出し石鹼液を酸性とし比濁法により測定す

**實施 浸出及び鹼化** 5 cc の血漿を 75 cc の Alcohol-Ether 混合液(3:1)を有する 100 cc の量瓶中に徐々に滴下して加へ、此際絶えず量瓶を迅速に旋轉し大なる沈澱塊の發生するを妨ぐべし。即時又は都合のよき時期に量瓶を沸湯中に沈め屢々弛く廻轉しつつ(過熱を防止する爲なり)液が煮沸するに至らしめたる後放置して常溫に冷却したる際混合液にて標識まで充たし、混和し次で濾過す。濾液の 10-20 cc (脂酸約 2 mg を含有する量を擇むべし)を硬質小 Erlenmeyer 瓶(50-100 cc)に測り入れ之に 0.1 cc の濃 NaOH(金屬 Natrium より作れるもの)を加へ混和物を水浴上に加熱して殆んど乾燥するに至るまで蒸縮し液量が數滴になりたる時瓶を振盪若くは廻轉して液を平等に分布せしめ(側壁に上らざる様注意すべし)蒸縮更らに進みて僅かに 2-3 滴の液を剩まし Alcohol の匂全く退散したる時は之に 0.1 cc の稀硫酸(濃硫酸 1 容を水 3 容に混じたるもの)を加へて滴の一部を中和し液をよく混和し瓶底に一様に分布せしむ。水浴上に於て蒸縮を更に繼續して残渣全く乾燥し、瓶側に最早水分の存在を見ざるに至らしむ。乾燥の操作は極めて緊要事にして乾燥の度過ぐる時は Cholesterol は冷溫にて浸出不充分となり、又乾燥の度足らざる時は石鹼若くは脂酸の一部は Cholesterol と共に浸出す。酸の添加量は滴を中和するよりも小なるを要す之れ然らざれば脂酸遊離して Chloroform に溶解すればなり同じ理由により酸は硝瓶子内残渣をよく混和し中和を完成せしめざるべからず。若し瓶内に液量少なく完全に内容を混和するに能はざる時は 1-2 滴の蒸餾水を加ふべし。酸の添加の理由に二あり；其一は Cholesterol が強鹼により

1. J. Biol. Chem. 52, 191, 1922

て破壊せらるるを防止するにあり；其二は結晶性硫酸曹達を形成せしめ残渣を疎孔性なき溶媒の穿入を容易ならしめむが爲なり。加熱は全順序を通じ常に水浴上に於て行ひ電熱板を用ゆべからず之れ電熱板にては加熱の度大に過ぐるを避け難きによる。 ●

**Cholesterol の分離と定量** 冷却後之に 10 cc の Chloroform<sup>\*1)</sup>を加へ次で 10 分間放置し且時々振盪して瓶側に附着する物質に溶媒を觸接せしむ。Chloroform 浸出液は  $5\frac{1}{2}$  cm の硬化濾紙を通じて他の小硝瓶子に濾過し更に 5 cc の Chloroform を以て二回浸出す、若し乾燥法及鹽の分布宜しきを得ば鹽類は Chloroform 浸出の際毫も瓶底より剥離するに殆んど無かるべく、脂酸も亦定量的に瓶中に残留す。Chloroform 浸出液を合して水浴上に蒸發し 2-3 cc となし 10 cc 共口量筒に移し Chloroform 洗液を加へて全量を 5 cc となす。之より Liebermann-Burchard の反應を用ゐて Chloroform の定量を行ふ。即ち 5 cc となしたる量筒内 Chloroform 溶液に 1 cc の失水醋酸及 0.1 cc の純濃硫酸を加へ量筒に栓を施したる後よく混和し 15 分間 20-22° の溫度に放置し後比色の際用ゆる光線に照射せしむ (Cholesterol の色彩は光線に對し鋭敏なるにより比色時に於ける色の變化を避くる爲め豫め照射を行ふなり)。夫より溶液を比色杯に入れ純 Cholesterol より作成したる適當なる基準液と比色すべし。此際用ゆる基準 Cholesterin 液<sup>\*2)</sup>は 5 cc Chloroform 内に 0.5 mg の Cholesterin を含有する如く作るべし。

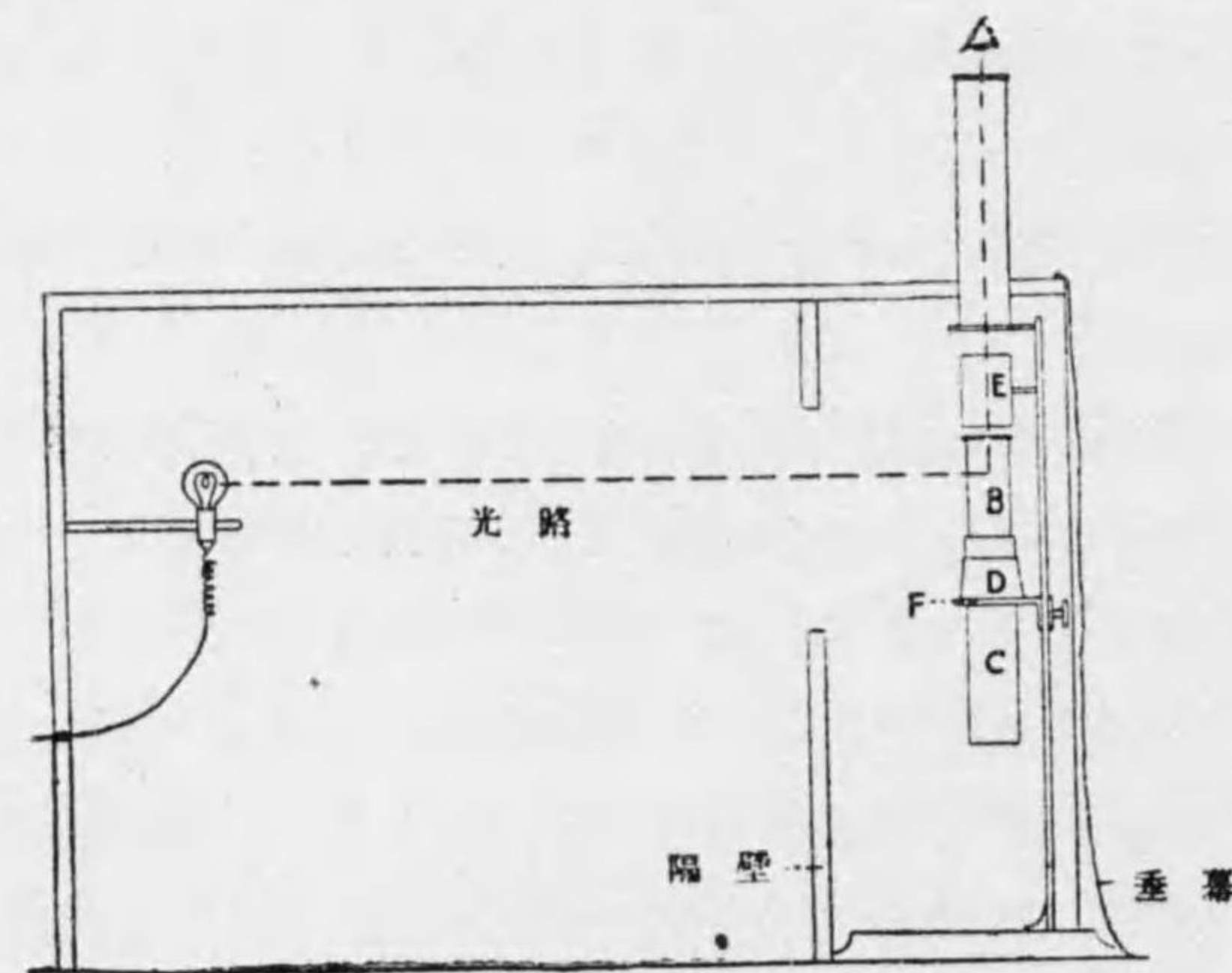
**脂酸の定量** Chloroform にて浸出せられずして小硝瓶子中に留れる残渣より脂酸を浸出するには之を煮沸せる Alcohol にて處理すべし。即ち 10 cc の再留 Alcohol を該瓶子中に加へ混合物を電熱板若くは水浴上に加熱し 10 分間甚だ靜かに之を煮沸すべし次で熱 Alcohol を既に Chloroform 浸出液濾過に用ゐたる小硬化濾紙を通じて 100 cc Erlenmeyer 瓶中に濾過す。5 cc Alcohol を以て Alcohol 浸出を尙一回反復し熱浸出液は同じ硬化濾紙を通じて濾過し是等濾液を合し水浴上に於て蒸縮して 2-3 cc となしたる後之を小なる共口量筒に定量的に移し、硝瓶子を少量の Alcohol にて滌ぎ其洗滌液を以て量筒内液量を 5 cc となす。爰に於て 100 cc の蒸餾水

を 200 cc の樽杯に採り分液漏斗の先端伸長せられて口径約 1 mm となりたるものを樽杯の底深く迄潜せしめ之を通じて量筒内 Alcohol 濾液を攪拌下に添加し、量筒は 1 回樽杯内溶液にて洗滌し分液漏斗を通じて樽杯内に戻す。之と同時に他の樽杯には 100 cc の水を入れ之に量管を経て攪拌しつつ 5 cc の基準脂酸液<sup>\*iii)</sup> (Olein-酸 60% 及 Palmitin-酸 40% 混合物 2 mg を含有す、95% Alcohol にて作る) を加ふ。夫より各樽杯に 10 cc の稀鹽酸 (濃鹽酸 1 分と水 3 分の混合液) を攪拌しつつ加へ 3 分以上 10 分以内にて兩液を比濁計にて比較す。

注意: i) Chloroform は中性にして水分及 Alcohol を含まざるを要す。

ii) 基準 Cholesterol 液は 5 cc の Chloroform 中に 0.5-1 mg の Cholesterol を含有する如くすべし。便利の爲に Cholesterol 溶液は 20 倍の濃度のものを調製し必要の際之を稀釋することを得。

iii) 基準脂酸液の調製 500 cc の 95% Alcohol に 200 mg の Olein-酸を含有する溶液、及び同じく 500 cc の 95% Alcohol に 200 mg の Palmitin-酸を含有する溶液を作り、定量に先だち 60 cc の Olein-酸溶液及 40 cc の Palmitin-酸溶液を混合し基準脂酸溶液を調製すべし。



第 28 圖

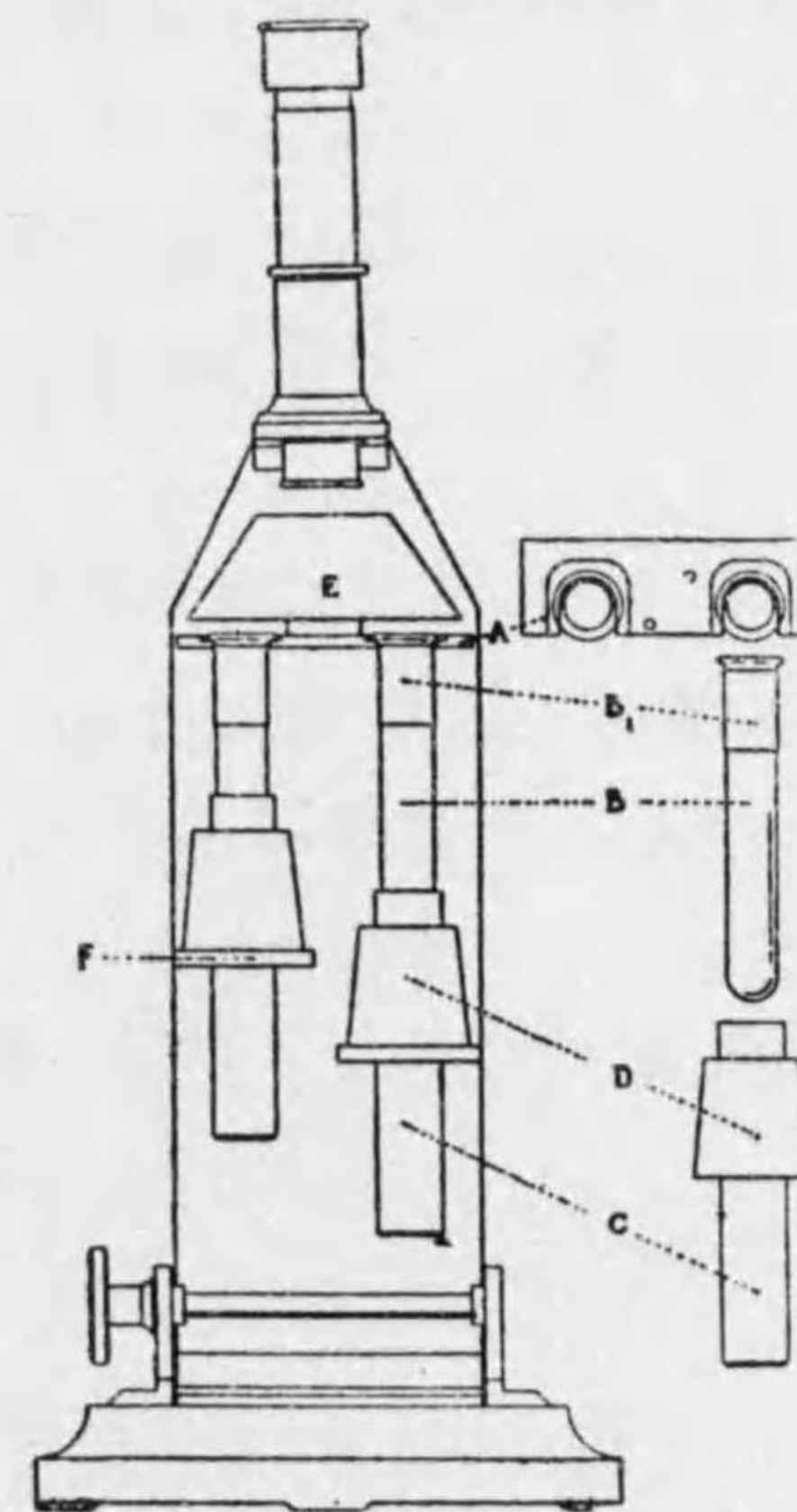
## 比濁計の使用法

通常 Duboscq の比色計を改良して比濁計とせしたるものを用ゆ (第 28, 29 圖). 同一溶液を兩側の比濁管 (B) に分配したる時に於ても兩側の讀みは合致すること殆んど罕なり。故に基準を先づ調整すべし。之を行ふには兩比濁管を基準液にて充たし所定の場所に挿入したる後其右側の衣筒 (C) を 30 mm の高さに固定し、左側の衣筒を上下して左右兩視野が同等の照明を得るに至りて止む、此時の左側の讀みは右側の 30 mm に相當す。故に基準液は此高さに固定し、右側比濁管を被檢液にて充たし右側の衣筒を上下して右側視野が左側視野と同等の照明を得る點の讀みを採るべし。

精密なる測定は基準及被檢兩液の差が 30% 以上に於ては之を得ること難し若し兩液の差之より大なる時は測定に採取する Alcohol-Ether 浸出液の量を多少にし、兩液の差を小ならしむべし。或場合 (家兎の血液の如し)

には稀薄なる基準脂酸液を使用すること必要なるべし。即基準液 5 cc を採取する代りに其 2-4 cc 等任意適量を少量筒に採り Alcohol を加へて 5 cc となし混合し後被檢液と同様に處理すべし。

比濁計は之を適當なる遮光箱中に收め、人工燈を用る、比濁計と光源との距離を一定にし、隔壁にて視線に垂直なる方向以外の光線を遮斷せしむべし。(第 28 圖參照)



第 29 圖

### 第38節 Lecithin の定量 (Youngburg の法<sup>1)</sup>)

**原理** 浸出したる磷脂質を硫酸及び過酸化水素を以て酸化し、磷酸を比色的に定量す。

**實施** 18 cc の Alcohol-Ether 混合液<sup>(i)</sup> を 20×150 mm の試験管 (20cc の處に標識を有するもの) に入れ、1 cc の血漿又は血清を滴下し、混和したる後煮沸せる水浴内にて試験管内容が沸騰するに至らば水浴内より取出し室温に於て放冷せしむ、夫より Alcohol-Ether 混合液を加へて 20cc としなし混和し濾過すべし。

濾液の 4 cc を 18×150 mm 硬質試験管 (10 cc の處に標識を有するもの) に入れ、石英破片を加へ、電熱板上に載せて蒸發乾固せしめたる後、之に 0.5 cc の 10 N. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 及 1 滴の 30% 過酸化水素を加へ、電熱板上に於て加熱し酸化完全に至るまで過酸化水素の添加を反復すべし、夫より 2 cc の水を加へ煮沸して Meta- 及び焦性磷酸を Ortho-磷酸に變ぜしめ、更に 4 cc の水及 2 cc の Molybden-硫酸試薬 B<sup>(iii)</sup> を加ふ、他の試験管内には 2 cc の磷酸基準液<sup>(iv)</sup> (=0.02 mg P)、4 cc の水及 2 cc の Molybden-酸試薬 A<sup>(ii)</sup> を加ふ。各試験管に 1 cc の稀薄第一鹽化錫を加へ、水を標識まで加へ、速かに混合し、1 分後に兩者を比色すべし。

**計算** 基準液を 20 mm に置き、之に對する被檢液の讀を採り之を以て 20 を除する時は 100cc の血漿 (又は血清) 中の磷脂質 P の mg 數を得。

**注意:** i) Alcohol-Ether 混合液. 3 容の 95% Alcohol 及 1 容の再蒸餾したる Ether を混合したるもの。

ii) Molybden-酸試薬 A, 50cc の 7.5% Molybden-酸曹達に 50cc の 10 N. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加へたるもの。

iii) Molybden-酸試薬 B 50cc の 7.5% Molybden 酸曹達に 25 cc の水及 25 cc の 10 N. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加へたるもの。

iv) 磷酸基準液 0.4389 g の純乾燥二磷酸加里に水を加へ 1000 cc としたるもの、此 10 cc は 1 mg P を含む、Chloroform の數滴を加へ黴菌の發生するを妨ぐべし。此根本液 10 cc を水にて稀釋し 100 cc とす時は其 1 cc 中には 0.01 mg P を含有す。

1. Youngburg: J. Lab. Clin. Med. 16, 158, 1930.

### 第39節 血清内胆汁色素の定量

#### Meulengracht の黃胆指數<sup>1</sup>

**原理** 血清の黄色色彩を基準重-Chrom-酸加里溶液と比色するものにして肝臟機能を窺知するに用ひらるる試験法の一なり。

**實施** 4—5 cc の新鮮にして解血せざる血液より血清を分離し、其色彩の強さに従ひて其 1 cc を目盛せられたる圓筒内にて適宜に 0.9% 食鹽水<sup>(i)</sup> を以て稀釋して基準重-Chrom-酸加里溶液<sup>(ii)</sup> の色彩に近からしめたる後兩液を比色す。

**計算**  $\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times \text{稀釋度} = \text{黃胆指數}$

**注意:** i) 磷酸緩衝劑 (pH 7) を用ゆるも可なり。

ii) 基準重-Chrom-酸加里液 0.01% の重-Chrom-酸加里液に 500 cc に對し 2 滴の濃硫酸を加ふ、褐色の硝子罎に貯ふるか、暗所に貯ふべし。

#### Van den Bergh の試験<sup>2</sup>

**原理** Diazo-試薬にて血清を處理したる時赤色の發現する速度及び色調度より胆汁色素血症の型種及び度を窺知す。

**實施** 4—5 cc の新鮮なる解血せざる血液より血清を分離し清淨なる試験管に移す。

**直接反應:** 三本の試験管の各々に 0.25 cc の血清を入れ、第 1 試験管には 0.2 cc の稀鹽酸 (15 cc の濃鹽酸を 1000 cc に稀釋したるもの)、第 2 管には 0.2 cc の新調せる Diazo-試薬<sup>(i)</sup> を加ふ、5 分間後第 3 管に同容積の Diazo-試薬を加へ第 1 第 2 管に比較して極大色彩の發現に要する時を定む。温度は 20° に於て行ふを可きす。

**間接反應:** 1 cc の血清を 15 cc の目盛廻澱管に入れ之に 0.5 cc の Diazo-試薬を加ふ、1 分の後 2.5 cc の 95% Alcohol 及び 1 cc の飽和硫酸安門溶液を加へ是等試薬添加の度毎によく混合す、廻澱する時は三層に分かれ、其最下層に硫酸安門液あり、其上に翹出せる蛋白質の層あり、上層に Diazo

1. Deutsch. Arch. Klin. Med. 132, 285, 1920. 2. Presse Med. 29, 441, 1921.



化 Bilirubin の Alcohol 浸出物あるを以て此最上層の容積を目盛により測りたる後比色計の杯中に移し基準液<sup>\*ii)</sup>と計較す。

計算  $\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times \text{Alcohol 層の容積} \times 0.5 = 100\text{cc 血清中のBilirubin の mg 量}$

注意: i) **Diazo-試薬** A液: 1gの Sulphanil-酸を 15ccの濃鹽酸に加へて溶解し水を以て 1000ccに稀釋したるもの、B液: 0.5%亞硝酸曹達液、試験の直前に 25ccの A液及 0.75ccの B液を混合して Diazo-試薬を作成す。

ii) **基準 Van den Bergh 色調液**, (Rhodan-第二鐵鹽の Ether 溶液), 0.1508gの鐵明礬を 50ccの濃鹽酸に溶解し水を以て 100ccに稀釋したるものを根本液とし此液 10ccを採り 25ccの濃鹽酸を加へ水を以て 250ccとなしたるものを基準鐵明礬液とす。此者の 3cc及び 3ccの 20% Rhodan-加里液を小なる分液漏斗に入れ、12ccの Etherを加へて靜かに混和しつつ赤色を浸出し下方の水層を排除し、Ether層を基準液として用ふ。此者は毎日新たに調製するを要す。此者は Azobilirubin の 200,000 倍稀釋(Bilirubin の一單位)に相當す。

Mc Nee(Quart. J. Med. 16, 390, 1923)は 2.161gの無水硫酸-Kobalt 又は 3.92gの  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  を蒸餾水に溶解し 100ccとなしたるものを基準液として用ひたり。此際は之を Van den Bergh の基準液に對し基準するを要す。

## 第 40 節 血液蛋白質の定量

**原理** 總蛋白質量は血清若くは血漿に就て微量-Kjeldahl法を行ひ直接 Nessler 化法により測定す。且非蛋白性窒素に向ひ適宜の補正を行ふ。纖維素原量は血漿に鹽化石灰を加へて纖維素原を沈澱せしめて得たる濾液内の蛋白質量を血漿蛋白質量より控除して得らる。Albumin は 37°にて 22.2%の硫酸曹達液を血清に加へて Globin を沈澱せしめ(Howeの法)て得たる濾液内の蛋白質を測定して知ることを得。Globulin は血清内總蛋白質量より Albumin 量を控除して之を知ることを得。

**實施 總蛋白質** 1ccの血清若くは血漿を 50ccの量瓶に入れ 0.9%食鹽を加へて標識まで充たしよく混和し其 1ccを用ひて後條消化の下に記載せる方法により其窒素量を測定すべし。

**纖維素原** 1ccの血漿を 50ccの量筒に入れ之に 48ccの 0.9%食鹽及び 1ccの 2.5%鹽化石灰を加へ、混和し 20分放置す。纖維素の塊より分離したる澄明なる血清の 1ccを採り之を消化せしむ。血清の分離困難なる時は硝子棒にて塊を碎き乾きたる濾紙を用ひて濾過すべし。

**Albumin** 1ccの血清若くは血漿を 50ccの量筒に入れ之に精確に 30ccの 37°に加温せられたる 22.2%硫酸曹達<sup>\*ii)</sup>を加へ、栓を施こして同温度に 3時間放置したる後緻密なる濾紙を通じて試験管内に濾過すべし。此の際漏斗は時計皿を以て蔽ふべし。濾液は清澄なるを要す若し濁濁を呈せば之を同じ濾紙を通じて反復濾過することを要す。此濾液 1ccを用ひて消化を行ふべし。

**消化** 第 31 節非蛋白窒素の條下に述べたると同様の 35cc及び 50ccに標識を有する硬質試験管に 1ccの上記各項指定の液を入れ之に 1ccの硫酸消化混合劑<sup>\*iii)</sup>を加へ、更に 2-3の磁器破片及び 1滴の Capryl-alcoholを加へたる後小燃子を用ひて凡ての水分が蒸散し、白煙發現する迄加熱し、管口に小漏斗を挿入し、火焰を小にし加熱を繼續し内容が炭化し管が白煙にて充たさるるまで至らば、約 30秒放冷せしめ注意して 1

滴宛 30% 過酸化水素を加へ液が透明なるまで加へ(滴数を記録し置くべし), 更に1分間加熱したる後放冷し, 水を加へて 35 cc に稀釋すべし. 他方には 50 cc の量筒に 5 cc の基準硫酸安門液<sup>\*)</sup> 及び 1 cc の硫酸消化混合剤を加へ, 水を以て 35 cc に稀釋すべし. 爰に於て基準液及び未知液の各々に 15 cc の Nessler の試薬を加へ比色計を用ゐて兩者を比較すべし.

**空測定** 過酸化水素に就て空測定を行ひ, 本測定に用ゐたる過酸化水素の量に従ひ補正を加ふるを要す. 1 cc の硫酸消化混合剤を硬質試験管中にて煮沸し之に精確に 30 滴の過酸化水素を點じ, 消化完結したる後稀釋し, Nessler 化し, 比色すべし. 之より 1 滴の過酸化水素の窒素當量を算出すべし.

**計算** 蛋白質量は測定したる窒素量に 6.25 を乗じて之を算出すべし. 過酸化水素中の窒素の補正を行ふには過酸化窒素の費消滴數(n)に 1 滴の窒素當量(E)を乗じたるものを總窒素量より控除するを要す. 今基準安門液の讀の高さを S, 未知液の讀の高さを A とし, 非蛋白質窒素を非蛋-N とすれば蛋白質の%量は

$$\text{蛋白質量}(\%) = \left[ \left( \frac{S}{A} \times 0.15 - n E \right) \frac{100}{V} - \text{非蛋-N} \right] \frac{6.25}{1000}$$

但し式中 V の價は總蛋白質の際には 0.02; 纖維素原濾液の蛋白質にては 0.02; Albumin にては  $0.0323 \left( = \frac{1}{31} \right)$  なり.

總蛋白質及び Albumin は直接に測定せらるるも纖維素原及び Globulin は次の式により間接に之を算出す.

纖維素原 = 總蛋白質 - 纖維素原濾液内蛋白質

Globulin = 總蛋白質 - Albumin - 纖維素原(血漿の場合)

注意: i) 37° の 22.2% 硫酸曹達. 22.2 g の無水硫酸曹達を 37° の蒸餾水を以て溶解し 100 cc 量瓶中に於て標識まで充たし混和すべし. 孵卵室にて作成するを便とす.

ii) 10 cc の 5% 硫酸銅液に 100 cc の濃硫酸を加へ, 此混合液を注意して 100 cc の蒸餾水に攪拌しつつ注加すべし.

iii) 基準硫酸安門液. 0.1414 g の硫酸安門を水に溶解し 1000 cc に稀釋すべし. 此液 5 cc は 0.15 mg N に相當す.

## 第 41 節 Hemoglobin の定量

### Newcomer の法<sup>1)</sup>

**原理** 血液を鹽酸にて稀釋し此際發生する酸性 Hematin の色彩を基準褐色硝子板と比色して Hemoglobin 量を測定す.

**實施** 毛細量管にて 20 mm の血液(貧血の度大なる時は 40 mm 又は夫以上の量を用ゆべし)を 5 cc の 0.1 N 鹽酸内に入れ, 量管を二回酸にて洗滌す. 40 分以上放置したる後之を比色計の右側比色杯に移す. 左側の比色杯には一部蒸餾水を入れ潜子を 15 mm の深さに水中に漬たし, 左側潜子の上端に Newcomer 板を置き兩色彩を匹敵せしむべし.

**計算** 計算に用ゐる表は Newcomer 板と共に製造者より供給せらるべし. 板が 1 mm の厚さを有する時は 0.038% の Hemoglobin 溶液に相當す. 従て

$$\frac{10}{\text{讀}} \times 0.038 \times \text{稀釋度} = 100 \text{ cc 血液中の Hemoglobin の g 數}$$

20 mm の血液を用ゐたる際には稀釋度は 250 と置くべし.

注意: i) Newcomer 板に附屬したる實係數を査證するには次の如くすべし. 血液の多量な蔭酸鹽にて凝固を防止しつつ採取し其酸素容能を Van Slyke の法にて測定し(第 46 節参照)之れより Haldane の數(1 Vol. % O<sub>2</sub> = 0.746 g Hemoglobin)により Hemoglobin 濃度を算出し, 血液を 0.1 N HCl を以て量瓶中にて稀釋し Hemoglobin(酸性 Hematin)濃度を 3% とすべし即若し血液の Hemoglobin が 15% なれば 20 cc を 0.1 N HCl にて 100 cc に稀釋し, 又 Hemoglobin が 14.2% なれば 21.1 cc  $\left( = \frac{20 \times 15}{14.2} \right)$  を 100 まで稀釋すべし. かくして作りたる 3% 溶液は之を氷室中に貯藏すれば 3 ヶ月の保存に堪ゆべし. 此の如き液 5 cc を 200 cc の 1 N HCl にて稀釋して右側比色筒に置き測定すべし.

1. J. Biol. Chem. 37, 465, 1919; 55, 569 1923

## 第42節 Cholin 及び Acetylcholin の微量比色定量法

Beattie 法<sup>1</sup>

**原理** Cholin 及 Acetylcholin を Reineck-酸鹽として沈澱せしめ氷冷水及び無水 Alcohol にてよく洗滌したる後之を Aceton に溶解し其時出現する赤色を比色して測定す。Cholin 及 Acetylcholin の1分子は Reineck 酸1分子と結合す、此方法を以て0.2 mg の鹽化 Cholin 及び0.32 mg の臭化-Acetylcholin を定量することを得。

Acetylcholin の Reineck-鹽は Cholin の Reineck-鹽よりも沈澱の發生遅く且低温ならざれば溶解し易きにより豫め1%の苛性曹達にて室温にて数分間處理したる後中和し Reineck 鹽を添加するを要す。

**實施** 約0.2—2 mg の鹽化-Cholin を含む溶液1 cc を採り之に1 cc の新鮮なる飽和 Reineck-酸安門を加ふる際發生する沈澱を石綿濾過器上に吸引收集し1回2 cc の氷冷水を以て、次で2回2 cc の無水 Alcohol にて洗滌す (Alcohol が薄桃色を呈せざる迄洗滌するを可す)、次に漏斗の下に試験管を置き、沈澱上に1 cc の Aceton を滌ぎて之を溶解せしめ、試験管内に吸引濾過し、尙少量の Aceton を加へて完全に沈澱を溶解せしむ、試験管の内容を盡く小なる量筒内に移し、Aceton を加へて一定量となし基準比色液と比色す、Aceton 溶液の量は Cholin の量が0.3 mg に過ぎざる時は1—2 cc を超えざる様にし、若し Cholin の量が2—3 mg なる時は10 cc となすべし。

**基準比色液の調製** Cholin の Reineck-酸鹽を Aceton に溶解したる時發生する赤色は褪色し易きを以て Methyl-赤を以て基準比色液を作るを可す。之には0.0134 g の Methyl-赤を5 cc の0.2 n NaOH に溶解し蒸餾水を以て500 cc に稀釋して根本液となす、用に臨み此根本液4 cc を取り之に10 cc の0.01 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加へ水を以て全量を100 cc となすべし、此色調は1 cc 中に鹽化 Cholin 0.26 mg (臭化-Acetylcholin 0.42 mg) 存するものに相

1. Bioch J. 30, 1554, 1936

當す、此稀薄色素液は數日、根本液は久しく貯藏に堪ゆ。

**Reineck-酸鹽 (SCN)<sub>2</sub>Cr(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·NH<sub>4</sub> の調製** 200 g の Rhodan 安門を磁製皿上にて強く Bunsen-燈にて加熱して熔融せしめ、之に少量宛 34 g の粉末重-Chrom-酸安門を加へ、絶えず硝子棒にて攪拌しつつ冷却せしめたる後、乳鉢内にて磨碎し150 cc の水にて溶解するものを取り去り、沈澱を400 cc の水に入れ、50° に温め、此温度を保ちつつ速かに吸引し、濾液を氷水にて冷却する時は Reineck-鹽速かに析出す、之を純化するには3回50° C の水より再結晶すべし、其收量は約15 g なり。

**計算** 基準比色液を20 mm の高さに置きたる時被檢液の高さが  $x$  なる時は

$$\frac{20}{x} \times 0.26 \times \text{使用したる浸出液の容量} = \text{鹽化 Cholin の mg 数}$$

### 第43節 血液内鹽化物の定量

#### Whitehorn の法<sup>1</sup>

**原理** 血液濾液より鹽化物を硝酸の存在にて一定量の硝酸銀を以て沈澱せしめ、銀の過剰を基準 Rhodan-鹽溶液にて鐵明礬を標示薬として滴定す。

**實施** 10 cc の Folin-Wu 濾液を磁製蒸發皿内に管量し之に量管を以て 5 cc の基準硝酸銀溶液 (M/35.46)<sup>\*i)</sup> を加へよく攪拌したる後更に約 5 cc の濃硝酸を加へよく混和し 5 分間之を放置して鹽化銀の析出を得しむべし。夫より混合物に約 0.3 g の粉末硫酸鐵安門を加へ溶液中に残存する過剰の硝酸銀を基準 Rhodan-液 (M/35.46)<sup>\*ii)</sup> にて滴定し少なくとも 15 秒間 Rhodan-鐵の鮮紅色の色が存続するを以て終反應とすべし。

**計算** 加へたる硝酸銀液の cc 數 5.00 より滴定に費消せられたる基準 Rhodan 液の cc 數を控除したるものは血液 (若くは血漿) 1 cc 中に存する Cl の mg 數を表はす。Cl 値を NaCl 値に改めんを欲せば之を 0.606 にて除すべし。

**注意:** i) **基準硝酸銀溶液** (1 cc = 1 mg Cl). 4.791 g の純硝酸銀を蒸留水に溶解し之を 1 l の量瓶中に移し、水を加へて標識まで充たし、よく混合したる後褐色の液中に貯藏すべし。此液 1 cc は 1 mg の Cl に相當す。

ii) **基準 Rhodan-液.** Rhodan 鹽は吸濕性に富むにより基準液を調製するには容量分析を以てすべし。即ち約 3 g の KCNS 又は 2.5 g の NH<sub>4</sub>CHS を 1 l の水に溶解し、上項實施の條に記したる方法に遵ひ滴定し適當に稀釋して其 5 cc が基準硝酸銀液と當量となる如くすべし。

iii) 鹽化物の定量には普通血漿を用ゆること多し。

#### Van Slyke の法<sup>2</sup>

**原理** 血液を一定量の硝酸銀を含有する濃硝酸と共に加熱して蛋白質は之を破壊し、鹽化物は之を鹽化銀に導きて沈澱せしめ、残留したる過剰

1. J. Biol. Chem. 45, 449, 1921. 2. J. Biol. Chem. 58, 523, 1923

の銀を Rhodan-鹽にて Whitehorn の法の如く滴定するなり。此法は組織にも之を應用するこゝを得。

**實施** 1 cc の血液 (血清又は血漿) を 100 cc の硬質試験管に入れ之に 3 cc の 0.05 N 硝酸銀溶液<sup>\*i)</sup> (濃硝酸にて作りたるもの) を加へ、管口を時計皿にて蔽ひつつ水浴上に加熱して鹽化銀沈澱上の溶液が澄明にして稍々黄色を呈するに至らしめ (此操作により蛋白質は分解せられ鹽化物は沈澱す) たる後之に 6 cc の 5% 鐵明礬を加へ、混合物を冷却せしめ、其中に存する過剰の硝酸銀を 0.02 N Rhodan-液にて滴定すべし。Rhodan 液の消費量よりは補正して 0.04 cc を控除すべし。之れ該反應を認むるに必要な Rhodan の過剰量なり。

**計算** 
$$\frac{1.170 (7.50 - \text{消費 Rhodan 鹽の cc})}{\text{血液の cc}} = 1 l \text{ 血液中の NaCl の g 數}$$

**注意:** i) **0.05 N 硝酸銀溶液の調製.** 8.495 g の熔融硝酸銀を極少量の水に溶解し濃硝酸 (比重 1.4) を以て 1 l とすべし。精確に基準せんと欲せば純銀 5.394 g を硝酸に溶解し更に硝酸を加へて全量を 1 l とすべし。

ii) **對照滴定法** として 3 cc の 0.05 N 硝酸銀溶液 (硝酸にて作りたるもの) に 6 cc の鐵明礬を加へたるものを直接に 0.02 N Rhodan 鹽溶液にて滴定すべし。若し此際滴定値が 7.50 ならざる時は本測定の計算式に於て Rhodan 鹽消費 cc

數に  $\frac{7.50}{\text{對照滴定時 Rhodan 鹽 cc 數}}$  なる係數を乘すべし。

## 第44節 血液燐各劃分の定量

Youngburg の法<sup>1</sup>

**原理** 無機燐及び總酸溶性燐の測定には Trichlor-醋酸にて蛋白質を除去したる濾液を用ひ、脂質燐の測定には Alcohol-Ether 浸出液を用ふ、總酸溶性燐、脂質燐及び總燐の定量には有機物を硫酸及び30%過酸化水素にて消化す、かくして得たる燐酸鹽溶液を Molybden-硫酸試薬にて處理して燐-Molybden-酸鹽をなし、之に第一鹽化錫を加へて還元したる際發生する青色を比色して定量す。

## A 無機燐酸鹽(酸溶性)の定量

**實施** 試験管内に4ccの10% Trichlor-醋酸<sup>vi)</sup>を入れ之に振盪しつつ1ccの血漿若くは血清を加へ、よく混合し、無灰(無燐)濾紙を通し濾過す、濾液の2ccを試験管に移し、又他の試験管に2ccの基準燐酸鹽溶液<sup>ii)</sup>(0.02 mg P)を入れ、各管に5ccの水、2ccの Molybden-硫酸試薬 A<sup>iii)</sup>を加へ、且直ちに1ccの稀薄第一鹽化錫溶液<sup>iv)</sup>を量管より吹き入れ、混合し、1分間に比色計を用ひて計較すべし。

**計算** 被験液を20mmの高さに置き探讀したる基準液の高さを4にて除したるものは100ccの血漿(若くは血清)中のPのmg量を表はす。

## B 總酸溶性燐の定量法

**實施** 10ccの處に標識を有する硬質試験管に2ccの Trichlor-醋酸濾液を入れ、之に0.5ccの10N硫酸<sup>v)</sup>及び石英の小片を入れ、管を斜に把持せしめつつ小焰上(電熱板を用ふるもよし)に加熱し水分全く蒸發し内容が褐變したる頃、管を外づし、放冷せしめ、之に30%過酸化水素<sup>vi)</sup>1滴を加へたる後、再び試験管を加熱す。内容全く酸化せらるるまで過酸化水素の添加を反復す。夫より2ccの水を加へ、加熱煮沸して Meta-燐酸及び焦性燐酸を Ortho-燐酸に導きたる後、約4ccの水及び2ccの Molybden-硫酸試薬 Bを加ふ、他の試験管に2ccの燐酸鹽基準液(=0.02 mg P)、約4ccの水及び2ccの Molybden-硫酸試薬 Aを入る。各管に1ccの稀薄第

1. Youngburg 及 Youngburg: J. Lab. Clin. med. 16, 158, 1930.

一鹽化錫溶液を加へ、水を以て標識まで充たし、速かに混和し、1分後に比色計にて計較すべし。

**計算** は上記無機燐の場合と同じ、

## C 燐脂質燐の定量 (204頁を見よ)

## D 總燐の定量

**實施** 1ccの血漿又は血清に0.9%食鹽水を加へて20ccをなし、上記總酸溶性燐の條下に述べたる如く處理し唯水分を蒸發せしめたる後10N硫酸を加ふべし、泡沫の發生は尖端を引延ばしたる硝子管を通じて壓搾空氣を内容中に吹込みて之を防止するこゝを得べし。

**計算** 被験液を20mmの高さに置き、基準液の高さを探讀する時は直ちに100cc血漿(若くは血清)中の總燐のmg数を得。

**注意:** i) 10% Trichlor-醋酸. 此試薬は純粹なるを要す。然らざれば時として色彩の發現著しく遲延することあり。且つ多くは少量の燐酸を含有するを以て之を低壓下に蒸餾して純化すべし。

ii) 基準燐酸鹽液 0.4383gの純一加里燐酸鹽を水に溶解し1lとなす。此根本液10cc中には1mgのPを含有す。數滴の Chloroform を添加し微の發生を妨ぐべし。此根本液10ccを100ccに稀釋する時は1cc中に0.01mgのPを含有する液を得べし。

## iii) Molybden-硫酸試薬

A) 50ccの7.5% Molybden-酸曹達(無燐)及び50ccの10N硫酸を混じたるもの。

B) 50ccの7.5% Molybden-酸曹達(無燐)、25ccの水及び25ccの10N硫酸を混じたるもの。

iv) 第一鹽化錫溶液. 根本液として10gの純第一鹽化錫を25ccの濃鹽酸に溶解し褐色の共口瓶に貯ふべし。此根本液1ccを水を以て200ccに稀釋して使用する。此稀薄試薬は5日間の使用に堪ゆ。

v) 10N硫酸 450ccの濃硫酸を1200ccの水に混和し、此溶液を滴定し10Nとなるまで稀釋すべし。

vi) 30%過酸化水素 Merck の Superoxol(青帶, 0.0005% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)を宜しとす。50g入を購入し水室内に貯藏すべし。

## 第45節 硫酸鹽の定量

Wakefield の法<sup>1</sup>

**原理** 硫酸を Benzidin と結合沈澱せしめ、此 Benzidin を過酸化水素及鹽化鐵にて酸化したる後比色す、此法は尿及び他の體液にも之を應用するこゝを得。

**實施** 3 cc の血清を 15 cc の廻轉沈澱管に入れ、之に 3 cc の硫酸鹽を含有せざる蒸留水、3 cc の 20% 三鹽化醋酸<sup>\*i)</sup> 及水を加へて全量を 15 cc とし、混和し、5 分間廻轉沈澱す、上清液 5 cc を豫め 10 cc の Benzidin 滴溶液<sup>\*ii)</sup> を入れたる廻轉沈澱管に加へ、施栓し、30 分以上放置したる後 3000 廻轉の速度を以て 30 分間廻轉沈澱せしむ、次で上清液を傾瀉せしめ、管を乾燥したる濾紙上に 3 分間倒置したる後管口を拭ひ、15 cc の純 Aceton<sup>\*iii)</sup> を加へ、尖銳硝子棒を用ひて沈澱を掻き、施栓し、3000 廻轉の速度にて 15 分間廻轉沈澱し、Aceton を傾瀉し、管を倒置し、濾紙上に 5 分間放置す。濾紙にて管口を拭ひ、2 cc の 0.2 N HCl を加ふ、沈澱若し振盪のみにより溶解せざる時は之を靜かに加熱して溶解せしむべし、加熱したる際は流水下にて之を冷却せしめ、6 cc の水、1 cc の稀薄過酸化水素<sup>\*iv)</sup> 及 1 cc の鹽化鐵溶液<sup>\*v)</sup> を加へ、混和し 5 分間放置する時は色彩完全に發現するを以て夫より 5 分以内に之を比色すべし、若し此時間内にて採讀し得ざる時は濃 HCl を基準液及未知液の兩者に加へ色の消褪するを妨ぐべし。基準液<sup>\*vi)</sup> は同時に調製するを要す。且つ酸性度は基準液及び未知液共に同一なるこゝを必要とするが故に若し 1 cc の基準液を用ふる時は之に 1 cc の 0.2 N HCl を加へ全量を 2 cc とすべし、血清若し多量の硫酸鹽を含有する時は、1:5 以上に稀釋するこゝを要するこゝあり、廻轉沈澱管の尖端は圓錐狀を爲すを要す。全硫酸鹽は濾液の 5 cc を 2 滴の濃鹽酸と共に煮沸水溶内に 15 分間加熱し、放冷したる後上記の如くして測定するこゝを得。

$$\text{計算} \quad \frac{\text{基準液採讀値}}{\text{未知液採讀値}} \times \frac{\text{SO}_4 \text{ 當量}}{3} \times \frac{100}{1} = 100 \text{cc 血清中の mg S 量}$$

1. J. Biol. Chem. 81, 713, 1929.

- 注意:** i) 三鹽化醋酸 減壓の下に 2 回蒸留すべし第 1 回蒸留の際には熔融したる酸に 5 cc の 0.5% Benzidin 滴液を添加すべし。  
 ii) Benzidin 滴液 0.5% の割に Aceton に溶解せしむ、黄色發生するに至らば拋棄すべし。  
 iii) 純 Aceton. 必要あらば再蒸留を施すべし。  
 iv) 稀薄過酸化水素 市販品を蒸留水にて 5 倍に稀釋したるもの。  
 v) 鹽化鐵溶液 蒸留水を以て 0.5% 溶液となしたるもの、毎週之を新たに調製すべし。  
 vi) 基準鹽化-Benzidin 液. 2.0071 g の鹽化 Benzidin を 500 cc の 0.2 N HCl に溶解したるものを根本液とす。此液 1 cc は 1.5 mg SO<sub>4</sub> に相當す。基準液を調製するには此液を 0.2 N HCl にて 0.15, 0.03 及 0.015 mg SO<sub>4</sub> 當量に相當する様稀釋すべし。  
 vii) 硫酸鹽を含有せざる蒸留水 測定に用ふる硝子器はよく清淨にし、蒸留水にて數回潄ぎ、最後に硫酸鹽を含有せざる水にて洗滌すべし。

### 第46節 血清内 Calcium の定量

#### Clark-Collip の改良したる Kramer-Tisdall の法<sup>1</sup>

**原理** Calcium を血清内より直接に蓚酸鹽として沈澱せしめ此蓚酸を過-Mangan-酸加里にて滴定す。

**實施** 2 cc の清澄なる血清, 2 cc の蒸餾水及 1 cc の 4% 蓚酸安門液を目盛りを施された 15 cc の廻轉沈澱管<sup>\*)</sup> 中にて十分に混和し 30 分以上放置したる後完全に廻轉沈澱せしめ, 上清を注意して傾瀉し, 管を棚架に倒懸したるまま 5 分間管口より濾紙を傳はりて排水せしめ, 管口を乾きたる布にて拭ふ。次に沈澱を攪拌し管側を 3 cc の稀薄安門水 (2 cc の濃安門を 98 cc の水に混じたるもの) を洗滌罐より細條灌流せしめて洗滌す。浮游液を廻轉沈澱し前同様に排水したる後 2 cc の定規硫酸を加ふ, 酸は量管より直接に沈澱上に吹下し溶解を容易ならしむべし。管及び内容を煮沸水浴内に約 1 分間加熱し其中に存する蓚酸を 0.01 N 過-Mangan-酸加里<sup>\*)</sup> にて小滴管を用ゐて滴定すべし。滴定は 70-75° の温度を有する水浴内にて之を行ふを可とす。

**計算** 1 cc の 0.01 N  $\text{KMnO}_4$  は 0.2 mg Ca に相當す。故に 100 cc 血清中に存する Ca の mg 数は A を滴定に要したる過-Mangan-酸鹽の cc 数とすれば  $\frac{100 \times 0.2 \times A}{2}$  即 10 A に當る。

注意: i) 管の外圍直径は 1.0 cc 標識の處に於て 6-7 mm なるべし。管は常に 1500 cc の濃硫酸と 200 g の重-Chrom-酸曹達を 100 cc の水に溶解したるものを混じて作りたる清淨劑内に數分間約 100° に熱して十分に清淨に置くべし。

ii) 0.01 N  $\text{KMnO}_4$ , 0.4 g の純過-Mangan-酸加里を充分清淨にしたる Florence 瓶内にて 1 l の再製蒸餾水に溶解し, 瓶口に漏斗を挿入し漏斗は之を時計皿にて蔽ひ (冷却器の役を營ましむ) 數時間沸煮に近き温度にて加熱すべし。冷却し翌日まで放置したる後灼熱したる石綿を布ける 3 inch の Büchner の漏斗にて軽く吸引し, 全く清淨なる共口罐に入れ暗處に之を貯ふべし。かくして作りたるものも亦 0.1 N 溶液より 10 倍に稀釋して作成したるものも過-Mangan-酸加里溶液は調製の直後には分解著しく數日の後漸く測定値を示すに過ぎざるを以て

1. J. Biol. Chem. 63, 461, 1925

使用前には必ず之を基準すべし。

0.01 N 過-Mangan-酸加里は 0.01 N 蓚酸曹達 (數ヶ月の貯蔵に堪ゆ) に對し之を基準すべし。蓚酸曹達液の調製には最純蓚酸曹達を 100-105° の乾燥器内にて 12 時間乾燥し, 冷却後共 0.67 g を再精蒸餾水に溶解し, 5 cc の濃  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を加へ水を以て 1 l に稀釋し良く混和すべし。過-Mangan-酸加里液の基準を行ふには此蓚酸溶液の 25 cc を 100 cc の Erlenmyer 瓶に移し, 1 cc の濃  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を加へ約 70° に加熱し過-Mangan-酸鹽溶液を用ゐて滴定す。過-Mangan-酸溶液は調製後數日を経過したる頃は 1 週日の間に僅かに 0.1% の破壊を受くるに過ぎざるも屢々再基準を行ふを可とす。

#### Roe 及 Kahn の法<sup>1</sup>

**原理** Calcium を三-Calcium-磷酸鹽として沈澱せしめ其沈澱中の磷酸を比色的に定量する法なり。

**實施** Erlenmeyer 瓶若くは試験管内に於て 4 容量の 10% 三鹽化醋酸に 1 容量の血清を加へ, よく振盪して混和し, Ca を含有せざる濾紙を用ひて濾過す。濾液の 5 cc を 15 cc の標識を有する圓錐狀廻轉沈澱管に移し, 1 cc の 25% NaOH (Ca を含まざるもの) を加へ 5 分間放置したる後 1 cc の 5% 三-Natrium-磷酸鹽を添加し, 捻轉して内容をよく混和し 1 時間放置す。夫より 2 分間廻轉沈澱し, 上清を傾瀉し, 管を清淨 Gaze 又は濾紙を布きたる小樽杯内に倒置し, 2 分間排液し, 管口を淨布にて拭ひ, 尖銳球狀量管を以て 5 cc の滴性 Alcohol 洗滌液<sup>\*)</sup> を勢よく吹入れ三-Calcium-磷酸鹽の層を破壊せしめ次で管壁を流落し, 必要あらば攪拌棒にて沈澱をよく搦く, 夫より 2 分間廻轉沈澱し, 洗滌液を傾瀉し, 前の如く排液し, 管口を拭ひたる後 3 cc の Molybden-硫酸試藥 A を加へ掌上に敲きつつ磷酸石灰を完全に溶解せしめ, 次で 10 cc 蒸餾水を量管より勢よく添加して管の内容をよく混和せしむ, 他方には同様の標識を有する試験管に 10 cc の基準磷酸鹽液<sup>\*)</sup> (0.1 mg Ca に相當するもの) 及び 3 cc の Molybden-硫酸試藥 A を加ふ, 各管に 1.5 cc の稀薄第一鹽化錫溶液を加へ, 速かに混和す。1 分後に比色計にて計較すべし。

**計算** 未知液を 10 cc の高さに固定し之に對して基準液を採讀する時は

1. J. Biol. Chem. 81, 1, 1929.

100 cc 血清中に於ける Ca の mg 数を得。

注意: i) 濁性 Alcohol 洗滌試薬 58 cc の Alcohol (10% の Amyl alcohol を含有するもの) に水を加へて 100 cc とし、之に 2 滴の 1% Phenolphthalein 及 5% NaOH (Ca を含有せざるもの) を滴下し桃色の發生するに至らしむべし (通常 2-3 滴の NaOH 液にて可なり)。

ii) 基準磷酸鹽液 根本液として 1 cc が 1 mg Ca に相當するものを作る。2.265 g の純一加里磷酸鹽を 1 l の蒸留水に溶解したるもの、Chloroform を加へ貯ふべし。基準液としては此根本液 10 cc を水にて 1 l に稀釋して用ふ共 10 cc は 0.1 mg の Ca に相當す。

## 希臘文字

字	體	發	音	相	當	字	體	發	音	相	當
				英	字					英	字
A	α	Alpha	a			N	ν	Nu	n		
B	β	Beta	b			Ξ	ξ	Xi	x		
Γ	γ	Gamma	g			Ο	ο	Omicron	ō		
Δ	δ	Delta	d			Π	π	Pi	p		
E	ε	Epsilon	ē			Ρ	ρ	Rho	r		
Z	ζ	Zeta	z			Σ	σ	Sigma	s		
H	η	Eta	ē			Τ	τ	Tau	t		
Θ	θ	Theta	th			Υ	υ	Upsilon	u		
I	ι	Iota	i			Φ	φ	Phi	ph		
K	κ	Kappa	k			Χ	χ	Chi	ch		
Λ	λ	Lamda	l			Ψ	ψ	Psi	ps		
M	μ	Mu	m			Ω	ω	Omega	ō		

## 第 47 節 血清 Magnesium, の定量

Denis の法<sup>1</sup>

原理 血清より Calcium を磷酸鹽として除去したる後 Magnesium を磷酸-Magnesium-安門として沈澱せしめ此磷酸を比色法により測定す。

實施 2 cc の血清より Calcium を第 46 節の方法により沈澱せしめ之を廻轉沈澱したる後其上清液 3 cc を 15 cc の廻轉沈澱管に管量し之に攪拌しつつ 0.5 cc の 5% 磷酸安門 (1 l 毎に 5 cc の濃安門溶液を含有するもの) を加へ翌朝迄放置す。廻轉沈澱し、上清を管吸引し、管を濃安門 (比重 0.9) 1 分及水 2 分の混合液 5 cc にて洗滌し、更に廻轉沈澱及管吸引を行ふ。此の如き洗滌法を尙 2 回反復したる後終りに 5 cc の 75% Alcohol (其 1 l に 10 cc の濃安門を含有するもの) にて洗滌し、管吸引後温處に放置して安門を揮發せしむ。

かくして得たる磷酸-Magnesium-安門の沈澱を 5 cc の 0.1 N HCl に溶解し尙 5 cc の酸を用ゐて悉く之を 25 cc の量瓶に移す。他の 25 cc の量瓶には 10 cc の基準磷酸-Magnesium-安門<sup>1)</sup> (其 10 cc 中に 0.02 mg Mg を含有す、0.1 N HCl にて調製せらる) を入る。各量瓶に 2 cc の 2.5% Molybden-酸安門液及 1 cc の 0.25 Aminonaphtholsulfon-酸溶液 (注意して純化せしもの) を加へ、水を以て標識まで充たし混和し、5 分間放置したる後比色す。

計算 2 cc の血清より得たる上清 5 cc 中より其 3 cc を用ゆる時は 1.2 cc の血清中の Mg を定量するこゝなる。且つ基準磷酸鹽溶液は 0.2 mg の Mg を含有するにより 100 cc の血清中には

$$\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times 0.02 \times \frac{100}{1.2}$$

の Magnesium を含有するこゝなる。

注意: i) 基準磷酸-Magnesium-安門。0.202 g の  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  を 100 cc 0.1 N HCl に溶解し更に 0.1 N HCl にて 10 倍に稀釋す。

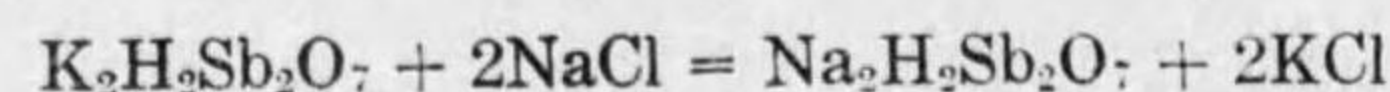
<sup>1</sup> J. Biol Chem, 52, 411, 1922



## 第48節 血清内 Natrium 及 Kalium の定量

Natrium の定量 (Kramer 及 Gittleman の法<sup>1)</sup>)

**原理** Natrium を焦性 Antimon-酸鹽として沈澱せしめ此中に存する Antimon を沃度法により滴定す。



**實施** 2 cc の血清 (又は同量の血清より得たる灰分) を 2 cc の 1 N HCl に溶解し之に 4 滴の 1.8 N KOH (Alcohol-洗滌) を加へ適性としたるものを 50 cc の硬質硝子製廻轉沈澱管 (Paraffin の薄層を塗布せしむれば更に可なり) に入れ之に 10 cc の焦性 Antimon-酸鹽試薬<sup>\*)</sup> 及 3 cc の 95% Alcohol (KOH の上に於て再餾すべし) を Gom 帽硝子桿にて攪拌しつつ滴下し、Kork にて栓を施し 30 分間放置したる後 5 分間廻轉沈澱すべし。次で内容約 2 cc を残して上清を除去し 30% Alcohol 10 cc を加へ混和し再び廻轉沈澱し上清を適當なる量管及 Gom 球を用て可及的完全に除去すべし。

沈澱に 5 cc の 10 N HCl (濃鹽酸なり比重 1.182 を有す) を加へ硝子桿にてよく攪拌して溶解を助け、内容を 250 cc の硬質製橋杯 (丈高きもの) に約 10 cc を超過せざる蒸餾水を以て移し攪拌し、全く溶解せしめたる後、之に 2 cc の 20% KCl 液を加へ直ちに 0.1 N Thio-硫酸曹達にて滴定すべし此際 0.02 cc に割度せられたる滴管を使用するを便す。Thio-硫酸鹽は液を常に攪拌しつつ迅速に加へ褐色が殆んき褪色するに至らしめ、次に 0.5 cc の 1% 新鮮澱粉溶液を加へたる後更に Thio-硫酸鹽にて滴定し溶液が全く脱色するに至らしむべし。滴定の終期に於ては Thio-硫酸滴下速度を減じ且つよく攪拌するを要す。

**計算** Antimon にて遊離せらるる沃度の等量は Natrium の 0.5 等量に相等す。従て 1 cc の N Thio-硫酸鹽は  $\frac{2.3}{2} = 1.15$  mg Na に當る。故に滴定に費消したる Thio-硫酸鹽液量に  $1.15 \times \frac{100}{2}$  を乗じたるものは血清

1. J. Biol. Chem. 62, 353, 1924

100 cc 内の Na の mg 数を表はすべし。

**注意:** i) 焦性 Antimon-酸加里試薬。500 cc の蒸餾水を硬質硝瓶子にて煮沸せしめ約 10 g の焦性 Antimon-酸鹽を加へたる後更に 3-5 分間煮沸を繼續し、次で直ちに之を流水下に冷却して常溫に復したる時之に 15 cc の 10% KOH<sup>\*)</sup> (Alcohol 洗滌) を加ふべし。斯くして調製したる試薬は之を Paraffin を内面に塗布したる瓶の中に無灰濾紙を用て濾過し貯ふることを要す。屢々溶解せざる焦性 Antimon-酸加里が濾紙を通じ濾過することあるを以て此際は 24 時間放置し悉く之を器底に沈降せしめたる後上清を用べし。試薬は常溫上に於て少なくとも約 1 月の貯藏に堪ゆ。試薬の 10 cc は 11 mg の Natrium を沈澱せしむることを得。10 cc の試薬を白金皿に入れ之に 2 cc の蒸餾水及 3 cc の 95% Alcohol を加ふる際沈澱を發生すべからず。

ii) 10% KOH Paraffin 塗布瓶の中に貯へ置くべし。

Kalium の定量 (Breh 及 Gaebler の法<sup>1)</sup>)

**原理** Wolfram-酸濾液より鹽化物を除去したる後 Kalium を第二 Kobalt-亞硝酸加里銀鹽として沈澱せしめ之を Diazo-化して比色す。

**實施** 1 cc の血清を 15 cc の廻轉沈澱管に入れ、之に 7.5 cc の水及び 0.5 cc の 10% Wolfram-酸曹達溶液を加へ混和し、更に 0.5 cc の  $\frac{2}{3}$  N 硫酸を加へ、施栓しよく振盪す。15 分の後強く廻轉沈澱せしむ、小なる無灰濾紙を通じて濾過し濾液の 5 cc を 15 cc の標識を有する圓錐狀硬質廻轉沈澱管<sup>\*)</sup> に入れ、他方には同様なる管に 5 cc の基準硫酸加里液<sup>\*\*)</sup> を入れ火焰中を數回通過せしめて手に對し温かく感ずる程度に加温す<sup>\*\*\*)</sup>。各管に 2 cc の加里試薬<sup>iv)</sup> を加へ、2 時間後に 1200 廻轉の速度にて 15 分間廻轉沈澱せしめ、反轉尖端を有する毛細管を通じて上清を 0.3 cc の標識まで吸引除去し、5 cc の蒸餾水を以て 3-4 回洗滌し、此際常に 5 分間の廻轉沈澱せしめ 0.3 cc 標識までの吸引洗滌を反復す。洗滌に際し管を廻轉して水と沈澱をよく混和せしむ、最後の洗滌液は最早黄色を帯ぶべからず、夫より各管に 5 cc の 0.2 N 苛性曹達を加へ加熱して煮沸せしめたる後 50 cc の量瓶中に濾過し、洗滌水を以て標識まで充たすべし。更に此液 5 cc を 50 cc の量

1. J. Biol. Chem. 87, 81, 1930.

瓶中に移し10%醋酸を以て約20 ccに稀釋し、2 ccの Sulphanil-酸溶液及び1 ccの  $\alpha$ -Naphthylamin 溶液を加へ良く振盪したる後10%醋酸を以て標識まで満たし數回反轉して混和せしめ、10分後に比色計を以て計較すべし。

**計算** 未知液を20mmの高に固定し之に對して基準液の高を採讀する時は100 cc血清中の加里の mg 數を得。

**注意:** i) 硝子管は凡て使用の直前に重-Chrom-酸加里硫酸混合を以て清淨にし、蒸留水を以て滌き安門鹽の混入を避くべし。之れ安門も亦第二-Kobalt-亞硝酸鹽と不溶解鹽を作成するが爲なり。

ii) **基準硫酸加里液** 根本液として0.4457 gの純硫酸加里を蒸留水に溶解し100 ccとなすべし。基準液としては根本液5 ccを水を以て500 ccに稀釋したるものを用ふ。此もの5 cc中には0.1 mgのKを含有す。

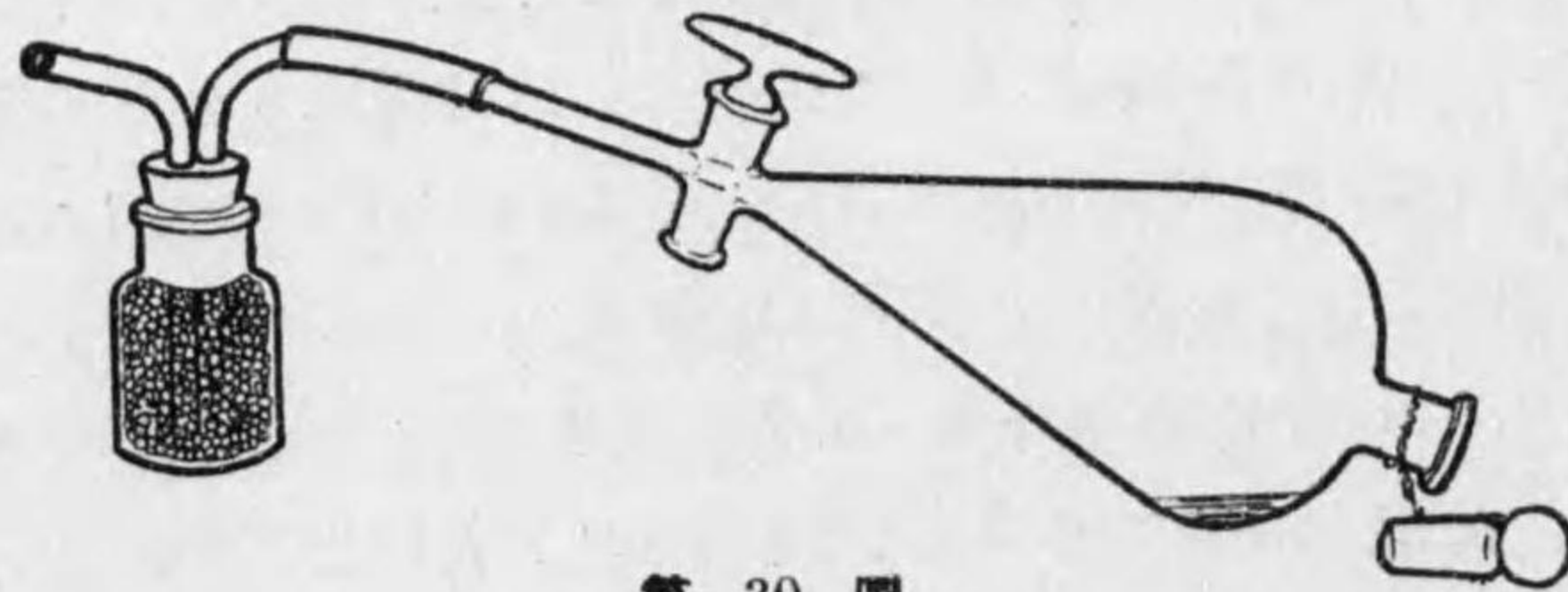
iii) 濃厚なる寒冷加里鹽溶液は微細なる黄色沈澱を發生し管壁に附着する難あり。

iv) **加里試薬** 先づ亞硝酸曹達第二-Kobalt 鹽を作成す。A液: 25 gの硝酸-Kobalt の結晶を50 ccの水に溶解し此溶液に12.5 ccの水醋酸を加ふ。

B液: 120 gの亞硝酸曹達(加里を含むべからず)を180 ccの水に溶解す(此時混合物は約220 ccの容積を占むべし)。

A液の全量にB液の210 ccを加ふる時は直ちに酸化窒素瓦斯發生するを以て空氣を送りて總ての瓦斯を逸出せしめたる後氷室に貯ふべし。試薬は使用に先ちて毎回濾過するを要す。少なくとも1ヶ月の保存に堪ゆべし。

此亞硝酸曹達第二-Kobalt-鹽の20 ccに2 ccの40%硝酸銀を加へ強く振盪し濾過すべし。



第 30 圖

## 第49節 血液内鐵の定量

### Wong の法<sup>1</sup>

**原理** 過硫酸加里の存在に於て硫酸によりて Hemoglobin より鐵を分離せしめ、次で Wolfram-酸を以て蛋白質を除去したる後、濾液中の鐵を Rhodan 反應によりて比色定量す。

**實施** 精確に0.5 ccの血液を50 ccの量瓶に入れ、2 ccの濃硫酸(鐵を含まざるもの)を加へ1—2分間捻轉混和したる後2 ccの飽和過硫酸加里溶液<sup>\*)</sup>を添加し、混合し、蒸留水を以て約25 ccとなす。更に之に2 ccの10% Wolfram-酸曹達液を加へ混和し、流水下に冷却して室溫に至りたる時蒸留水を加へて標識まで満たし、施栓し、反轉混合し、乾燥したる濾過を通して25 ccの度盛せる圓筒内に20 ccを移す、他の同様なる圓筒中に1 ccの基準鐵溶液<sup>\*\*) (0.1 mg Fe) を入れ之に0.8 ccの濃硫酸(鐵を含まざるもの)を加へ、水を以て20 ccとなし冷却して、室溫に至らしむ、未知液及基準液の各々に1 ccの飽和過硫酸加里及び4 ccの3 N Rhodan-加里溶液<sup>\*\*\*)</sup>を加へ、施栓し、混合し、比色計を用ひて計較す。</sup>

**計算** 未知液を25 mmの高さに固定し之に對して採讀せる基準液の高さに2を乗する時は100 cc血液中の鐵の mg 數を得、Hemoglobin は0.0335%の鐵を含有するが故に100 cc中のFeの mg 數を3.35にて除する時は100 cc中のHemoglobinのg數を得。

**注意:** i) **飽和過硫酸加里** 共口瓶内に於て7 gの純過硫酸加里に100 ccの蒸留水を加へ貯ふべし。過剰の不溶解分は沈降し、過硫酸加里分解するに際し溶解して之を補ふ。

ii) **基準鐵溶液** 0.7 gの硫酸第一鐵安門(重量恒定に至るまで乾燥したるもの)を100 ccの蒸留水に溶解し、5 ccの濃硫酸を加へ少しく加温し、KMnO<sub>4</sub>を加へて完全に酸化せしむ。1 lに稀釋す。1 cc中に0.1 mgのFeを含有す。

iii) **3 N Rhodan-加里** 146 gの純 Rhodan-加里を蒸留水に溶解し500 ccに稀釋したるもの。必要あらば之を濾過すべし。20 ccの純 Aceton を加ふる時は久しく貯ふることを得。

1. J. Biol. Chem. 77, 409, 1928.

Coombs の法<sup>1</sup>

**原理** 血液を硫酸及び硝酸にて酸化し硝酸の過剰を煮沸により驅除したる後之に Dipyrldyl 試薬、葡萄糖及び硝酸曹達を加へ加熱する時に發生する色彩を比色して定量す。

**實施** 0.1 cc の血液を 150 mm × 10—12 mm 硬質試験管 (10 cc の處に標識を有するもの) に採り、量管を少量の水にて洗ひ、之に 0.2 cc の 50% 硫酸<sup>\*i</sup> 及び 10 滴の濃硝酸<sup>\*ii</sup> を加へ、注意して絶えず振盪しつつ小焰子にて加熱し炭化し初むる時放冷し更に硝酸を加へ、此操作を繰返し最早炭化せざるに至らしむ、夫より過剰の硝酸を煮沸驅除す、此時殘液中には少量の無水硫酸第二鐵の白色沈澱存在するこあるべきにより約 0.5 cc の水を加へ温めて此沈澱を溶解したる後、3 cc の Dipyrldyl 試薬<sup>\*iii</sup> 及 1 cc の葡萄糖 1 液<sup>\*iv</sup> を加へ、よく振盪して溶解せしめ、更に 5 cc の醋酸曹達液<sup>\*v</sup> を加へ、煮沸水浴上にて 5 分間加熱して充分に色彩を發揮せしむ、次で放冷し蒸餾水を以て 10 cc に充たし、基準比色液と比色す。

基準比色液には血液の代りに 0.1 cc の基準鐵溶液<sup>\*vi</sup> (又は基準鐵溶液を 10 倍に稀釋したるもの) を用ゐて本試験と同様に處理したるものを用ゆ。

**計算** 基準比色液を 25 mm の高さとするをよしとす。被檢液の採讀値を U、基準比色液の高さを S とする時は

$$\frac{S \times 50}{U} = \text{血液 100 cc 中の鐵の mg 量}$$

注意: i) 50% 硫酸 濃硫酸に 2 倍容量の蒸餾水を加へて作る。使用する硫酸量は少量なるにより純良の市販品なれば蒸餾して用ゆる要なし。

ii) 濃硝酸 硝酸の使用量は硫酸よりも大なるにより蒸餾したるものを用ゆべし。

iii) Dipyrldyl 試薬 0.468 g の Dipyrldyl を 6 cc の N 鹽酸に溶解し蒸餾水を以て全量を 100 cc とす。

iv) 25% 葡萄糖液 多くの葡萄糖は鐵を含有せざるにより之を用ひて 25% 溶液

1. Bioch. J. 30, 1938, 1936

を調製すべし。

v) 40% 醋酸曹達液 醋酸曹達より再結晶により鐵を除去し、此の如き醋酸曹達  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  の 40% 溶液を調製すべし。

vi) 基準鐵溶液 0.350 g の第一鐵硫酸安門を數滴の硫酸を含む蒸餾水に溶解し水を以て全量を 100 cc としたるもの、此溶液は 100 cc 中に 50 mg の鐵を含有す。

## 第4-1節 銅の定量

Elvehjem 及 Lindow の改良したる Biazzo の法<sup>1</sup>

**原理** 銅を Rhodan-加里及び Pyridin と共に緑色の沈澱  $\text{Cu}(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2(\text{CNS})_2$  として析出せしめ、之を Chloroform に溶解し比色法により定量す。

**實施** 5-10 g の組織を電氣爐内にて暗赤色の温度に於て灰化し<sup>\*)</sup> 炭素を全く破壊したる後灰を 15 cc の鹽酸<sup>\*\*)</sup> (1:1) に採り砂浴上に蒸發乾固して硅酸を不溶解の状態に導き、残渣を 5 cc の N. HCl にて濕ほし次で 5 cc の水を添加す。混合物を砂浴上にて半時間加温し、濾過し、残渣を液量約 100 cc となるまで完全に洗ひ全液を蒸發して約 10 cc となし、冷却し、之を 25 cc の量瓶に移す。之に N NaOH を加へて Phenolphthalein に對して鹼性を呈するに至らしめたる後、1 cc の氷醋酸、1 cc の KCNS、10 滴の Pyridin 及び 5 cc の Chloroform (精確に採量す) を加へ水を以て標識まで充たし、よく振盪し、放置す。水層の大部を去り、残りの水及び Chloroform を比色計の杯中に移し、同様に處理せられたる基準銅溶液<sup>\*\*\*)</sup> と比較す。

**計算** 
$$\frac{\text{基準液の採讀値}}{\text{未知液の採讀値}} \times \text{基準液中の銅量 mg} \times \frac{100}{\text{試験量}} = 100 \text{ g (又は cc) 中の Cu の mg 量}$$

**注意:** i) 新しき坩堝の釉薬中には銅を含有することあるにより之を除く爲に 1 g の醋酸曹達を Alcohol に溶解したるものを入れ、電氣爐内にて燃焼し、坩堝を更に 1:1 HCl にて數日間浸出すべし。其他此測定に使用する試薬は凡て銅を含有すべからず。

ii) 物質が全血の如く鐵に富み、又は乳汁若くは骨の如く磷酸鹽に富む時は灰分を 10 cc の HCl(1:1) に溶解し、稀釋し、濾過す。若し鐵の含量大なる時は銅を含まざる亞鉛粒少量を加へて煮沸し無色となして鐵を還元し、溶解せざる亞鉛を濾去す。(若し磷酸鹽のみ多く含有する際には亞鉛にて還元する必要なし)。夫より何れの場合も水を加へて 200 cc となし、加温し、 $\text{H}_2\text{S}$  を 15 分間通し、施栓して  $\text{CuS}$  の沈降するを待つ。直徑 7 cm の濾紙にて濾過し、濾紙を 5 cc の濃硝酸中に入れ、破摧し、水を以て稀釋し、煮沸し、濾過す。濾液を蒸發して約 100 cc

1. J. Biol. Chem. 81, 435. 1929.

となし N NaOH にて中和し、夫より本文の如く處理すべし。

iii) **基準銅溶液** 0.3928 g の純  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  を水に溶解して 1 l となす。此液 1 cc 中には 0.1 mg の銅を含有す。硫酸銅は透明なる結晶のみを選び用ふべし。基準銅液 0.5, 1 及び 2 cc を醋酸, KCNS, Pyridin 及 Chloroform にて處理すること凡て未知液の如くすべし。未知液の色に最も近きものを基準液として選むべし。

第4-2節 血液の二酸化炭素抱容能

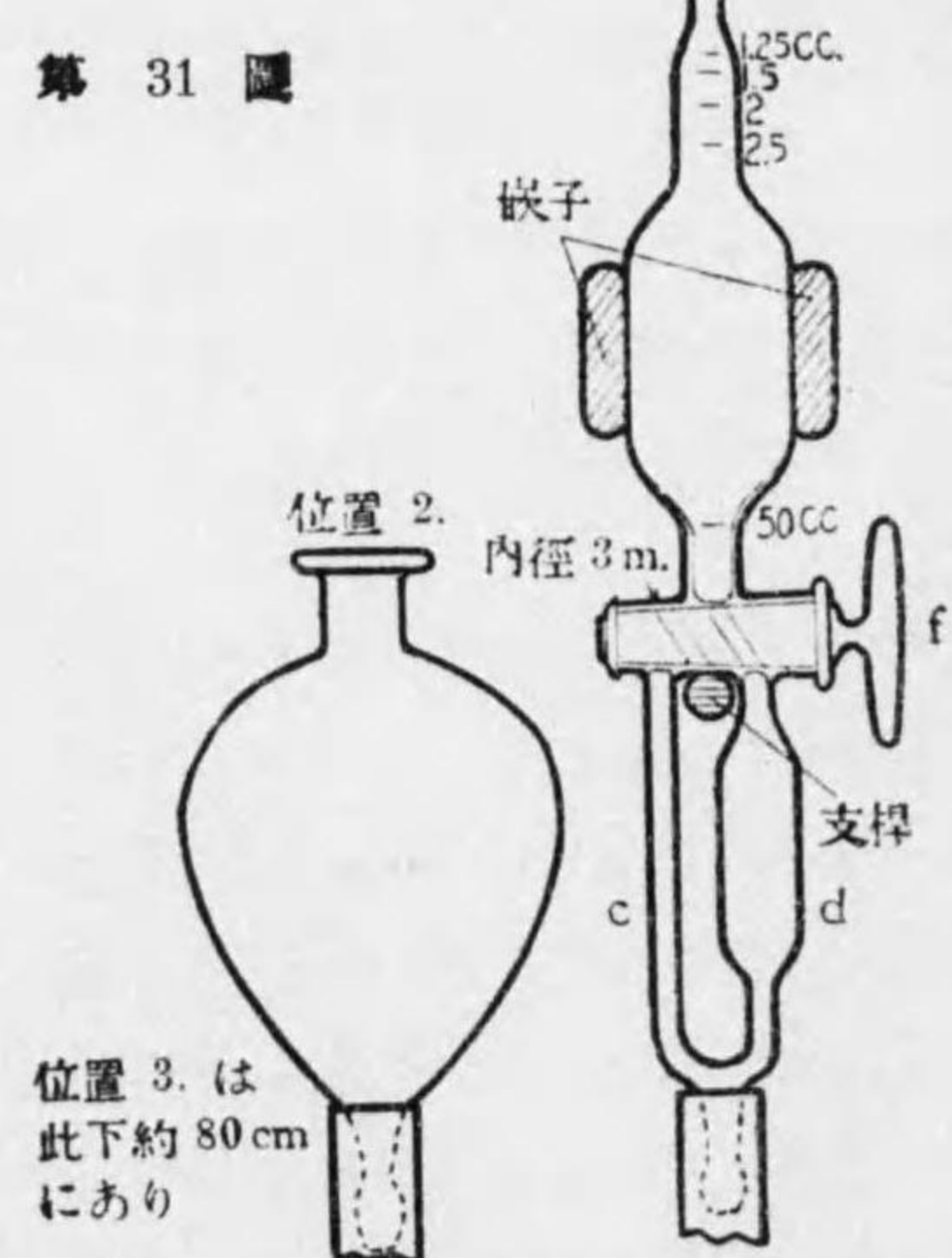
Van Slyke 及 Cullen の法<sup>1)</sup>

原理 蔘酸を加へたる血液を分液漏斗内にて正常動脈血の二酸化炭素張力に近き混合氣體と共に振盪して血液に常態にて抱容し得る限りの二



酸化炭素を結合せしめたる後其一定量を適當なる量管内にて酸性をなし其内に存する瓦斯を真空形成下に遊離せしむ。此瓦斯混合物の容積を大氣壓下に於て測定し、次に二酸化炭素を苛性曹達に吸収せしめたる時残留する瓦斯の容積を測定し、此前後兩容積の差を以て二酸化炭素の容積を算出す。

第 31 圖



1. J. Biol. Chem. 30, 289, 347 [1927]

装置 血液内二酸化炭素測定に用ゆる装置は第 31 圖に示すが如く主として、水銀の重量に堪ゆる如き厚壁の硝子よりなり之を堅固なる螺旋嵌子にて保持す。嵌子の扼指は Gom の厚板を以て之を蔽ふべし。又装置が嵌子より不慮に滑落つることを防止する爲め直径 6-8 mm の太さを有する鐵製支桿を栓 f の下にて c 及 d 管の間に挿入し支柱に固定すべし。

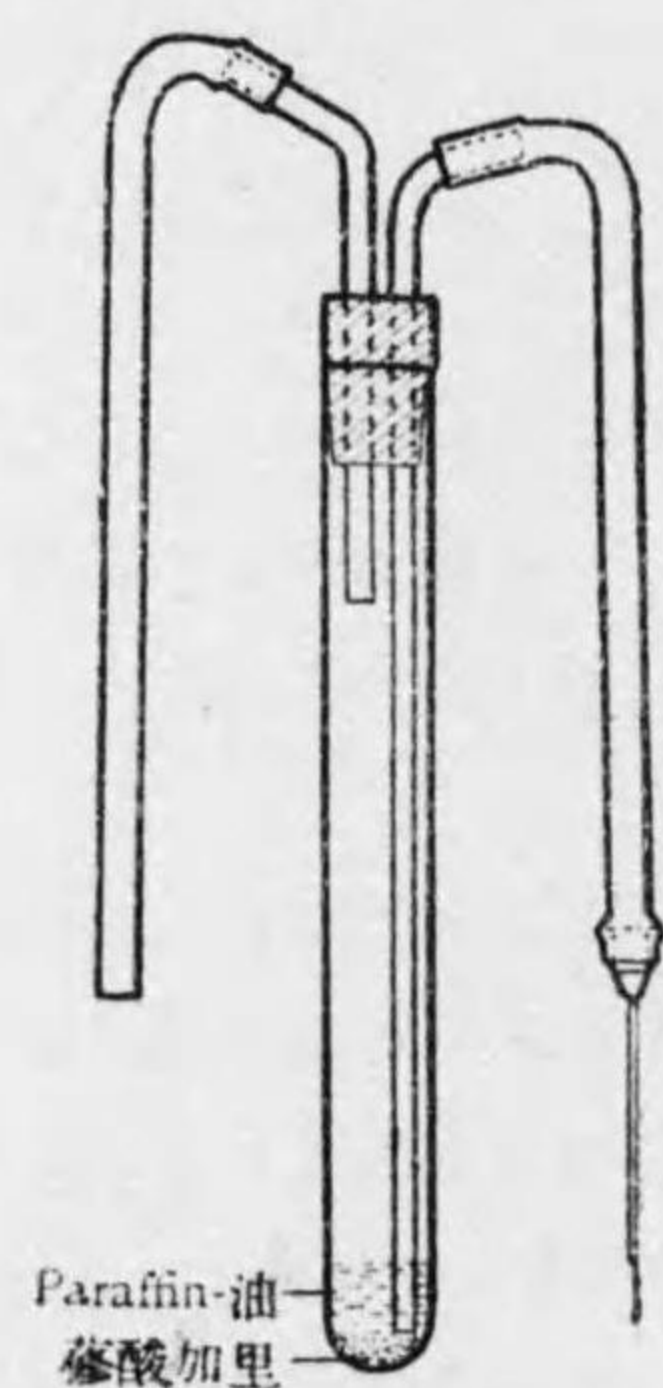
操作の各順程に於て適宜の高さに均位球を保持する爲めに 1, 2, 3 等の位高に鈎又は環あり。均位球を厚壁 Gom により之を器の底に連結すべし。

活栓 e 及 f は磨合せ可良にして且つ適宜に施脂し全く氣密なるを要す。又 Gom-帶又は細條螺旋紐を纏繞せしめて水銀の爲めに側方に押し出さるるここなからしむべし。

測定終了したる時は上方活栓を閉ぢたる儘均高球を下け大部分の水銀を c を通じて量管より誘去し、水溶液を d を通じて再び量管内に導入せしめたる後、均高球を位置 1 までかけて水溶液を少量の水銀と共に a を通じて器外に排除すべし。(此際 a の直下に小漏斗を具へ a より出づる水溶液及水銀を受け Gom 管によりて別の器に導くを可さす。かくして水銀を捕捉するここを得)。

實施 靜脈血を第 32 圖の如き装置により少量の粉末蔘酸加里を含有する管内に採集し、夫より之を 300 cc の分液漏斗に移し第 30 圖に於けるが如き装置により分液漏斗内の空氣を術者の肺より呼出したる肺胞氣又は Tank より導出したる 5.5% 二酸化炭素含有空氣にて交代せしむべし。此の際分液漏斗に導入する瓦斯は濕潤硝子粒上を通過せしむるを要す。

肺胞氣を用ゆる場合には術者は正常時よりも深く吸氣するここなく、急速に且つ出來得る限り完全に硝子粒を通じて分液漏斗内に呼出すべし。分液漏斗の口栓は呼出の將に終らむさする直前に之を閉ぢて大氣が分液漏斗内に逆流するを防ぎ、次で活栓を閉ぢたる後硝子粒に通ずる Gom 管を去り分液漏斗を上下に翻轉するここ 2 分、其間常に血液(又は血漿)を漏斗の全内面に完全に薄層をなして分布する如く注意すべし。かくの如き操作により血液(又は血漿)は二酸化炭素にて飽和せらるるを以て漏斗を垂直に待立せしめ數分間放置して液が側壁を離れ漏斗底部の狹窄部に集積



第 32 圖

するを待つべし。

**二酸化炭素の定量** 爰に於て液 1 cc を量し装器の b 杯中に移す。此時杯は豫め 1% 安門(炭酸鹽を含有すべからず)を以て洗滌し、全装器と共に毛細管の頂部まで水銀にて充たすべし(均高器を位置 1 に置いて之を行ふこゝを得)。量管の尖端は常に血液(若くは血漿)の表面下に止まるを要す。

次に水銀球を位置 2 に置き活栓を圖に示したる如き位置にて血液(又は血漿)を杯より 50 cc 室に導入し其少量が活栓上の毛細管を充たすに充分丈け残留せしめ(之れ第二次に液を導入せしむる際空氣の共に竄入せらるることなからしむる爲なり)、杯に 0.5 cc の水を加へて之を量管内に導き洗滌するこゝ二回なる後更に少量の Caprylalcohol を杯中に入れ之を上毛細管内に導き、終りに 0.5 cc の N 乳酸(又は 0.5 cc の 20% 酒石酸を流入せしむ。血漿を分析する際には 5% 硫酸を用ゆるこゝを得)。Caprylalcohol の量は可及的少量なるを可ます。血漿にては 0.02 cc にて充分なるべく、0.01 cc に目盛せられたる量管に毛管活栓を熔着せしめて作りたる滴管を用ゐて測る時は便なるべし。(尤も全血を用ゐたる時は Caprylalcohol の量を之よりも多く要すべし)。

上記操作に於て必しも洗滌液を 1 cc とし、酸を 0.5 cc 限定する要あるに非らず。然れども量管中に導入せられたる水溶液の全容量は精確に 2.5 cc にして器の標識の處に一致するを要す。之れ計算に當り第 242 頁に掲げたる表を使用するに必要なる條件にして、若し液量が 2.5 cc を超過したる際には更に水を加へて全量を 5 cc となし表の終列にある係數を使用せしむるに便ならしむべし。

酸を加へたる後水銀の一滴を b に入れ毛管内を流下せしめ活栓を密封すべし。若し杯中に過剰の酸が残留する時は少量の水を用ゐて之を洗滌すべし。

水銀球を下げ之を位置 3 に置き、量管内水銀を Torricellius の真空形成により 50 cc 標識まで降下せしめたる時下部活栓を閉じ量管を嵌子より外づし、量管を 2-3 分間振盪して管内の液が廻轉運動をなす如くし 2.5 cc の水溶液と 47.5 cc の空間との間に二酸化炭素の分配平衡を作るべし。夫より量管を再び嵌子に挟む。

活栓 f を廻轉し水溶液を量管より完全に d 内に流下せしめ(此時は瓦斯を毫も奔出せしむべからず。次に均高球を左手にて高く舉げ右手に活栓を廻轉して量管を C に連結し水銀を C より流入せしめ量管の主體及び刻度部の一部まで水銀を以て充たすべし)、水の極めて小部は d 中に完全に排除せられずして残留し水銀上に浮遊するも此の如き小容積の水に吸収せらるる二酸化炭素は極めて微量なるを以て之に基因する誤差は殆んど之を顧慮する要なし。水銀球を量管内に同高に持し瓦斯の容積を大氣壓下に於て讀み取るべし。之と同時に氣壓及び溫度を測定するを要す。

血漿又は全血何れを分析する際にも二酸化炭素は之を滴に吸収せしめて装器に漏洩部ありや否やを査證するを可ます。若し此操作を行はば滴に吸収せられずして残留する瓦斯量を第 242 頁に於ける表の第 4 及 5 列の數の代りに用ひて計算に供すべし。此等の列にあるは 2.5 cc 又は 5 cc の水溶液に溶存せられ居りたる空氣に對する補正なり。若し血漿の分析に當り二酸化炭素を滴にて吸収せしむる際には其操作は下記全血の際と同じく行ふべし。二酸化炭素を吸収せざる時は量管内瓦斯の容積を測定し之より實驗時の溫度に相當する空氣溶解係數(第 242 頁に掲げたる表の 4 及 5 列の數)を控除し、其差に同表の第 6 及 7 列に記せる係數を乗する時は 1 cc の血漿に化學的に結合せらるる二酸化炭素の容積を得べく、又之を 100 倍すれば血漿 100 cc の二酸化炭素抱容能を得べし。

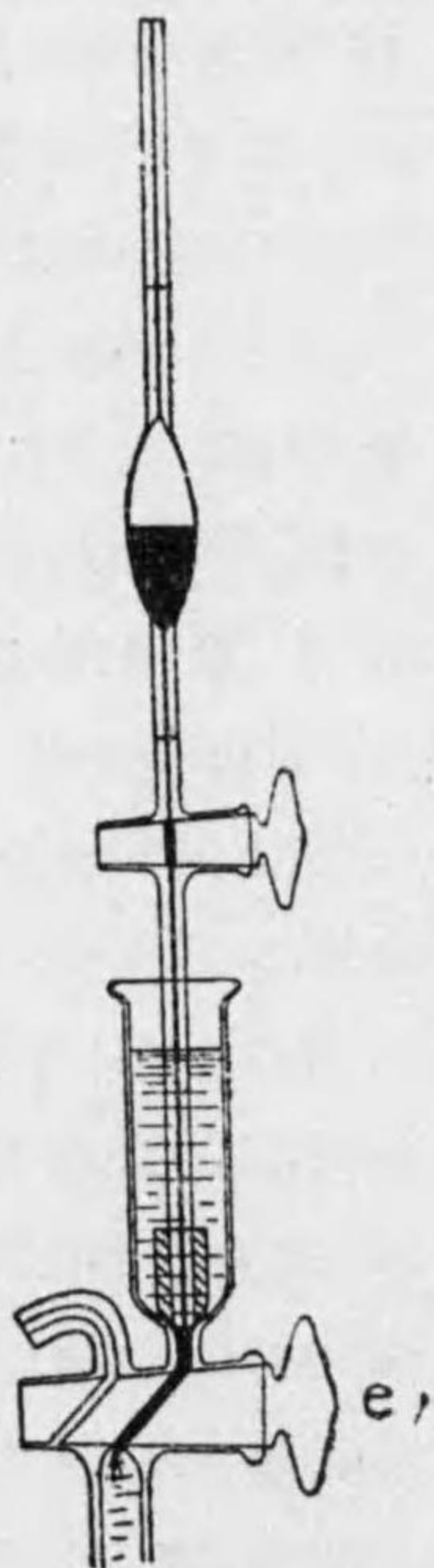
全血を分析する際には必ず常に二酸化炭素の容積を滴吸収前後の容積の差にて決定すべし。即ち装器内にて遊離したる瓦斯の量を測定したる後水銀球を降し管内水溶液の水面を 2 cc の度盛の處まで下降せしめて陰壓を作成したる後過剰の 10% 苛性曹達を杯 b 中に入れ之を陰壓を利用して靜かに量管内に入れ其内の二酸化炭素を吸収せしむ。此時常に過剰の滴が杯 b 中に残留する如くすべし。完全に吸収行はれたる後は液を排除し又氣壓を等ししたる後残留瓦斯の容積を測定す。吸収せられたる瓦斯の容積に第 242 頁に掲げたる表の第 6 若くは 7 (初め量管内液量を 2.5 又は 5 cc にするによりて異なる)の係數を乗じ更に之を 100 倍したるものは 100 cc の血液の二酸化炭素抱容能を表はす。

## 第4-3節 血液の酸素抱容能(Hemoglobin 量)測定

Van Slyke ; Van Slyke 及 Stadie の法<sup>1</sup>

**原理** 血液の酸素抱容能は血液の Hemoglobin を全く結合せしむるに要する酸素の容積を云ふ。故に此量を測定すれば Hemoglobin の量を推知するを得。之れ 1g の Hemoglobin は 1.34 cc の酸素を結合し従つて酸素抱容能の各 1 cc は 0.746 g の Hemoglobin を表はす。測定には血液を解血し、Hemoglobin を結合したる酸素を遊離せしめ此酸素を Van Slyke 装置にて読み、此酸素量より Hemoglobin に結合せられたる酸素を算出す。

**實施** 特殊酸素試薬<sup>\*)</sup>を攪拌して Caprylalcohol を乳化の状態に導きたる後其 7.5 cc を第 30 圖の b 杯中に入れ次で真空浸出室にて振盪して脱氣せしむ。血液を充分に攪拌棒を以て混和し 250 cc の分液漏斗内に入れ漏斗の内面に薄層を形成する如く廻轉し酸素にて飽和せしむ(酸素抱容能以外の酸素を測定せんを欲せば血液を油層下に混和し空気に接觸せしむることなく直ちに之を使用すべし)。無含瓦斯試薬の 6 cc を b 杯内に壓出し、差分量管(二個標識間にて一定容を吐出する如く目盛しあるもの)を以て精密に 2 cc の血液を直接に浸出室に入る(第 33 圖参照)。之には量管の尖端を杯中試薬の底部に強く挿入し量管の口端を閉ぢたる手(又は量管の活栓)を、活栓 e を調節しつつ血液従つて入れば之を従つて浸出室に導き杯中には決して血液の 2-3mm 以上は之を滞積せしむべからず Ostwald の量管を使用する際には最後の一滴を手の温か味にて口孔を閉ぢたる量管内空気を膨脹せしむることにより壓出せしむべし。b 杯中に残留する血液は之を 1 cc の試薬と共に浸出室



第 33 圖

1. J. Biol Chem 49, 1, 1921.

内に導き、爾他の b 杯中の試薬は薬滴子を用ゐて之を除去し其代りに 2-3 滴の水銀を入れ氣密を全からしむ。夫より真空をなし浸出氣體(O<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>)の容積が恒定するに至るまで振盪すべし。此際瓦斯の容積は大氣壓にて測定するを要す。此操作は約 5-10 分にて終結すべし。次に液の水面を 2 cc 標識の處まで下けて量管内に陰壓を生ぜしめたる後、b 杯を蒸餾水にて滌ぎ、0.5 cc の 2% 苛性曹達液(豫じめ通氣し置くを要す)を入れ、量管内陰壓を利用して徐々に之を浸出管内に導き續いて水銀を落下せしむ(之れ量管内毛管に存する苛性曹達の液柱を破壊する爲なり)。液を排除し、残留する瓦斯(O<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>)を大氣壓に致して之を測定すること二酸化炭素の測定に述べたる處の如し。瓦斯の容積を採讀すると同時に温度及び氣壓を讀取すべし。

## 計算

V = 測定せられたる瓦斯量 (O<sub>2</sub> + N<sub>2</sub>)

t = 温度(攝氏)

B = 氣壓 (mmHg)

w = 水蒸氣の張力

とすれば

$$\begin{aligned} \text{容積\% 酸素抱容能} &= \left( \frac{B-w}{760(1+0.00367t)} \times \frac{100V}{2} \right) - 2.1 \\ &= \frac{17.9(B-w)V}{t+273} - 2.1 \end{aligned}$$

是等の式中 2.1 は大氣壓下に物理的に溶存する酸素及窒素に對する補正なり。

Hemoglobin (100 cc 中の g) = 0.746 × 容積% 酸素抱容能

注意: i) 特殊酸素試薬:

Ferricyan-加里	3 g
Saponin (Merck)	2 g
Caprylalcohol	3 cc
水を加へて	1000 cc とす。

Saponin の量は解血力小なる場合には之を増加することを得。

計算に要する係数 (Van Slyke 及 Stadie)

温 度	f = B-w 760 (1 + 0.00367t) (温度 t, 氣壓 B Mm の濕潤瓦斯を 0°, 760 mm に還元せ しむるに要する係 数)	α' CO <sub>2</sub>	常温, 常壓にて溶存す る空氣の容積 cc †		1.017 f ( $\frac{S}{50-S} \alpha'_{CO_2}$ ) (一回浸出にて得たる CO <sub>2</sub> の容積より分析に供したる 溶液中に存する CO <sub>2</sub> の量 を 0°, 760 mm に還元したる 値を得る爲めに乘すべき係 数)	
			2.5 cc H <sub>2</sub> O	5.0 cc H <sub>2</sub> O	S = 2.5 cc	S = 5.0 cc
15	0.932 × $\frac{B}{760}$	1.075	0.052	0.105	1.002 × $\frac{B}{760}$	1.061 × $\frac{B}{760}$
16	0.928 "	1.043	0.051	0.101	0.995 "	1.053 "
17	1.924 "	1.015	0.050	0.100	0.989 "	1.046 "
18	0.919 "	0.989	0.049	0.098	0.983 "	1.038 "
19	0.915 "	0.966	0.048	0.096	0.978 "	1.030 "
20	0.910 "	0.942	0.047	0.095	0.972 "	1.022 "
21	0.906 "	0.919	0.046	0.093	0.966 "	1.015 "
22	0.901 "	0.896	0.045	0.091	0.960 "	1.008 "
23	0.897 "	0.873	0.045	0.090	0.954 "	1.001 "
24	0.892 "	0.850	0.044	0.088	0.948 "	0.993 "
25	0.888 "	0.828	0.043	0.086	0.942 "	0.986 "
26	0.883 "	0.808	0.042	0.084	0.936 "	0.978 "
27	0.878 "	0.789	0.041	0.083	0.931 "	0.971 "
28	0.873 "	0.772	0.040	0.081	0.924 "	0.964 "
29	0.868 "	0.755	0.040	0.080	0.918 "	0.957 "
30	0.863 "	0.738	0.039	0.078	0.912 "	0.950 "
1	2	3	4	5	6	7

\* O<sub>2</sub>+N<sub>2</sub> の容積を測定し之より O<sub>2</sub> 又は Hemoglobin 量を算出せんご欲せば先づ瓦斯の容積に f を乗じて 0° 及 760 mm に還元し, 又容積%にて表はすに必要なる係数 (1 cc の血液を使用したる時は 100, 2 cc の血液を用ゐたる時は 50 等) を乗じたる後之より,

- a) O<sub>2</sub> 含量には 1.36 Vol % (N<sub>2</sub>) を減じ.
- b) 靜脈血内 Hb に結合せる O<sub>2</sub> 含量には 1.5 Vol % (N<sub>2</sub> + 溶解したる O<sub>2</sub>) を減じ

- c) 動脈血内 Hb に結合せる O<sub>2</sub> 含量には 1.7 Vol % (N<sub>2</sub> + 溶解したる O<sub>2</sub>) を減じ
- d) 20° にて空氣にて飽和されたる血液内に結合せる O<sub>2</sub> 全量には 2.1 Vol % (N<sub>2</sub> + 溶解したる O<sub>2</sub>) を減すべし

然る時は

$$\text{正常 Hb の \% (Haldane 標度)} = \frac{100 d}{18.5} = 5.41 d$$

$$\text{血液 100 cc 内 Hb の g 数} = 0.746 d$$

$$\text{O}_2 \text{ にて飽和せられたる全 Hb の \%} = \frac{100 b}{d} \text{ 又は } \frac{100 c}{d}$$

$$\text{O}_2 \text{ 不飽和度 (Vol \%)} = d - c \text{ 又は } d - b.$$

† 容解したる空氣容積は常温にて測定せられたるものなり. 之を一回血漿又は炭酸鹽溶液を浸出したる後測定したる (空氣 + CO<sub>2</sub>) の容積より控除する時は CO<sub>2</sub> の容積を得べく此ものに 1.017 (1 +  $\frac{S}{50-S} \alpha'_{CO_2}$ ) を乗すれば溶液内の CO<sub>2</sub> の全 Vol % を得べし. 但し此空氣の補正は全血液の分析の際には用ゆるべきを得ず. 此際は CO<sub>2</sub> は苛性曹達に吸収せしめて之を測るべし. 之に係数を乗すべし.

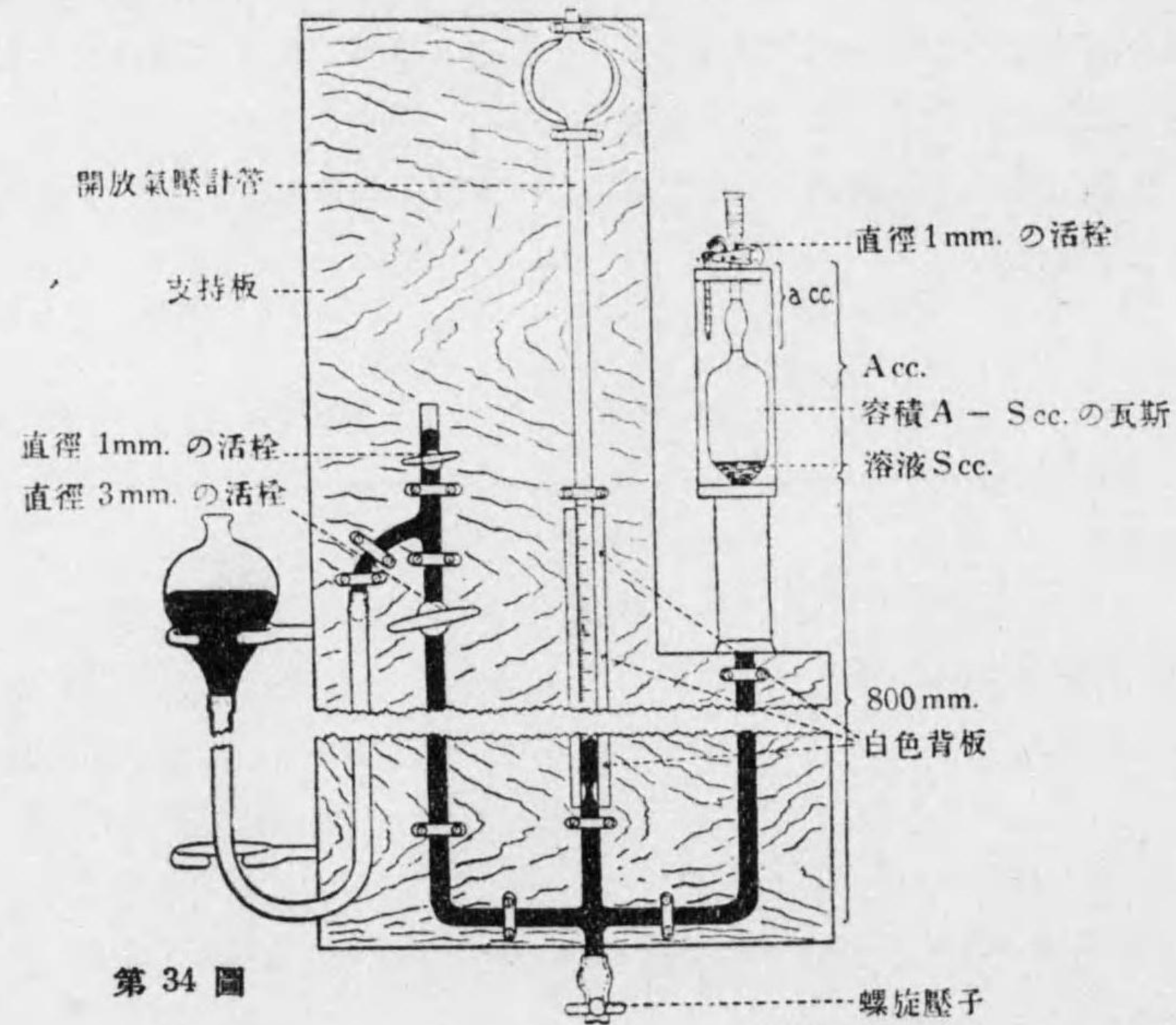
係数 1.017 は經驗的のものなるにより容器の異なるに伴ひ多少の差異あるを免れず.



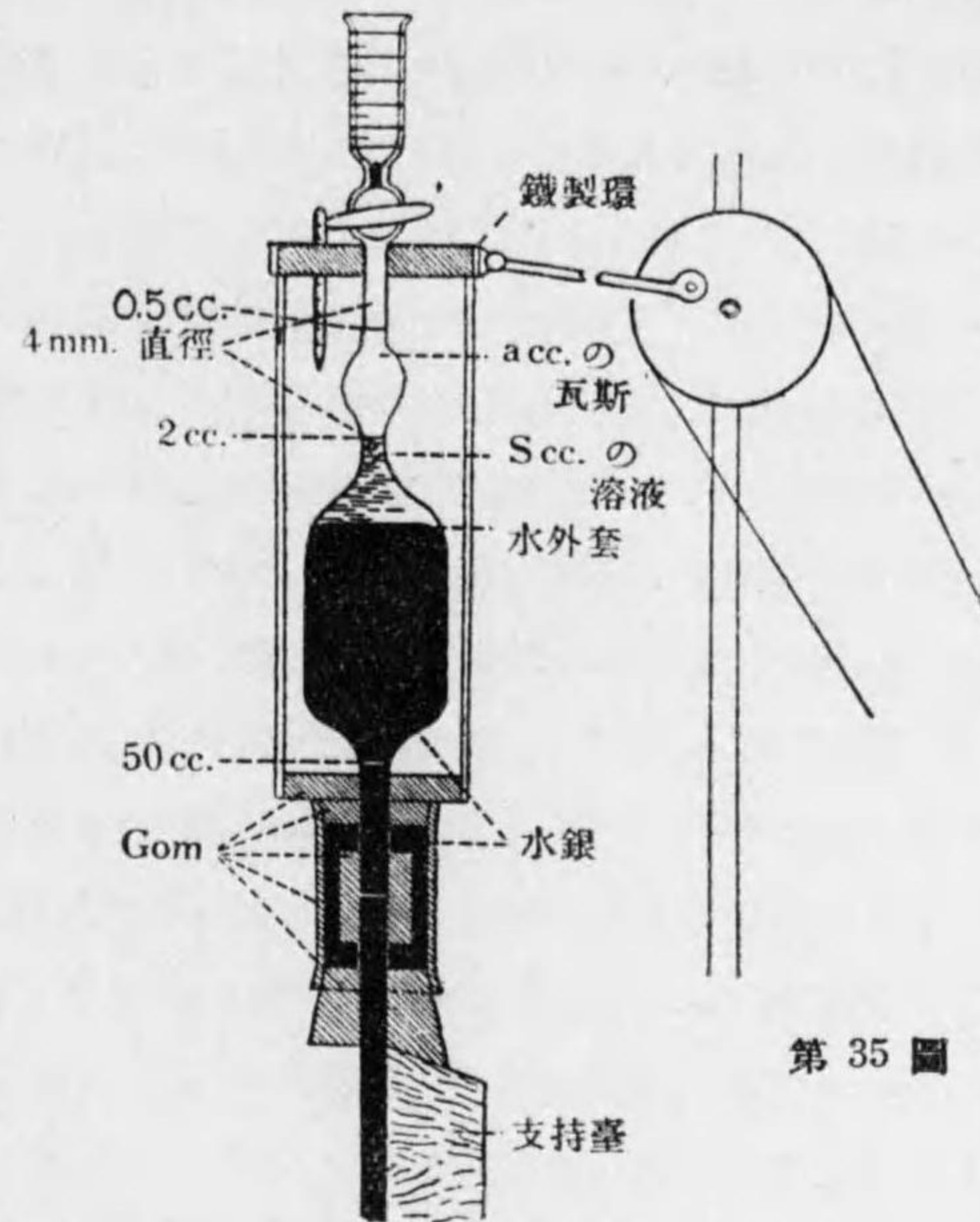
第4—4節 血液内二酸化炭素及び酸素の  
 氣壓計的測定法  
 (Van Slyke の法)

**原理** 酸性をなしたる Ferricyan-鹽 血液より真空内に二酸化炭素及び酸素を抽出し、此混合瓦斯が一定容積を占むる時呈する壓を測定したる後、CO<sub>2</sub>を滴に吸収せしめ残存する酸素及び窒素を再び同一容積をなしたる時呈する壓を測り、更に酸素を滴性次亜硫酸曹達液に吸収せしめ残存する窒素の壓を同様にして測定す、是等の壓の差より各種成分の量を算出す、之に用ふる装置は又 Amino-酸、血液 Calcium、血液尿素、血液非蛋白性窒素、血糖の測定にも用ふるるこゝあり。

**装置** 主なる部は 50 ml の反應槽にして活栓下 0.5 ml, 2 ml 及 50 ml の處に標識を有す、此反應槽は四分管に連なり、是等の管によりて水銀氣



第 34 圖



第 35 圖

壓計、水銀均高球及び排泄管に續く、4個の活栓あり、其一は反應槽の上杯の直下に、一は均高球に通ずるもの、一は排泄管に連なるもの、他の一は氣壓計の上部にあり。

**實施 漏洩試験**

活栓に適當に施脂せられあるかを檢し若し必要なれば活栓に Vaseline の薄層を引き幾回も旋回すべし、次に同様にして純良なる活栓用 Gom 脂を施す。夫より

漏洩の箇處の有無を檢する爲め 3.5 cc の蒸餾水を反應槽中に入れ、均高球を充分に下げて水面上に約 20 cc の Gas 相が生ずるに至らしめ、約 2 分間振盪し反應槽内の Gas の容積が 2.0 cc なる時の壓を讀む、次に再び真空にし同様に振盪し、反應槽内の Gas の容積を 2.0 cc として此時の壓を讀む、此兩回の探讀値は一致するこゝを要す。若し探讀値徐々に増加する時は漏洩の箇處の存するこゝを示す。

**装置清掃** 装置は各測定前に必ず清掃せらるるこゝを要す。若し前測定に用るたる残留液あらば之を反應槽の側毛細管枝より除去すべし。均高球に通ずる以外の活栓を盡く閉ぢたる後均高球を下り反應槽内の水銀が 50 cc の標識まで達したる時凡ての活栓を閉ぢ均高球を上方の支持環に掛け、活栓を通じて反應槽中に 1 cc の N 乳酸及び 9 cc の蒸餾水を入れ、15 又は 20 分間振盪す。夫より均高球に導く活栓を初め徐々に開きて水銀が氣壓計の極大値に高まりたる時 Gas 及稀釋酸液を反應槽の毛細管側枝

より排除すべし。此操作を反復して清掃する必要も生ずるこゝあるべく、又稀薄重-Chrom-硫酸混合液にて一夜反應槽を充たし置くこゝも必要なるこゝあるべし。之には反應槽を此液にて充たし、其活栓を開き、上杯は空虚にし置くを要す。

**分析法** 装置を清淨にし灌漑したる後 7.5 cc の Ferricyan-鹽乳酸試薬<sup>(i)</sup> を反應槽中に入れ、上に述べたる方法により真空を作り水銀の表面が反應槽の 50 cc 標識の下約 0.5 cm に至らしめ、夫より 3 分間良く振盪したる後溶液の 6 cc を反應槽より上杯中に戻へし、反應槽中には 1.5 cc 丈残留する如くすべし。次に氣壓計及凡ての排泄管は水銀にて満たされ閉ぢられ居るこゝを確めたる後、均高球に通ずる活栓を閉ぢ、均高球を下位支持環に掛く。夫より直ちに 1 cc の全血を Gom 頸を有する van Slyke-Ostwald 量管に採り、其先端を上杯中の液中を通じて上杯の底に押し、反應槽と量管との間の活栓を開き、次ぎに均高球に通ずる活栓を徐々に且つ僅かに開きて血液の流入速度を調節しつつ量管より 1 cc の血液を反應槽中に入れ、活栓を閉ぢ靜かに量管を引き、更に活栓を開きて 1 cc の試薬を上杯より反應槽中に入らしむ。尙 1 滴の水銀を杯に通ずる活栓内に入れたる後杯中に残されたる 5 cc の試薬を杯より吸引除去す、均高球に通ずる活栓は開放したる儘にし置く。

夫より血液より酸素、二酸化炭素他其溶解せる瓦斯を真空により抽出す、之には先づ均高球を 2—3 回軽く上下して水溶液及沈澱を反應槽の下方の太き部と上方の細き部との間に移行せしめ沈澱が細分されて浮遊し居る状態にしたる後均高球を下げて反應槽内の水銀の表面が 50 ml の標識に達したる時均高球に通ずる活栓を閉ぢ反應槽を 3 分間振盪す。

2 ml の容積に相當する壓を測定するには初め均高球を上段の支柱環に掛け、夫より滑かに且つ徐々に均高球に通ずる活栓を開きて反應槽内の水銀面が上がり、水相が上方狹窄部に近づく頃活栓の開きを減じて水相の Menisk が 2 ml 標識に達したる時活栓を閉ぢ、水層が若し 2 ml 標識以上に達したる時は單に均高球を下げて高さを調節するを以て満足せず一旦水銀 50 ml を標識まで下げ 1 分間振盪したる後再び 2 ml まで復歸せしむべし。

之れ二酸化炭素の一部は最終時の壓より大にする時は容易に吸収せらるるが爲なり、Gas の容積が 2 ml なる時の氣壓計の讀を採り之を  $p_1$  とす。

$\text{CO}_2$  を適當に吸収せしむる爲には N. NaOH を減壓下に入らるるを要す、之には均高球を下靜かに之に通ずる活栓を開き反應槽内の水銀面が槽の上肩より約 1.2 cm の處に来る時活栓を閉ぢ均高球を下方の支柱環に掛く、次に 1 cc の無含氣 N. NaOH<sup>(ii)</sup> を Gom 頸量管にて上杯の水銀底に入れ、0.5 cc の滴を靜かに活栓を開きて反應槽中に入れ、再び水銀にて活栓を封じ、過剰の NaOH を杯より取り去り、0.5—1.0 分の後 ( $\text{CO}_2$  は此間に吸収せらる) 再び水銀を反應槽中に上らしめ水相上の氣體容積を 2 ml となし此時の氣壓計の讀を採る、之を  $p_2$  とす。

次に酸素を次亞硫酸曹達液に吸収せしむ、之には均高球を下位支柱環に掛け、之に通ずる活栓を開き、1 cc の無含氣次亞硫酸鹽液を上杯に入れ、靜かに反應槽の活栓を開きて 5 秒毎に一小滴宛を入れ全量 0.5 cc を入れたる時、毛細管を再び水銀にて封ず、夫より反應槽の水層上の瓦斯の容積を 2 ml となし、氣壓計の讀を採る、之を  $p_3$  とす。

**計算**  $\text{PCO}_2$  を抽出 Gas の容積 (2 cc) 中に於ける  $\text{CO}_2$  の壓とすれば

$$\text{PCO}_2 = p_1 - p_2 - \text{Cco}_2$$

茲に  $\text{Cco}_2$  は  $\text{CO}_2$  を吸収せしむる爲め引き入れたる滴性吸收液の爲めに水銀の上にある水相の厚さの増加に對し施すべき補正なり、之れ水層の増加は反應相内に於ける水銀面を少しく下げ、從つて氣壓計の水銀面を下げるこゝになるを以て  $p_2$  の讀も補正を要するが爲なり、此補正を行ふには無含氣試薬及無含瓦斯水にて盲驗を行ひて決定す、血液 1 cc の代りに蒸餾水を代用す。

同様に若し  $\text{PO}_2$  を  $\text{CO}_2$  吸収後に 2 cc の瓦斯容積内の  $\text{O}_2$  に對する壓とすれば

$$\text{PO}_2 = p_2 - p_3 - \text{Co}_2$$

茲に  $\text{Co}_2$  は酸素を吸収する爲めに引き入れたる次亞硫酸鹽の容積により施さるべき補正なり、之も亦盲驗によりて決定す。

Van Slyke, Stadie 及 Neill によれば

$$V_{0,760} = P \times \frac{a}{760(1+0.00367t)} \left(1 + \frac{S}{A-S} a'\right)$$

茲にPは上の如くして得たる  $P_{CO_2}$  又は  $P_{O_2}$  の一つ; a は  $p_1, p_2, p_3$  等を測りたる時の Gas の容積; a' は Gas 相と液相との間の Gas の配分係数 (温度を補正したるもの); S は P の値を測りたる時の液相の容積; A は反應槽の容積なり、此測定に用ゐたる a, S 及び A の恒数を置換すれば

$$V_{CO_2, 760} = P_{CO_2} \times \frac{2}{760(1+0.00367t)} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

$$V_{O_2, 760} = P_{O_2} \times \frac{2}{760(1+0.00367t)} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

尙 Gas を 2 cc の容積とする時其一部は再び吸収せらるるを以て豫め一定量の  $CO_2$  又は  $O_2$  に就て此補正すべき量を檢したる所によれば  $CO_2$  の際には測定量に 1.017 を乗じ、 $O_2$  の際には 1 を乗ずれば真値を得らるることとなり、更に温度の變化に伴ふ、水銀の比重の度は氣壓計の高さ 1 mm に對し 0.000172 t mm を控除すれば補正值を得べし、故に  $P_{CO_2}$  及  $P_{O_2}$  の觀測値に  $1 - 0.000172t$  を乗ずるを要す、故に是等の諸點を總括する時は 1 cc の血液を用ゐたる際は次の算式により是等 Gas の容積%を知ることを得。

$$CO_2 \text{ Vol. \%} = P_{CO_2} \times \frac{100 \times 2 \times 1.017 \times (1 - 0.000172t)}{1 \times 760 \times (1 + 0.00367t)} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

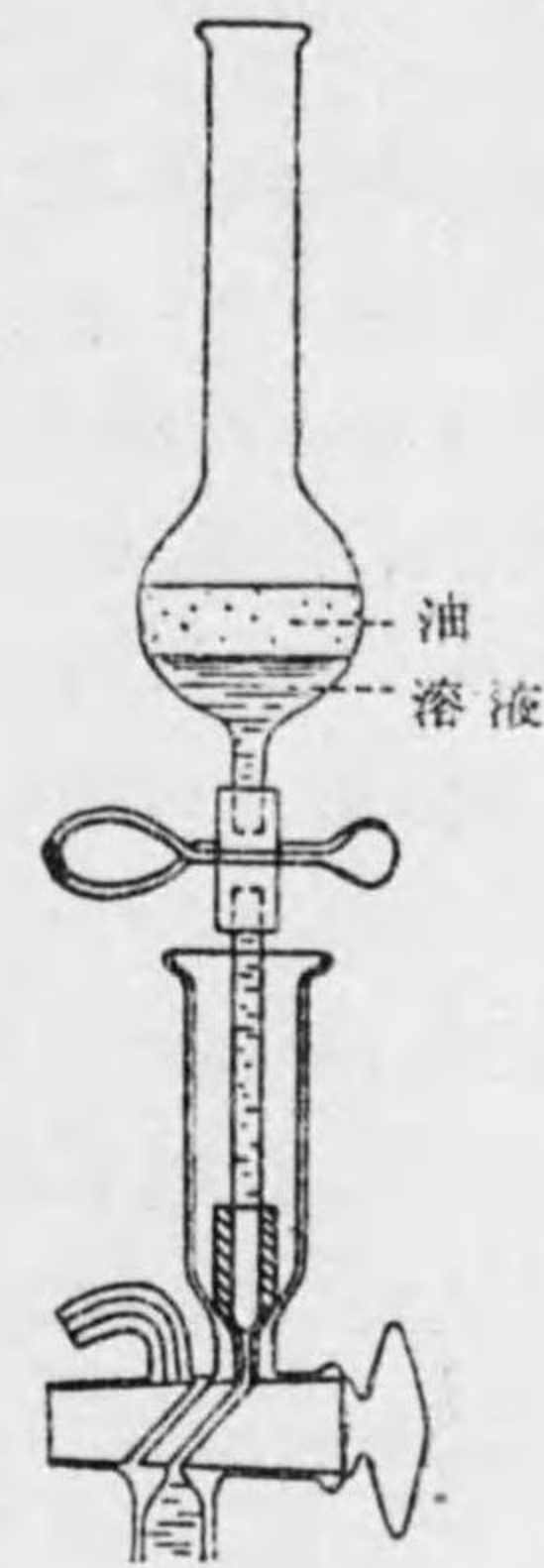
$$= P_{CO_2} \times \frac{2.034 \times 0.1316}{1 + 0.00384t} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

$$O_2 \text{ Vol. \%} = P_{O_2} \times \frac{100 \times 2 \times (1 - 0.000172t)}{1 \times 760 \times (1 + 0.00367t)} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

$$= P_{O_2} \times \frac{2 \times 0.1316}{1 + 0.00384t} \left(1 + \frac{3.5}{46.5} a'\right)$$

注意: i) Ferricyan-鹽-乳酸試薬 3g の Ferricyan-加里及 3g の Saponin (Merck) を約 900 cc の水に溶解し、之に 3 cc の Octylalcohol 及 40 cc の N 乳酸を加へ全量を水にて 1000 cc に充たし、良く混和したるものなり。

ii) 無含窒素 N. NaOH 溶液 30 cc の N. NaOH を本装置の反應槽に入れ、屈曲管及び漏斗に通ずる活栓を水銀にて封じ、槽内の水銀を降下せしめて氣相の容積が約 20 cc となる如くし、2-3 分間振盪したる後 Gas を棄て、又水銀を降下し、振盪し、Gas を棄つることを 2 回反復して得たる溶液を Paraffin 油下に貯蔵す。之には鹽化石灰管の細管部に檢壓栓子を具へたる Gom 管を續なき



Paraffin 油にて Gom 管及硝子管を充たしたるものに本装置反應管の漏斗に通ずる栓子より上の如く處理したる NaOH 液を押し上げべし。

iii) 次亞硫酸曹達 ( $Na_2S_2O_4$ ) 液 使用直前に約 10 g の粉末にしたる次亞硫酸曹達液を 100 cc の樽杯に入れ之に 50 cc の 0.5 N NaOH 液を加へ直ちに攪拌して早く溶解せしめ、必要ならば綿栓を通じて速かに濾過し、直ちに反應槽に入る。

上記 NaOH 液と同じ方法にて溶存せる Gas を去り鹽化石灰管内に Paraffin 油下に貯ふ。

50 ml 反應槽内にて 1 cc の血液、3.5 cc の水溶液と共に Gas の容積を 2 cc としたる時呈する  $P_{CO_2}$  及  $P_{O_2}$  に乗じて血液内  $CO_2$  及  $O_2$  の容積%を得る係數、但し  $CO_2$  の再吸収に對する補正を 1.017 と假定す。

温度	$P_{CO_2}$ に對する係數	$P_{O_2}$ に對する係數
C°		
15	0.2735	0.2493
16	19	85
17	04	78
18	0.2690	68
19	75	59
20	62	50
21	48	41
22	34	32
23	20	23
24	07	14
25	0.2594	06
26	81	0.2398
27	69	90
28	57	82
29	45	74
30	33	66
31	22	58
32	11	50
33	00	42
34	0.2489	33

## 第4-5節 血液内 Aceton 體の Salicylaldehyd 比色法

原理 血液濾液中にある Aceton を其儘蒸餾するか(遊離 Aceton 量)又は之に Chrom-酸を加へて蒸餾し(總 Aceton 體量), 蒸餾液中の Aceton を鹵性反應にて Salicylaldehyd に作用せしめ有色の Dioxydibenzolaceton  $OC \begin{matrix} \text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH} \\ \text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH} \end{matrix}$  をなし比色す. 2cc の血液中に於て 0.001% の Aceton を測定するこゝを得と稱せらる.

實施 (Aceton 及 Acet-醋酸のみの測定) Folin-Wu の血液濾液の 25cc を 300cc の蒸餾瓶の中に入れ約 50cc の蒸餾水(其中に 2 滴の濃  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を加へたるもの)を加へ, 錫箔にて蔽ひたる栓を施したる後 25cc の量瓶中に適當の受容管を用ゐて蒸餾し殆んき 25cc に達したる時蒸餾を止め受容管を數滴の蒸餾水にて洗ひ次で全量を 25cc に満たす.

此蒸餾液の 5cc を乾燥したる試験管に採り之に 5cc の 32% NaOH<sup>i)</sup> 及び 0.5cc の Salicylaldehyd を加ふ. 他方に 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 及 5.0cc の基準 Aceton 溶液<sup>ii)</sup>を一系列の試験管に入れ適當量の水を加へて全量を 5cc に充たしたる後是等にも上と同様に 32% NaOH 及び Salicylaldehyd を加ふ, 各管の内容を混合し. 凡ての試験管を同時に 4 分間沸騰水中に沈めよく振盪して Aldehyd を溶解せしむ, 冷却したる後溶液を濾過し, 比色計にて比較す, 基準液を 15mm の高さにしたる時被檢液が 11—19mm の間にある如き基準液を選ぶべし, 若し被檢液が基準液の何れよりも Aceton を含むこゝ著しく大なる時は被檢液を 5cc より少なく採り水を以て全量を 5cc とし測定を複試すべし. 又若し被檢液の Aceton 量餘り小なる時は血液濾液 75 乃至 100cc を採り之を蒸餾して得たる蒸餾液を用ゐて定量すべし.

計算. 基準液を 15mm の高さに置く時は

$$\frac{15 \times \text{基準液内の Aceton の mg} \times \text{蒸餾液の全容量} \times 100}{\text{被檢液の採讀値} \times \text{血液の量} \times \text{蒸餾液使用容量}} = 100\text{cc 血液内遊離 Aceton 及 Aceto-醋酸性 Aceton 値の總量(mg)}$$

注意: i) 32% 苛性曹達溶液 32g の純粹の NaOH を水に溶解し冷却後 100cc に

稀釋したるもの.

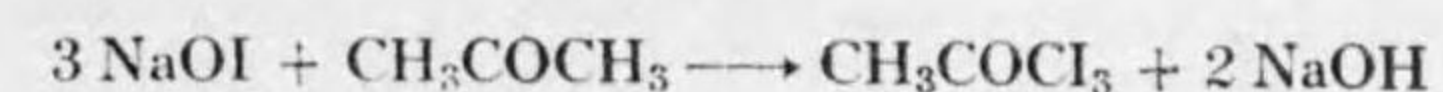
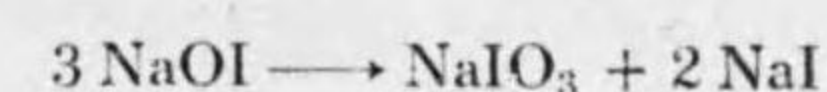
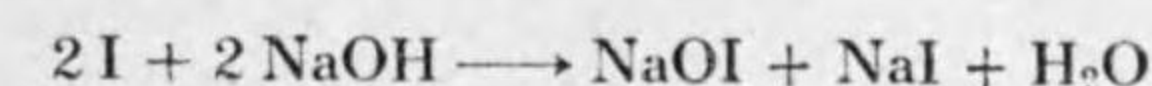
ii) 基準 Aceton 溶液. 1cc=0.01 mg Aceton

Aceton 根本液: 最純の Aceton 1.28 cc を水に加へ 1000 cc に稀釋して 1 cc 中に約 0.1 mg の Aceton を含有する液を作り良く密栓して貯ふべし. 1 月以上用ふべからず. 此液を次の如き沃度法により精密に基準すべし.

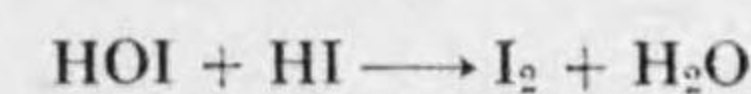
2—3 個の 700 cc Erlenmeyer 瓶に約 500 cc の水を入れ, 量管にて 25 cc の Aceton 溶液を正確に加ふ. Aceton を量管中に入る時は吸引するよりも押し上ぐるを可とす. Aceton を水に加ふる時は量管の先端を水中に浸らし蒸發による Aceton の損失を防ぐべし. 次に 50 cc の  $\frac{N}{10}$  沃度液を精密に加へ, 良く混和し, 10 cc の 60% NaOH 液を加へたる後更に混加す. 10 分放置し, 振盪しつつ之に 15 cc の濃 HCl を加へ, 直ちに  $\frac{N}{10}$   $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  液を以て滴定すべし.

他方に於て 500 cc の蒸餾水に 50 cc の  $\frac{N}{10}$  沃度液を加へ, 之に 10 cc の 60% NaOH 及び 15 cc の濃 HCl を加へ同様に  $\frac{N}{10}$   $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  にて盲滴定を行ふべし, Thio-硫酸溶液は  $\frac{N}{10}$  重-Chrom-酸鹽又は酸性沃度酸鹽溶液にて新たに基準されたるものなることを要す.

沃度液の盲値と, Aceton 添加時の値の差は Aceton を酸化して之を Iodoform と醋酸曹達に導く際に失はれたる沃度の量を示す.



之を酸性にすれば



Aceton の 1 分子が Iodoform と醋酸鹽とに變ずる際には 6 Electron の移動行はる即 Aceton 1g 分子に對し 6g 原子の沃度が相當量なり. 故に  $\frac{N}{10}$  沃度液の 1 cc は  $\frac{58}{6 \times 10,000}$  即 0.968 mg の Aceton に相當す.

基準 Aceton 溶液 Aceton 根本液を稀釋して 1 cc 中に 0.01 mg の Aceton を含有する如き溶液を調製すべし. 此稀薄溶液は毎日新たに調製するを要す.

## 第五章 尿の定量

## 採集

1日中時刻により尿の組成絶えず變化するにより随時に採集したる尿に於ける分析の結果は價值少なし故に普通は1日中に排泄せらるる尿を合併したるものに就て分析を行ふ。1日中の尿を採集するには先づ早朝一定の時刻(例へば午前7時若くは8時)に排尿して膀胱を空虚にし其以後に出づる尿は悉く之を10-20 ccのToluolを入れたる清淨なる硝子罎に入れ翌朝同時刻に排尿したるものを採集すべし。

## 尿量測定

分析に先ちては必ず尿量を測定すべし。之れ之によりて一日中に排泄せらるる各種成分の全量を算出するを得ればなり。尿量は大なる量筒にて測定して可なり。

- 注意: i) 計算を簡易ならしむる爲め分析に先ちて尿を一定便宜量に稀釋する人あり。例へば一日全量975 ccなる時、之に水を加へて1000 ccとなすが如し、然れども之を施すに際し先づ尿の比重を測定し置き又水を加へたる後は全體をよく混合することを怠るべからず。
- ii) 採集瓶中にToluolを入るるは尿の腐敗を防止せむ爲なり。
- iii) 變化を可及的僅少ならしめむ爲め採集したる尿は常に冷蔵庫中に貯ふべし。

## 尿の比重

尿の比重は精確なる比重計又は尿重計を用ゐて常温に於て之を測定すべし。尿重計を用ゆる際には豫め尿重計を約25°の蒸留水に投じ其眞の零點を確定するを要す。

尿重計を先づよく清拭したる後尿を盛れる圓筒の中央に浮漂せしめ濾紙にて泡沫を除き且つ尿重計が圓筒の壁に接觸せざる如く注意すべし。眼を液面と同じ高さに置き液面に相當する標尺上の度盛を讀む。此時尿表面

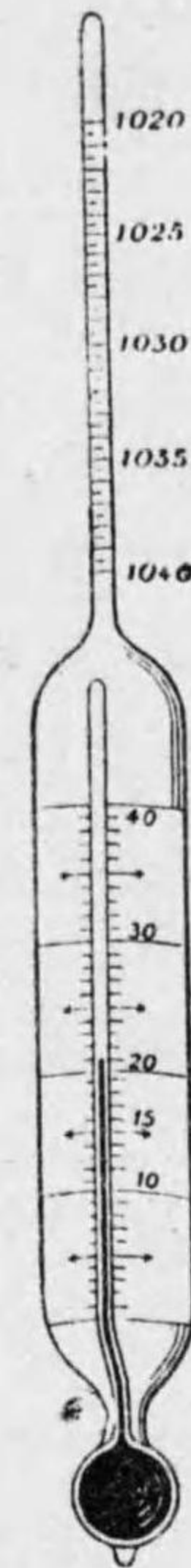
の眞の水準高を讀む如くし、尿重計を圍繞する Meniscus の上端を讀取すべからず尿重計は1000-1020及1020-1040に目盛せる2本の尿重計を具ふるを便す。

## pH 値の測定

尿の pH 値を定むるには採集後可及的速かに之を行ふべし。且つ此目的には尿を Paraffin 油下に貯ふる方可なり。

2本の試験管の各々に新たに煮沸後冷却したる蒸留水8cc宛を入れ、其一方には Brom-Cresol-紫、他方には Phenol-赤の5滴を加へたる後 Paraffin-油を以て之を蔽ふべし。各管に2ccの尿を加へ靜かに攪拌し此時發現したる色調を標示基準列と比較し pH 値を定むべし。

- 注意: i) 常尿の pH は普通 5.4 及 8.0 の間を變移す。故に Brom-Kresol-紫(pH 5.4-7.0)及 Phenol-赤(pH 6.6-8.2)の2標示薬を以て比色法を行ふことを得。
- ii) 標示基準列に對する緩衝劑溶液の調製に就ては第305及305頁を参照すべし。



第36圖

## 持滿性酸度の測定 (Folin の法)

原理 尿に中性の蓚酸加里を加へ Calcium を沈澱せしめたる後 Phenolphthalein を標示薬として定規苛性曹達にて滴定す。

實施 25 cc の尿を 200 cc の Erlenmeyer 瓶に入れ之に 15-20 g の粉末蓚酸加里及 1-2 滴の 1% Phenolphthalein を加へたる後混合物を 1-2 分間強く振盪し直ちに 0.1 N 苛性曹達液にて滴定し液が淡桃色を呈するに至らしむべし。

計算 0.1 N 苛性曹達の費消費量を A、尿の1日量を B とすれば1日尿の持滿性酸度は

$$\frac{B}{52} \times A$$

有機酸の測定  
(Van Slyke 及 Palmer の法<sup>1)</sup>)

**原理** 炭酸鹽及び磷酸鹽を沈澱せしめ、濾液を Phenolphthalein に對する醗色點より Tropaeolin 00 に對する醗色點に至るまで滴定す、

**實施** 100 cc の尿に粉末の水酸化 Calcium を混じり 15 分間時々攪拌し、濾過して炭酸鹽及び磷酸鹽を除去す。濾液の 25 cc を 125—150 cc の試験管に移し、0.5 cc の 1% Phenolphthalein を加へ 0.2 N HCl を滴管より滴下して正に桃色の消褪するに至らしむ、此際の pH は約 8 なり、茲に於て更に 5 cc の 0.02% Tropaeolin を少量宛攪拌しつつ加へたる後 0.2 N HCl にて滴定し其赤色の色調が 0.6 cc の 0.2 N HCl 及び 5 cc Tropaeolin 00 溶液に水を加へて 60 cc となしたるものと同一になるに至らしむ、終點に近づきたる頃未知液に水を加へて全量を殆んど 60 cc となすべし、

**計算** 滴定 0.2 N HCl 量より水を對照管の色調まで滴定するに要する 0.2 N HCl 量 (通常 0.7 cc) を控除し、之に 80 を乗すれば 1 l 尿中の 0.1 N HCl 相當量を得。

總固形分の測定

5 cc の尿を重量既知の淺き皿に取り醋酸を滴下 (1—3 滴) して極めて弱く酸性となし真空内にて硫酸上に放置し重量恒定制するに至るまで乾燥すべし。尿中の固形分の百分比並びに 1 日中の總固形分の量を算出すべし。

注意: i) 加熱して乾燥する時は誤謬を來たすを常とす、

ii) 尿の比重の零點下第二位及第三位の數に Long の係數 (2.6) を乗する時は 1 l 尿中の固形分の g 數を得、

1. J. Biol. Chem. 41, 567, 1920.

第 51 節 總窒素

Kjeldahl の法

**原理** 此法の原理は尿を濃硫酸と共に煮沸して其内に含有する種々の窒素化合物を硫酸安門に變ぜしめ此硫酸安門を固定鹼 (NaOH) にて分解し此處に發生する安門を一定量の酸に捕集し未だ中性せられずして残留する酸の量を一定濃度の鹼にて滴定し之れより尿中窒素量を算出するにあり。

**實施** 内容 700 cc を有する Kjeldahl の瓶に 5 cc の尿を入れ之に 20 cc の濃硫酸、約 0.2 g の硫酸銅、約 10 g の硫酸加里を加へ排氣棚内に於て金網上加熱煮沸せしむるこゝ約 30 分、内容が澄明綠青色の液に變ずるを待ちて火を去り、冷却後之に 250 cc の蒸餾水 (安門を含有すべからず) を加へ再び放冷せしむ、之に苛性曹達飽和溶液 60—70 cc を漏斗を用ゐて添加し、更に少量の亞鉛粉 (突沸を防止する爲なり) 及少片の Paraffin (泡沫の發生を輕減する爲なり) を加へ、安全管によりて冷却器に接続し、其約 150—200 cc を 50 cc の 0.1 N 硫酸中に蒸餾すべし。硫酸は容量約 250 cc の Erlenmeyer 瓶に入れ之に Congo-赤又は Methylorange 6 滴を加へ置くべく又導入管の先端は受容器内硫酸液の液面下に在るを要す。蒸餾完結したる時は導入管を冷却器より取り離し水を以て管の内外に附着したる酸を受容器内に洗ひ落とし、残留する酸を 0.1 N NaOH にて滴定し、之より尿中窒素量を算出すべし。

**計算** 受容器内に採りたる 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の cc 數より滴定に費消したる 0.1 N NaOH の cc 數を控除したるものは尿より發生したる安門にて中和せられたる 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の cc 數なり。之を A とす、然るに 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の 1 cc は 0.0014 g の窒素に等しきにより A × 0.0014 g は 5 cc の尿中に存する窒素量に相當す。之より尿 100 cc 中の窒素量又は一日中に排泄せらるる尿中窒素の總量を計算するこゝを得べし。

注意: i) 尿總窒素は尿に含有せらるる全非蛋白性成分中の窒素の總量を云ふ。故に若し蛋白質が尿中に存する時は先づ之を除去し、其濾液に就て測定を行ふべし。蛋白質を去るには通常尿に醋酸を加へて弱酸性となしたる後加熱凝固せ

しめ、濾過し沈澱を洗滌し、濾過液及洗滌液を當初の容積にまで充たすべし。

- ii) 尿中窒素量多き時は受容器内の 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> は尿より発生したる安門により全く中和せられ終に Methylorange は黄色に、Congo-赤は赤色に變ず。此際には更に受容器内に 20 cc の 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を追加すべし。
- iii) 酸化に用ゆる硫酸、硫酸銅、硫酸加里等は往々にして窒素を含むことあるが故に本測定に使用したる量を用ひて對照試験を行ひ必要に應じて補正すべし。
- iv) 酸化後 Kjeldahl 瓶中の硫酸を中和するには濃硫酸 10 cc に對し苛性曹達飽和溶液(D = 1.5)約 20 cc を要す。
- v) 標示薬は Methylorange の水溶液は 0.5 %、Congo-赤は 2 % のものを用ゆべし。

#### Koch 及 McMeekin の直接 Nessler 化微量法

**原理** 尿中の有機物を硫酸及び過酸化水素と共に熱して破壊したる後安門を直接に Nessler 化して定量す。

**實施** 5 cc の尿を 50 cc の量瓶に入れ水を以て稀釋して 50 cc となす。若し尿の比重 1.018 より大なれば 100 cc に稀釋するを可とす。定量せらるべき N の量は 0.3-1.0 mg なるごとくすべし。

此の如き稀釋尿の 1 cc を 20 × 2.5 cm 硬質硝子試験管に入れ之に 1 cc の 1:1 硫酸を加へ絶えず振盪しつつ直接火焰上に加熱して水を蒸發せしめ、次で小燃子上に加熱し硫酸の白煙が管を充たすに至らしむ。夫より之を放冷せしむるこ約 30 秒の後之に 1 滴の 30 % 過酸化水素<sup>\*i)</sup>を點じ再び之を 2-5 分間靜かに煮沸すべし。此際若し溶液が着色するに至らば更に過酸化水素の處理を繰返すこを要す。

放冷後内容を悉く 100 cc の量瓶に移し水を加へて約 75 cc に稀釋したる後之に 15 cc の改良 Nessler 試験<sup>\*ii)</sup>を加へ、直ちに水を加へて 100 cc となし、よく混和すべし。之と同時に 100 cc の量瓶に 1:1 硫酸の 1 cc 及び基準硫酸安門液<sup>\*iii)</sup>(5 cc = 1 mg. N) の 1.5-5 cc を入れ水を加へて 75 cc となし、前記の方法によりて Nessler 化すべし。此の基準液を 20 mm 又は 30 mm の高さに置き未知液の讀を採るべし。

**計算** 基準液の高さを 20 mm、未知液の高さを A させば

$$\frac{20}{A} \times \text{基準液中の N 量} = 1 \text{ cc 稀釋尿中の mg 量}$$

**注意:** i) 30% 過酸化水素 30% 過酸化水素は反應性強きにより注意して之を取扱ふことを要す。即可成的寒冷なる場所に貯藏し急劇なる分解を避け、又皮膚及び粘膜に觸れざる如くすべし。量管にて之を採量すること勿れ。

過酸化水素は窒素を含有することあるにより實驗を行ひ適當なる補正を加ふることを要す。

ii) 改良 Nessler 試薬の調製 22.5 g の沃度を 30 g の沃度加里を溶存する 20 cc の水に溶解し、之に 30 g の純金屬水銀を加へよく振盪し、時々容器を流水下に浸しつつ之が高热せらるるを防ぎ、上清液が沃度に基因する黄色を全く失ふに至らば之を傾瀉し其數滴を 1% 澱粉溶液 1 cc に加へ若し青色の沃度澱粉の色生ぜざれば未だ第一水銀鹽存在する可能性存するにより本液に更に上述せると同濃度の沃度沃度加里液を滴加し沃度の微量が存在する(即液の數滴を 1% 澱粉液 1 cc に加へたる時青色を呈する)に至らば水を加へて 200 cc となしよく混和すべし。

茲に於て精確に調製したる 10% 苛性曹達液の 970 cc に上記沃度水銀加里の全液を加へよく混和し放置して清澄ならしむ。

此の如き Nessler の試薬は之を被檢液の 100 cc に對し通常 10 cc 加ふるをよしとす。但し被檢液中の酸の含量大なる時は試薬の添加量を増大し基準液と同様の濃性を得しむべし。

iii) 基準硫酸安門液(0.05 N 硫酸溶液, 5 cc = 1 mg. N)。

iv) Nessler 化の際最も重大なる要因は混合液の濃性度にして之が爲めに色彩の影響を蒙ること甚だ大なり。改良 Nessler の試薬は約 8.4% の苛性曹達を含有するが故に尿消化に用ひられたる硫酸を中和するには其約 8.3 cc を要すべく、之に尙 Nessler 化終液容積 100 cc に對し 6.7 cc の試薬を加ふれば約 0.56% の濃性を得べし。最も良好なる結果を得むと欲せば 1:1 硫酸の 1 cc を基準硫酸安門液に加へ、同量の試薬を用ふべし。

Nessler 化を 50 cc の量瓶内にて行ふ際には 12 cc の Nessler の試薬を用ゆべし、此際は基準液も同じく 50 cc の容積に調製するを要す。

## 第52節 尿素の定量附既成安門の定法

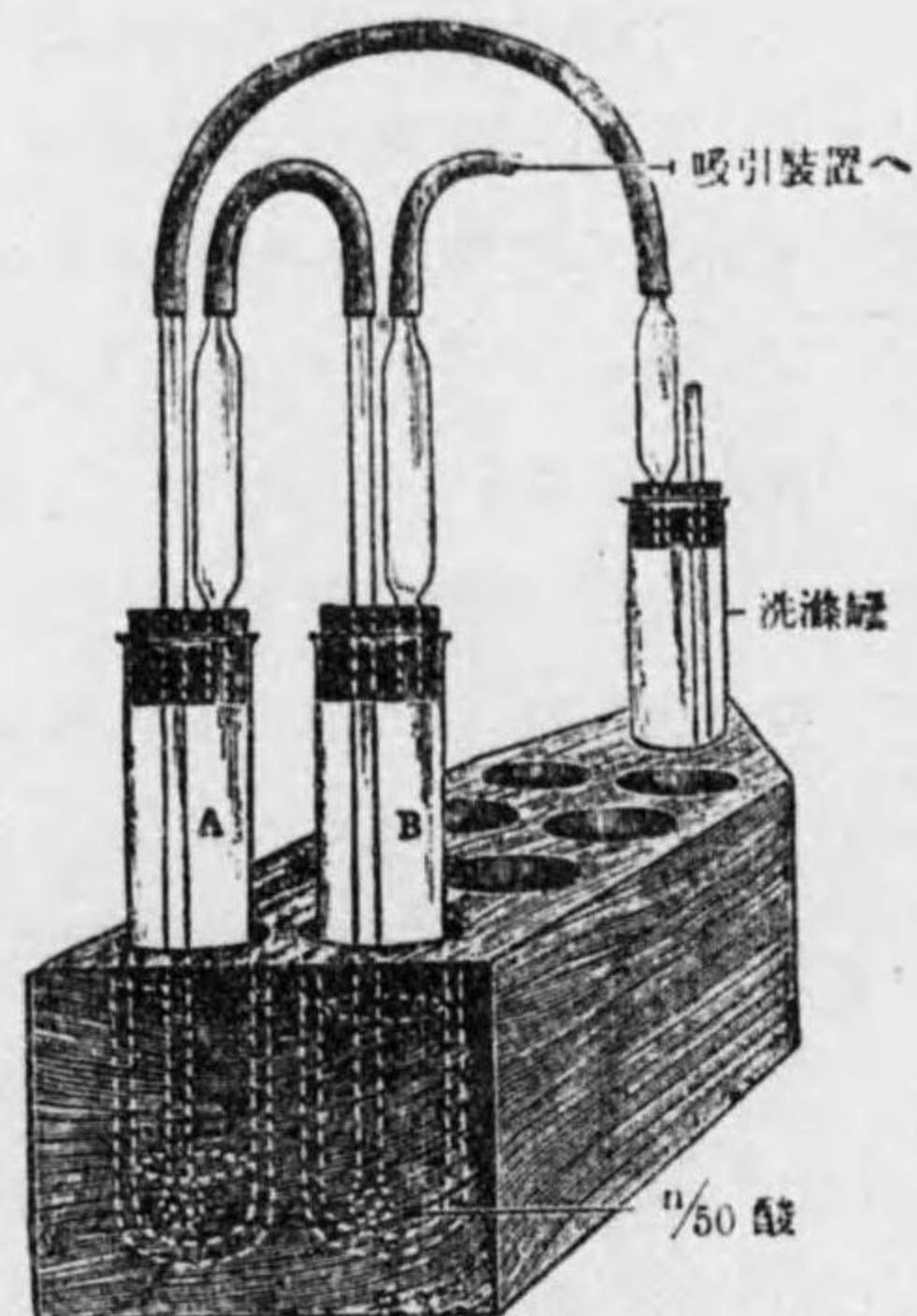
(Van Slyke 及 Cullen の法)<sup>1)</sup>

**原理** 大豆より浸出して作りたる尿素酵素を尿に加へ其中に存する尿素を悉く水解して炭酸安門に變ぜしめ、次で滴を加へて安門を遊離せしめ、此安門を通氣法によりて N/50 硫酸に攝取し過剰の酸を  $\frac{N}{50}$ -NaOH にて滴定する法なり。

**實施** 尿の 5 cc を内容 50 cc の量瓶に入れ安門を含まざる蒸留水を以て 10 倍に稀釋し此稀釋液の 5 cc を Van Slyke-Cullen の尿素定量の装置(第 37 圖)の A 管に入れ之に 1 cc の尿素酵素液<sup>\*ii)</sup> 及 1 滴の Caprylalcohol (泡沫發生を防ぐ) を添加したる後活栓を施し少なくとも 15-30 分 40-45° に加温すべし(A 管を温水を盛れる櫛杯に浸け置けば可なり)。

其間に一方にては B 管内に N/50 硫酸の 25 cc を入れ、2 滴の Caprylalcohol 及 1 滴の Alizarin 標示薬(1%)を加へたる後管の一方を A 管に、他方を吸引装置に連結し其方向は通氣を行ふに際し氣流が常に尿より酸の方に通ずる如くすべし(圖を見よ)、A 管に送る空氣は強硫酸を容れたる管を通ぜしめて空氣中の安門を全く吸収せしむべし。

A 管が適當時間(15-30 分)放置せられたる頃、先づ 1 分間氣流を通じて消化時間内に A 管内空氣中に竄出するところある少量の安門を B 管に洗ひ出したる後、A を開き 5 cc の飽和炭酸加里を加へ直ちに栓を施すこ同時に吸引を開始し A 管内にて遊離したる安門が悉く B 管内酸に移行する迄通氣を行ふべし。<sup>\*iv)</sup> 通氣の速度は初めは緩徐なるを要す。尙 A 管に附屬



(第 37 圖)

1) Van Slyke 及 Cullen: J. Biol. Chem. 19, 211, 1914.

する導出管内には半ば脱脂綿にて充たし管内より細霧の次管に移行するこさなからしむべし。安門の殆んご大部分は初期 5 分間にして氣流の爲めに携出せらるるも完全を期する爲め通氣は之を 30 分間續行すべし。

通氣終はりたる時は B の導入管に附着したる酸をよく蒸留水にて洗滌し B 管内に残留する過剰の酸を N/50 NaOH にて滴定すべし。B 管内に初め加へたる酸量と残留したる酸量との差は尿中の尿素及び既成安門量の和を表はす。

尿中に存する既成安門量は稀釋せざる尿 5 cc を A に採り之に Caprylalcohol 及 5 cc の飽和炭酸加里を加へ通氣法によりて之を一定量の硫酸中に導き定量するこを得べし。

**計算** 安門にて中和せられたる  $\frac{N}{50}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の cc 數に 0.056 なる係數を乗する時は原尿 100 cc 中に於ける尿素 + 安門の窒素の g 數を得。之れより既成安門の量を控除すれば尿素窒素の價を得べし。

**注意:** i) **固形尿素酵素の調製** (Van Slyke 及 Cullen) 大豆粉 1 分を水 5 分と共に常温にて時々振盪しつつ放置したる後廻轉洗滌器若くは紙-Pulp を用ひて濾過し、此浸出液を徐々に攪拌しつつ 10 倍容の Aceton 中に加ふる時は Aceton の脱水作用により酵素含有質洗滌するにより濾過し、真空にて乾燥し、粉末として貯藏すべし。かくして得たる調材は永久に其活性を維持すべく、水に對しては溶解完全ならざるも之は使用に毫も障碍なし。

ii) **尿素酵素液の調製** 注意 i) の下に述べたる尿素酵素粉末調材 2 g を 0.6 g の K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及 0.4 g の KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> と共に 10 cc の水に加へ、Toluol を添加して冷所に之を貯ふべし。約 2 週間は其效力を維持することを得。

iii) **尿素酵素調材の效力檢定** 純粹なる尿素の 3% 溶液を作り此溶液を全く尿と同様の操作により(従つて 0.5 cc の液を用ゆることとなる)酵素にて水解し測定すべし。此時發生する安門は N/50 酸 25 cc を中和することを要す。若し悉く尿素を分解すること能はざれば酵素調材の使用量を増大するを要す。

iv) **通氣に要する時間** は Pomp の吸引力、氣泡の大きさ等使用に供せられたる装置の安門誘導力によりて異なるにより豫め其能力を檢定し置くを要す。之には 6.607% 硫酸安門液を作り、此溶液を 10 倍に稀釋し其 5 cc に 5 cc の飽和炭酸曹達を加へ通氣を行ひ幾分にして N/50 酸 25 cc が全く中和せらるるに至るかを調査すべし。



## 第53節 Amino-酸窒素の定量

Folin の比色法<sup>1</sup>

**原理** 尿を Permutit にて処理して安門を除去したる後之に Naphthochinon-sulfon-酸を加へて茲に發生する赤色色彩を基準 Amino-酸溶液より發生せしめたる色彩と計較して測定す。

**實施** 5—25cc の尿を 50cc の Elenmeyer の瓶内に於て稀釋して 25cc となし、之に 2—3 g の Permutit を加へ靜かに 5 分間攪拌し上清液を他の 50cc の硝子瓶に傾瀉し、更に 2—3g の Permutit を加へ前の如く 5 分間振盪し上清液を瓶又は試験管に移す。此 Permutit 處理により安門は全く除去せらる。液若し少しく濁濁するも測定に支障なし。25cc の處に標識を有する試験管に 0.1 n. HCl 及び 0.2% 安息香酸曹達を含有する基準 Glycocoll 溶液<sup>\*i)</sup> 1, 2 及 3 cc を別々に入れ、是等に順次に 1, 2 及 3 cc の特殊炭酸曹達液<sup>\*ii)</sup> を加(0.1 n. HCl 1 cc に對し 1 cc の特殊炭酸液を加)へたる後各管を稀釋して 10 cc となす。

5 cc の上記の如くして安門を除去したる尿を他の 25 cc 標識を有する試験管に採り、1 cc の 0.1 n. HCl 及び 1 cc の 1% 炭酸曹達液を加へ、10 cc に稀釋す、此尿及び基準 Amino-酸液の各々に 5 cc の Amino-酸試薬<sup>\*iii)</sup> を加へ、混合し、暗處に一夜放置す、始め 10—15 分経たる時試験管を取出し比較して若し尿を含む試験管が基準液の最も濃厚なるものよりも強く著色せる時は試験を改めて安門除去尿液 1, 2 及 3 cc を採り同様の處理を反復すべし。

翌日基準液及び未知液の各々に 1 cc の特殊 25% 醋酸醋酸曹達液<sup>\*iv)</sup> を加へ、且つ 5 cc の 4% の Thio-硫酸曹達液<sup>\*v)</sup> を追加し、水を以て 25cc 標識まで稀釋し、混和し、比色すべし。

**計算** 
$$\frac{\text{基準液の探讀値}}{\text{尿の探讀値}} \times 0.07 \times \frac{\text{基準液の量}}{\text{尿の量}} \times 100 = 100 \text{ cc 尿中の Amino-酸の mg 量}$$

注意: i) 基準-Amino-酸液 1 cc 中に 0.07 mg の窒素を含有する如くす。Glycocoll.

1. J. Biol. Chem. 51, 393, 1922.

Leucin Phenylalanin 又は Tyrosin 等を以て調製することを得。

- ii) 特殊炭酸曹達液. 50 cc の飽和炭酸曹達液を水にて 500 cc に稀釋し、之を以て Methyl-赤を標示薬としつつ 20 cc の 0.1 n. HCl を滴定し、炭酸曹達液 8.5 cc が 20 cc の 0.1 n. HCl と當量たる如く稀釋すべし。此の如き炭酸曹達の濃度は大約 1% なり。
- iii) Amino-酸試薬 250 mg の β-Naphthochinon-硫酸-Natrium を 50 cc の水に溶解したるもの。β-Naphthochinon の製法に就ては原著を参照すべし。
- iv) 特殊醋酸醋酸鹽溶液 100 cc の 50% 醋酸を同容の 5% 醋酸曹達液と混合したるもの。
- v) Thio-硫酸曹達液 4g の結晶 Thio-硫酸曹達を水に溶解し 100 cc となしたるもの。

## 第54節 Kreatinin 及 Kreatin

Kreatinin の定量 (Folin の比色法)<sup>1)</sup>

**原理** 此法の原理は Kreatinin が鹼性反應に於て Pikrin-酸に遇ひて Pikrin-酸-Kreatinin の赤色なる一變形を生成する反應 (Jaffe の反應) に基き比色法により定量するにあり。

**實施** Ostwald の量管にて 1 cc の尿を 100 cc の量瓶に入れ、他の量瓶には 1 cc の基準 Kreatinin-溶液 (1 cc 中に 1 mg の Kreatinin を含有す) を入れ、各々に 20 cc の飽和 Pikrin-酸溶液 (量筒にて測りて可なり) を加へ、更に各々に 1.5 cc の 10% NaOH (滴管又は量管にて精確に測るべし) を加へ、10 分間放置したる後、水を加へて標識まで満たし比色計によりて兩液を比較すべし此時基準液は 10, 15 又は 20 mm 何れの深さに定むるも差支なし。若し尿液の讀みが基準液の讀みの  $\frac{2}{3}$  よりも小なる時又は 1.5 倍より大なる時は尿の使用量を増減して測定を反復すべし。

**計算** 基準液の讀みを被檢液の讀みにて除したるものは攝取尿量中に存する Kreatinin の mg 數なり。

注意: i) Kreatinin の調製 (Folin-Benedict): 新鮮なる尿 10 l に攪拌しつつ 180 g の Pikrin-酸を含有する熱 Alcohol 450 cc を加へ翌朝まで放置したる後上清を管吸引し、殘渣を大なる Buchner の漏斗に移し、吸引排水し、1-2 回冷飽和 Pikrin-酸にて洗滌吸引す。かくして得たる殆んど乾燥したる Pikrin-酸鹽各 100 g に對し約 60 cc の割に濃鹽酸を加へ乳鉢内にて乳棒にて 3-5 分間よく研和し、硬化濾紙若くは硝子隔漏斗にて濾過し 2 回沈澱を蔽ふに足る量の水にて洗ひ其度に充分吸引す。濾液を大なる瓶に入れ固形酸化-Magnesium の過剰を加へて中和せしむ。之には少量宛酸化-Magnesium を加へ添加の間には流水下に瓶を冷却すべし。酸の中和せられたるは混合物が鮮黄色を呈するに至るを以て之を知り得べく又 Lackmus-紙にて之を検するを得べし。中和し終はりたる時は吸引濾過し、沈澱を 2 回水にて洗滌し、直ちに濾液に氷醋酸數 cc を加へて之を強酸性となすべし。沈澱發生することあるも意に介することなく溶液に 4 倍容の 95% Alcohol を加へ 15 分後に濾過し、濾液に 30-40 cc の 30% 鹽化亞鉛を加へ

1) Am. J. Physiol. 13, 48, 1905 : J. Biol. Chem. 17, 469, 1914

攪拌し翌朝まで冷所に之を放置すべし。上清を傾斜し Kreatinin-鹽化亞鉛を Buchner の漏斗に集め、水にて 1 回洗滌し、次て 50% Alcohol にて完全に洗滌し終りに 95% の Alcohol にて洗ひ、乾燥する時は殆んど白色の結晶粉を得。

Kreatinin-鹽化亞鉛を再結晶する爲めに 10 g の結晶を 100 cc の水及 60 cc の定規硫酸と共に煮沸して澄明なる溶液となし之に 4 g の獸炭を加へ約 1 分煮沸を繼續したる後小なる Buchner の漏斗にて吸引濾過し、濾液を 3-4 回漏斗の上に戻して濾液が全く無色に至るまで反復すべし。殘渣を熱湯にて洗滌し全濾液を樽杯に移し尙ほ熱き間に少量の濃鹽化亞鉛液 (3 cc) 及び少量の水にて 7 g の醋酸加里を溶解したるものを添加し、10 分の後同容量の Alcohol を加へ冷所に放置すること數時間にして濾過す。此結晶には尙少量の硫酸加里存在するを以て之を除去する爲めに沈澱を同容量の水と共に攪拌し、濾過し、少量の水にて洗滌し次で Alcohol にて洗ふべし、かくする時は純白の調材を得。

Kreatinin-鹽化亞鉛を分解するには其 32 g を加壓罐に入れ 225-250 cc の濃安門を加へ栓を施したる後 70-80° の水浴内に加熱し全く溶解せしめたる後迅速に室温まで冷却し亞で鹽水浴中にて冷却せしむれば純-Kreatinin 析出するを以て水冷安門にて洗ひ次に Aceton にて洗滌し、乾燥す。

Kreatin の定量 (Folin の微量法)<sup>1)</sup>

**原理** Kreatin を Pikrin-酸と共に加熱して之を Kreatinin に導き、酸處理の前後に於ける Kreatinin の量を測定して Kreatin の量を算出す。

**實施** 總 Kreatinin 0.7-1.5 mg を含有する如き量の尿を硬質製 Erlenmeyer 瓶 (容量 200 cc) に入れ、之に 20 cc の飽和 Pikrin-酸、約 130 cc の水及少數の柘榴石を加へたる後小燃子を用ゐて靜かに之を煮沸するこゝ約 1 時間なるべし。時間の終りには加熱度を増加し溶液を蒸縮して 20 cc よりも少量となす、硝瓶子内容を小量筒に移し水を加へて 20 cc となし流水下に冷却したる後之に 1.5 cc の 10% 苛性曹達を加へ 10 分の後に水を加へて悉く之を 100 cc の量瓶に移し全量を 100 cc となし、之を 1 mg の Kreatinin を含有する基準液と比色するこゝ前項 Kreatinin 測定に於けると同様にすべし。總 Kreatinin 量より Kreatinin を控除して Kreatin 量を得。

1) J. Biol. Chem. 17, 472, 1914

## 第55節 尿酸

1. Benedict 及 Franke の比色法<sup>1)</sup>

**原理** 稀釋したる尿を直接に砒磷-Wolfram-酸試薬及青化曹達にて處理する時發生する青色の度を基準尿酸溶液を同様に處理して得たる色調に比色して定量する法なり。

**實施** 10 cc 中に尿酸 0.15-0.30 mg を含有する如く尿を稀釋すべし之は通常 1:20 の稀釋を行へば可なり。此稀釋尿 10 cc を 50 cc の量瓶に入れ、之に 5 cc の 5% NaCN を滴管より加へ (Cyan-曹達は猛毒なれば常に滴管を用ふべし) 更に 1 cc の砒磷Wolfram 酸試薬<sup>\*i)</sup>を加へたる後靜かに振盪して混和し 5 分を経たる時蒸餾水を加へて 50 cc の標識まで充たしよく混和すべし。茲に發生したる青色を比色計を用ゐて基準尿酸液<sup>\*ii)</sup> 10 cc (0.2 mg の尿酸を含有す) を 50 cc の量瓶中にて 5 cc の NaCN 液及 1 cc の砒磷-Wolfram-酸試薬を混じ 5 分の後標識まで水を充たして得たる青色液を比色すべし。

**計算** 基準の讀 (15 又は 20 mm となすべし) を被檢液の讀にて除したるものに 0.2 を乗じたるものは稀釋尿 10 cc 中に含有する尿酸の mg 數を示す。

注意: i) Benedict の尿酸試薬及基準尿酸液に就ては第 194 頁を見よ。

2. Folin 及 Wu の微量法<sup>2)</sup>

**原理** 尿酸を乳酸銀にて沈澱せしめ、茲に得たる尿酸銀を鹼性青化曹達に溶解し之に尿酸試薬を加ふる時は強き色彩を發生するを以て同様に處理したる尿酸基準液の色を比色して定量す。

**實施** 1-3 cc の尿を 15 cc 内容の廻轉沈澱器に入れ之に水を加へて約 6 cc となし更に 5 cc の酸性乳酸銀<sup>\*i)</sup>を加へ繊細なる硝子棒 (直徑 1-2 mm) にて攪拌し、棒を 2-3 滴の水にて洗ひ落とし廻轉沈澱すべし、銀液の添加量充分なれば沈澱は速かに沈定す。試に一滴の乳酸銀液を添加するに若し此際沈澱發生せば尿量大に過ぎたるを示すものなるを以て尿の量を少にして試験を反復すべし、乳酸銀添加の際沈澱發生せざれば上清を可及的傾棄すべし。5 cc の基準尿酸-Formalin 溶液<sup>\*ii)</sup>の 5 cc を 100 cc の量瓶にさり 2 cc

1) J. Biol. Chem 52, 287, 1922. 2) J. Biol Chem. 38, 459, 1919.

の 15% 青酸曹達液を滴管より加ふ。之と同量の青酸曹達を廻轉沈澱管内の沈澱に加へ沈澱が全く溶解するまで攪拌したる後内容を 20 cc の 20% 炭酸曹達を用ゐて 100 cc の量瓶に注ぎ、之に尙 5 cc の水を加ふ。之と同時に基準液には 20 cc の 20% 炭酸曹達液を加へたる後、振盪しつつ各量瓶に 5 cc の尿酸試薬<sup>\*iii)</sup>を加へ放置するに 5 分、數秒間振盪し水を加へて標識まで達せしめ尙數秒間強く振盪す。混合後約 40 cc を傾瀉し置く時は尿酸試薬の分解によりて發生する沈澱の沈定するに容易なる。上清 (全く透明なるを要す) を比色計にて比色すべし。

**計算** 基準液は其 100 cc 中に 0.5 mg の尿酸を含有するを以て基準液の讀みを被檢液の讀みにて除したるものに 0.5 mg を乗する時は測定に用ひられたる尿中に存する尿酸の量を得。

注意: i) 酸性乳酸銀液は 5 g の乳酸銀、5 cc の乳酸及 5 cc の 10% 苛性曹達に水を加へて 100 cc としたるもの。

ii) 基準尿酸-Formalin 溶液の製法 0.6 g の炭酸-Lithium を約 120 cc の蒸餾水に溶解して濾過し濾液に 60 cc の水を加へ 65° に加熱す。一方には 1 g の尿酸を 1 l の量瓶に入れ熱湯中にて温め置き之に上記温炭酸-Lithium-溶液を加へよく振盪して尿酸を完全に溶解せしめ冷却したる後水を加へて約 800 cc とす。之に 10 cc の Formaldehyd (Merck 製 37-40%) を加へ混和す。之に 100 cc の水に 15 cc の濃硫酸を加へ冷却したるものを加へ、水にて標識まで充たす。此液は數ヶ月の貯藏に堪ゆ、之を原液とし其 10 cc を 100 cc に稀釋したるものを本定量に用ゆ。

iii) 尿酸試薬 (Folin 及 Denis) の製法 100 g の Wolfram-酸曹達を 1 l の量瓶に入れ之に 750 cc の蒸餾水を加へ振盪して全く溶解せしむ、少量の白色不溶性の残渣殘留するは Calcium の存在するが爲めなり。溶液に 80 cc の 85% 磷酸を加へ瓶の口に漏斗を置き漏斗の内に時計皿を入れ、上部を大時計皿にて蔽ひたる後靜かに、併し絶えず 2 時間煮沸す、此際屢々着色して黒變することあるにより數滴の臭素水を加へて脱色し更に 10-15 分間煮沸して臭素を驅除したる後、冷却し、水を加へて全量を 1 l とすべし。

iv) 定量終りたる時は使用したる溶液を直ちに棄除すべし。其中には青酸鹽存するを以て是等溶液は之を直接に排尿管内に棄つることを要す。

## 3. Folin-Schaffer の法

**原理** 尿中より磷酸其他の障碍物質を除去したる後安門を加へて尿酸を尿酸安門として沈澱せしめ洗滌したる後硫酸性に於て過-Mangan-酸加里にて滴定するにあり。

**實施** 100 cc の尿を Erlenmeyer の瓶に入れ之に 25 cc の Folin-Schaffer の試薬を加へ沈澱が沈降したる時乾燥したる濾紙を用ゐて乾燥したる樽杯若くは瓶に濾過すべし。沈澱は磷酸及或種有機物質にして其存在は尿酸の定量法に障碍あるものなり。濾液の 100 cc (尿の 80 cc に相當す) を Erlenmeyer の瓶に移し、之に 5 cc の濃安門を加へたる後 24 時間放置する時は尿酸は尿酸安門に變化するを以て之を硬化濾紙にて濾過し、完全に洗滌して母液を除去すべし。

此目的には瓶内に可成的母液が残留せざる如く傾斜し瓶壁に附着したる尿酸安門は 10% 硫酸安門 10-20 cc 宛を用ゐて幾回も洗滌し、洗滌液にて漏斗上の沈澱を洗滌し最終の洗滌液が最早鹽素を含有せざるに至らしむべし。茲に於て漏斗を初め尿酸安門を沈澱せしめたる瓶の上に置き、漏斗上にて濾紙を注意して開き熱湯を灌頂して沈澱を濾紙より漏斗を通じて瓶中に返還すべし。約 100 cc の熱湯を用ゆれば事足るべし。瓶の内容物を冷却せしめ、之に 15 cc の硫酸を加へ、直ちに  $\frac{N}{20}$  KMnO<sub>4</sub> 液にて滴定すべし。攪拌するこゝ 30 秒なるも全液が尙緩かに桃色を呈するに至らば滴定を止めて可なり。

**計算**  $\frac{N}{20}$  KMnO<sub>4</sub> の 1 cc は 3.75 mg の尿酸に相當するにより滴定に費消したる過-Mangan-酸加里液の cc 數に 3.75 を乗じたるものは 80 cc の原尿中に有する尿酸量なり従つて之に  $\frac{5}{4}$  を乗じたるものは原尿 100 cc の尿酸量 (mg) を示す。但し尿酸安門の溶解度を補正する爲め之に 3 mg を加ふるこゝを要す。

**注意:** i) Folin-Schaffer の試薬は 500 g の硫酸安門、5 g の醋酸-Uran 及 60 cc の 10% 醋酸を 650 cc の蒸留水に溶解したるものなり。

## 第 56 節 馬尿酸の定量

Griffith の法<sup>1</sup>

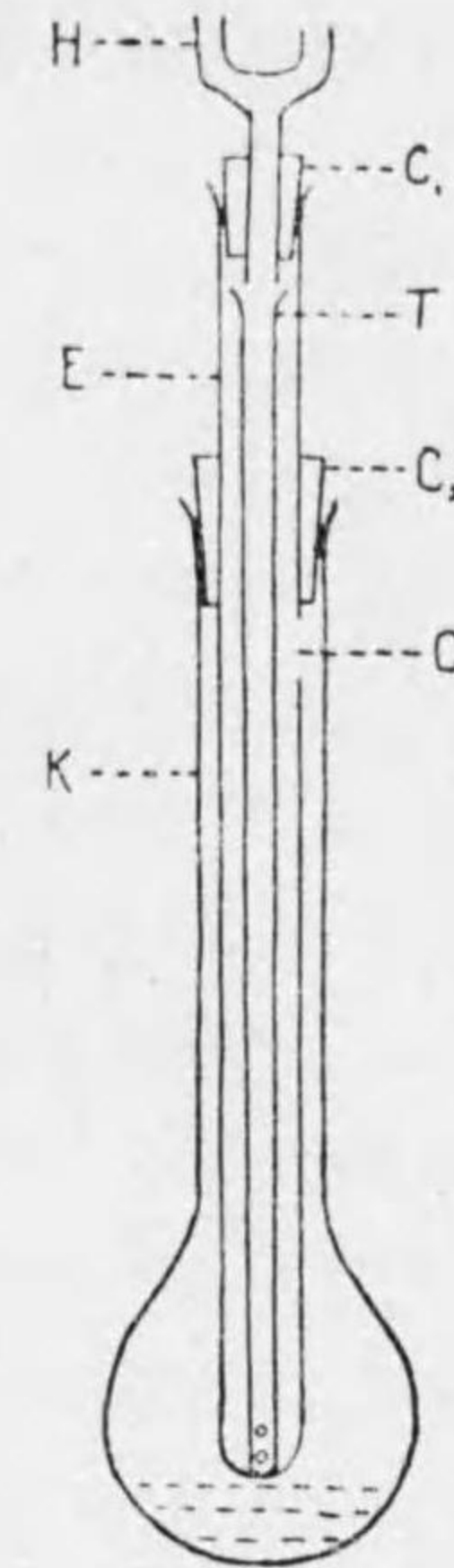
**原理** 馬尿酸を不斷浸出器にて Ether を以て浸出し、Ether を蒸發して得たる残渣に臭素及び次亞臭素酸曹達を作用せしめて尿素の痕跡を破壊し、馬尿酸窒素を Kjeldahl の方法にて定量す。

**實施** 10 cc の蛋白質を含有せざる尿 (馬尿酸を 150 mg より大量に含有すべからず) 及び 0.1 cc の濃鹽酸を浸出管 (E) 中に入れ、500 cc の Kjeldahl 瓶 (K) 中に 100 cc の Ether 入れ、圖の如く連結し、瓶の下部を 60-70° に熱したる水浴内に浸し、1 時間浸出を行ふべし、Ether を蒸餾し去り、残渣に 5 cc の次亞臭素酸曹達液<sup>\*)</sup> を加へ 1 分間振盪したる後 2 cc の硫酸 (1:5 稀釋) を加へよく混和し、更に 2 cc の 25% NaOH 及び 2 cc の次亞臭素酸液を添加し 1 分間振盪す、夫より瓶中の窒素を Kjeldahl の法に従ひて測定すべし。

**計算** 安門にて中和せられたる 0.1 N 酸の cc 量を y ミすれば

$$y \times 1.4 \times \frac{179}{14} = 10 \text{cc 尿中の馬尿酸の mg 量}$$

**注意:** i) 次亞臭素酸曹達液 12.5 g の臭素及び 12.5 g の臭化-Natruim を 100 cc の水に溶解したるものを同容の 25% NaOH と混合して作る。



第 38 圖

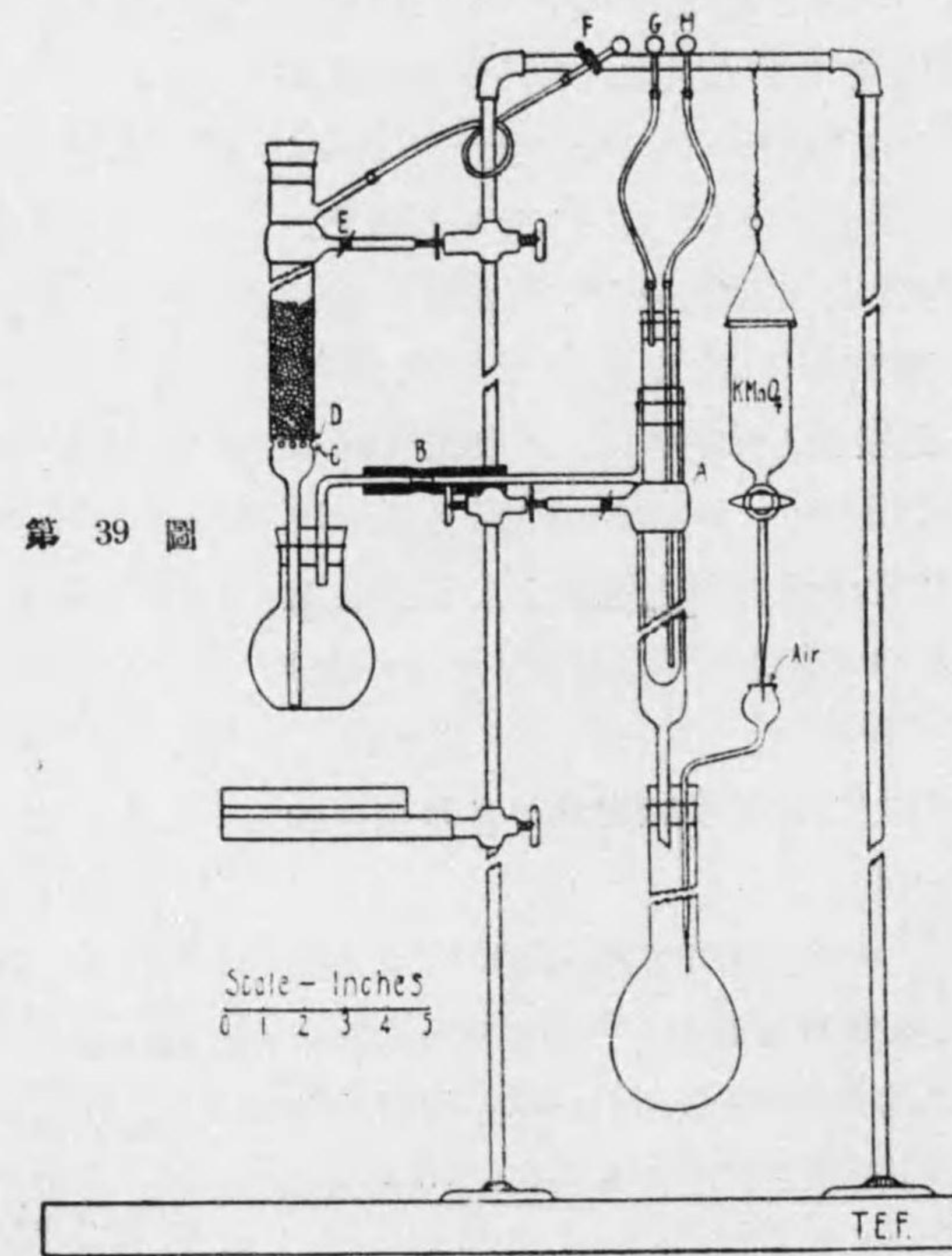
K. 500 cc の Kjeldahl 瓶  
E. 420×15 mm の硝子管にして側壁に孔 O を有す。  
T. 400×6 mm の硝子管にして上方展開し、底部に小孔を具ふ。  
H. 冷却器

1. J. Biol. Chem. 69, 197, 1926.

## 第57節 乳酸の定量

Friedemann, Cotonio 及 Shaffer の法<sup>1</sup>

原理 乳酸を尿中より Ether にて浸出し之を燐酸及び過-Mangan-酸加里にて処理して Acetaldehyd をなし ( $\text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ ), Aldehyd を酸性亜硫酸曹達と結合せしめ ( $\text{CH}_3\cdot\text{CHO} + \text{NaHSO}_3 \rightarrow \text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{SO}_3\text{Na}$ ), 此結合したる亜硫酸を基準沃度液にて滴定す,



装置 Aは還流冷却器にして300 ccの Kjeldahl の瓶の栓に挿入せらる。此栓には空気及び  $\text{KMnO}_4$  を導く硝子管も亦挿入せらる。Kjeldahl の瓶は冷却器にて支へられ別に扼子を要せず冷却器の内外兩管の壁間は 1-2

1. J. Biol. Chem. 73, 335, 1927.

mm に止まるを要す, CDEは硝子玉を含有する塔にして重亜硫酸鹽を含む150 ccの廣口を有する浸出瓶に連なり。其浸出瓶は Gorn 栓を貫く硝子管により Bに於て冷却器に通ず, 塔は硬質硝子管より成り中に有孔の硝子板若くは陶土板(C)を有し其上に約8 cmの高さに硝子玉を載す, 塔の上部は栓を以て閉ぢ其上方に近く硝子管枝を有し水流 Pump に續なきて氣流を通ぜしむるここを得しむ。全装置はA及Eの滴管扼子によりて支柱に固定せらる。酸化終りたる時浸出瓶を外づし其下の柵まで下げ, 塔及び硝子玉を5 ccの水にて5-7回洗滌し, 瓶内容を滴定す。

實施 尿若し蛋白質を含む時は5 ccの尿に0.5 ccの10% Wolfram-酸曹達及び0.5 ccのN. 硫酸を加へて之を濾去し, 濾液の2 cc又は蛋白質を含まざる尿2 ccを Griffith 型の不斷浸出管に入らしむ, 浸出管の下部は細くして2 ccの尿が約10 ccの深さを占むるを可さす, 50ccの Ether を瓶の中に入れ, 尿に數滴の濃厚燐酸緩衝劑(pH 7.0)を加へ15分間浸出して遊離 Phenol を除きたる後1.3 gの硫酸安門及び數滴の濃硫酸を加へ, 新鮮なる Ether を以て30分間浸出す, Ether 浸出液には100 ccの水, 1滴の5% Phenolphthalein 及び適性反應を丁度呈するに足る量の0.1 N NaOH を入れ, 水を以て300 ccの Kjeldahl 瓶中に洗ひ入れ, 10 ccの硫酸-硫酸第一 Mangan-溶液<sup>(\*)</sup> 及び水を加へて全量を80-100 ccとす, 滑石粉一撮を加へ, 瓶を冷却器に續なき吸引 Pump を動かし, 小燃子にて熱し1-2分間強く煮沸せしめ蒸餾液を受容瓶中に集む, Aceton 又は他の揮發性の物質にして亜硫酸と結合するものなければ此蒸餾を行はざるも可なり, 加熱及び通氣を止め, 受容器を改む, 此受器中には5-10 ccの重亜硫酸曹達<sup>(\*\*)</sup> を乳酸に對するよりも5 cc以上多く加へ置き水を塔中の硝子玉を蔽ふまで加ふ。之より加熱及通氣を復活し過-Mangan-酸鹽溶液<sup>(\*\*\*)</sup> を溶液が常に殆んど無色に止まる程度に漏斗管より滴下し桃色の褪色の速度緩慢なるに至らば暫時滴下を止め色の褪色するを待ちて, 又徐々に滴下し桃色が約1分間持續するに至らしむ, (之には約10分を要すべく又二酸化-Mangan は分離すべし) 夫より尙5分間煮沸し, 焔を去り, 通氣を止め, 受容器を外づし, 塔を5 ccの水にて5-7回洗ひ, 過剰の重亜硫酸鹽を初め0.1-0.05 N 沃度<sup>(iv)</sup>

にて澱粉<sup>v)</sup>を標示薬として滴定し、終點に近ける時には0.01-0.005 N 沃度にて弱青色まで滴定す、若し過剰の沃度を加へたる時は Thio-硫酸にて滴定し返すべし、結合したる重亜硫酸鹽を5-10 ccの飽和 NaHCO<sub>3</sub>を加へて遊離せしめ、稀薄沃度液を以て弱青色まで滴定すべし、之は30秒位の間に行ふべし、空測定を同一試薬を用ひ通氣を行ひて施行すべし、(Aceton又は Aldehyd は測定を行ふ室内に存在せしめざる如く注意すべし)、空測定値を本測定値より控除すべし。

**計算** 0.01 N 沃度1 ccは0.5ccの0.01 M Acetaldehyd 又は乳酸に相當し、乳酸の0.45 mgに當る。

**注意:** i) 硫酸-硫酸第一 Mangan-溶液 285 ccの濃硫酸及び100 gの MnSO<sub>4</sub>を水に溶解し1 lとなすべし。

ii) 重亜硫酸曹達 SO<sub>2</sub> Gas を飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 液に通じ溶液が過剰 SO<sub>2</sub> の爲に綠變するに至らしむべし、用に際し稀釋して1%となすべし。

iii) 過-Mangan-酸加里液 約0.1 Nの根本液(3.1 gを1 l中に含むもの)を割度圓筒内にて0.01又は0.002 Nに稀釋して用ふべし。

iv) 沃度液 0.1 N沃度を新鮮なる5% KI液にて稀釋して用ふべし。(Scott, 1936)

v) 澱粉 20分間煮沸したる2%の澱粉溶液を放置し上清液を用ふべし。

## 第58節 糖 の 定 量

### Benedict の法<sup>1)</sup>

**原理** Benedict の試薬中には硫-Cyan-酸加里存在する爲め還元によりて發生したる亞酸化銅は硫-Cyan-酸第一銅鹽の白色沈澱として析出す、又少量のFerrocyan-加里によりて亞酸化銅を溶存せしむ、沈澱白色なる爲め脱色の終末點を正確に決定するここを得、滴しては炭酸曹達を用ひたる爲め糖の破壊せらるることも少し、又試薬は長時の貯藏に堪ゆる便あり。

**實施** 10倍に稀釋せられたる尿(尤も糖の含量小なる時は稀釋する必要なし)を滴管に入れ零標點まで達せしむ、25ccの試薬<sup>ii)</sup>を量管によりて直徑25-30 cmの磁製蒸發皿に採り、之に10-20 gの結晶炭酸曹達(又は半量の無水炭酸曹達)と少量の粉碎輕石又は滑石を加へ、裸焰上に煮沸して炭酸鹽を全く溶解せしめたる後、之に尿を滴管中より寧ろ速かに注入し白色の沈澱發生し混合物の青色が明かに減退するに及びて滴管よりの注加の速度を一度に數滴宛にし青色の全く消褪するに至るまで滴定すべし、滴定の際には溶液を常に強く煮沸すべし、若し水分蒸發して溶液濃厚に過ぐるに至らば時々水を添加するも可なり。

**計算** 25ccの銅液は50 mgの葡萄糖にて還元せらるるにより滴管より注加せられたる尿中には50 mgの糖を有す、故に若し10倍に稀釋せられたる尿x ccにて銅液が還元せられたりせば原尿は $\frac{0.050}{x} \times 1000\%$ の糖を含有す。

**注意:** i) 此測定の際尿は Chloroform を含有すべからず、若し Chloroform を防腐劑として加へたる時は之を煮沸によりて驅除し尿を原量まで稀釋したる後測定を行ふべし。

ii) Benedict の試薬 硫酸銅(結晶)18.0 gを約100 ccの水に溶解し、之を豫め200.0 gの炭酸曹達(結晶性のもの、若し無水の炭酸曹達を用ふる際は其半量にて可なり)、200.0 gの枸橼酸曹達又は加里及び125.0 gの Rhodan-加里を水に溶解して800 ccとなしたるものの中に徐々に絶えず攪拌しつつ注加し之に5.0 ccの5%の Ferrocyan-加里液を加へ、冷却し、1 lとなす、銅鹽は極めて正確に之を秤量すべし、25 ccに試薬は50 mgの葡萄糖にて還元せらる。

1. J. Am. Med. Assocn. 57, 1193, 1911.

## 第59節 Urobilin,原の定量

Wallace 及 Diamond の法<sup>1</sup>

**原理** 尿を順次稀釋して Urobilin-原を Ehrlich の Aldehyd-試薬を合したる時赤色を呈せざる點を求むるにあり。

**實施** 1 cc の Ehrlich の試薬を 10 cc の尿に加へ 3-5 分間放置す、其際發現する著色の速度及び強さによりて Urobilin-原含量の觀念を得べし。色若し淡赤色(正常値)ならば稀釋する必要なし。之よりも著色の度大なれば 1:10—1:200 の稀釋を行ひ試験を反復すべし、尿を稀釋する水は水道の水にて可なるも餘り寒冷ならざるを要す。淡桃色の色彩を止むる迄に要する稀釋度にて結果を表はす。此試験は直射せざる日光下に之を行ふを可し。

**注意:** i) Ehrlich の Aldehyd 試薬 2 g の p-Dimethylaminobenzaldehyd を 100 cc の 20% 鹽酸に溶解したるもの。

1. Arch. Internal Med. 35, 698, 1925.

## 第5-1節 無機燐酸鹽の定量

Youngburg の法<sup>1</sup>

**原理** Molybden-酸鹽溶液を尿に加へて燐-Molybden-酸鹽を發生せしめ之を第一鹽化錫にて還元して得たる青色化合物の色彩を比色して測定す。

**實施** 1 cc の尿を 100 cc に稀釋し、其 1 cc 及 2 cc を二本の 10 cc に標識を有する試験管<sup>\*)</sup> (18×150 mm) に移し、又同様な第三の試験管に基準燐酸鹽液<sup>iv)</sup> 2 cc (0.02 mg P を含む) を入れ、各管に水を加へて約 6 cc となし之に 2 cc の Molybden-硫酸混合液 A, <sup>\*)</sup> 1 cc の稀薄第一鹽化錫溶液<sup>iii)</sup> を添加し、水を以て標識まで充たす、鹽化第一錫を加へ水を標識まで充たし之を混和する處理は迅速なるを要す。1 分の後基準液の色に近き方の被験液を以て比色すべし、若し色調の差基準液の 30% を超ゆる時は尿の量を調整して測定を反復するを要す。

**計算** 
$$\frac{\text{基準液の讀}}{\text{未知液の讀}} \times 0.02 \times \frac{100}{\text{用ひたる尿量}} = 1 \text{ cc の尿中に於ける P の mg 量}$$

- 注意:** i) 50 cc の量瓶を用ひ上記の尿若くは基準液の 5 倍量を之に容るるも可なり。  
 ii) Molyden-硫酸混合液 A 50 cc の 7.5% Molyden-酸曹達を 50 cc の 10 N 硫酸に混合したるもの。  
 iii) 第一鹽化錫液 根本液として 10 g の純第一鹽化錫を 25 cc の濃鹽酸に溶解したるものを褐色の共口瓶に貯ふべし。此根本液 0.5 cc を 100 cc に稀釋したるものを用ふ。此稀釋液は 5 日以後は之を使用せざるを可とす。  
 iv) 基準燐酸鹽溶液 根本液として 0.4394 g の純一加里燐酸鹽を水に溶解し 100 cc となしたるものを作る。此液 1 cc は P の 1 mg を含む。  
 基準液としては此根本液 1 cc を 100 cc に稀釋して用ふ。稀釋液 1 cc は 0.01 mg の P を含有す。

1. J. Lab. Clin. Med. 16, 158, 1930.

## 第5-2節 鹽素

## Volhard-Arnold の法

**原理** 尿に硝酸を加へて酸性をなし其中に存する鹽化物を一定量の過剰基準硝酸銀溶液にて沈澱せしめたる後鹽化銀を濾過し、濾液中の過剰硝酸銀を基準硫-Cyan-酸安門にて歸滴定す、此時硫酸鐵安門を標示薬として用ゐる硫-Cyan-酸鹽の過剰により生ずる硫-Cyan-酸鐵の赤色が發現する時を以て滴定の終結點とすべし。

**實施** 10 cc の尿を 100 cc の量瓶に入れ之に 20-30 滴の硝酸 (比重 1.2) 及 2 cc の冷飽和鐵明礬を加ふ。此際若し赤色發生せば 2-3 滴の 8% 過-Mangan-酸加里を加へて之を退散せしむるもよし。混合液を靜かに振盪しつつ之に徐々に滴管より 20 cc の基準硝酸銀液<sup>\*i)</sup>を添加すべし。(若し鹽化物尙過剰に存在する時は勿論硝酸銀の添加量を増大することを要す)。

混合物を 10 分間放置したる後蒸留水を加へて標識まで充たし量瓶の内容を十分に混和し、次で乾燥したる濾紙を通じ乾燥したる器内に濾過すべし。濾液の 50 cc を量管にて採取し Erlenmeyer の錐杯中に於て硫-Cyan-酸安門の基準溶液<sup>\*ii)</sup>を以て滴定し液が永久に微紅色を帶ぶるに至りて止むべし。

**計算** 滴定に費消せられたる硫-Cyan-酸安門の cc の數は濾過液の 50 cc 内に於ける過剰硝酸銀に相當するものなるを以て此讀を 2 倍し之を初め加へたる硝酸銀の cc の數 (20 cc) より控除する時は 10 cc 尿中に存する鹽化物を沈澱するに用ゐられたる硝酸銀の cc 數を得べし。

10 cc の尿中にある NaCl の g 量を求むるには之を沈澱するに用ゐられたる基準硝酸銀の cc 數に 0.010 を乗すべし。従つて尿中に於ける NaCl の百分比にて表はさんせば此數を 10 倍すれば可なり。

若し NaCl に代ふるに Cl の重量若くは百分比を以て示さんご欲せば上記 0.010 の係數の代りに 0.006 なる係數を用ふることを要す。

注意: i) 基準硝酸銀溶液 29.061 g の硝酸銀を蒸留水に溶解して 1 l とすべし。

此溶液の 1 cc は 0.01 g の NaCl 又は 0.006 g の鹽素に相當す。

ii) 硫-Cyan-酸鹽は其 1 cc が 1 cc の基準硝酸銀液に相當する如く作製すべし。

即ち 13 g の硫-Cyan-酸安門  $\text{NH}_4\text{SCN}$  を稍々 1 l より小なる水に溶解し其一部を滴管に盛る。之と同時に Erlenmeyer の錐杯中に 20 cc の基準硝酸銀溶液、5 cc の鐵明礬、4 cc の硝酸 (比重 1.2) 及 71 cc の水を加へよく混合し、此混合物に上記滴管内硫-Cyan-酸安門液を滴下して赤褐色の色彩が永久に存在するに至らしむべし。滴管内硫-Cyan-酸鹽の消費量を讀み 10 cc の銀液に對し全く此液の 10 cc が該當する如く稀釋せしむる爲めに加ふべき水の量を計算すべし。例へば硫-Cyan-酸鹽の消費量が A なる時は此液 A cc に對し 10-A cc の水を加ふれば可なるを以て硫-Cyan-酸鹽の殘留容量に此値を乗じて得たる量の水を殘留液に加ふべし。稀釋後再び銀液に對し滴定を行ひ硫-Cyan-酸鹽が適當の濃度を有することを確定し置くべし。



### 第5-3節 總硫黃, 總硫酸及び無機硫酸鹽

#### 1. 總硫黃(重量分析, Benedict の法<sup>1)</sup>, Givens の變法<sup>2)</sup>)

**原理** 尿に硝酸銅及び鹽素酸加里の溶液を加へて蒸發し灼熱して有機物質は之を破壊し, 凡ての非酸化性硫黃は之を硫酸に酸化したる後之を常の如く鹽化-Barium にて沈澱せしむ. 簡單にして且精確なる法なり.

**實施** 10 cc の尿を口径約 7-8 cm を有する小なる蒸發皿に採り之に 10 cc の Benedict の硫黃試薬<sup>\*)</sup>を加へたる後注意して小焔上に直接加熱し(電氣加熱板を用ひ, “弱熱”に振すれば更に可なり)飛散せしめざる様内容を蒸發乾涸し, 更に焔を大にし(電氣加熱板上にて蒸發したる時は Bunsen の焔上に移し)十數分間充分に灼熱し凡ての NO<sub>2</sub> を驅逐し, 凡ての鹽素酸鹽を分解すべし. 茲に於て焔を去り蒸發皿を放冷せしめたる後之に 10-20 cc の稀薄鹽酸(1:4)を加へて完全に溶解せしめ清澄なる溶液を得べし(溶解は2分以上に互るこまなくして之を行ふこまを得べし)溶液を攪拌棒の扶により盡く小なる Erlenmeyer の瓶中に洗注し冷蒸餾水を加へて 100-150 cc になし之に 10 cc の 10% 鹽化-Barium 液を滴下し約 1 時間其儘放置したる後よく振盪し豫め秤量せる Gooch の坩堝を用ひて濾過す. 此の硫酸-Barium の重量を測定すべし. 此際常に測定に用ゐたる試薬を以て對照試験を行ひ其中に含有せらるる硫黃の量を確定するを要す.

**計算** 測定によりて得たる硫酸-Barium の重量を A とすれば 10 cc の尿中に存する全硫黃量は S 若くは SO<sub>3</sub> として次の式により之を求むるこまを得

BaSO<sub>4</sub> の分子量 : S の原子量 :: BaSO<sub>4</sub> の重量 : S の重量

233.43 : 32.06 :: y : x (S としての重量)

又は BaSO<sub>4</sub> の分子量 : SO<sub>3</sub> の分子量 :: BaSO<sub>4</sub> の重量 : SO<sub>3</sub> の重量

233.43 : 80.06 :: y : x' (SO<sub>3</sub> としての重量).

注意: i) Benedict の硫黃試薬:

結晶性硝酸銅	200 g
鹽素酸-Kalium 又は Natrium	50 g
蒸餾水を加へて	1000 cc.

1. J. Biol. Chem. 6, 363, 1909. 2. J. Biol. Chem. 29, 15, 1917.

#### 2. 總硫酸鹽(重量分析, Folin の法<sup>1)</sup>)

**原理** 抱合性硫酸鹽を酸と共に煮沸して硫酸を遊離せしめ之を既成硫酸鹽と共に鹽化-Barium にて沈澱せしむ.

**實施** 25 cc の尿を 250 cc の Erlenmeyer の瓶に入れ之に 20 cc の稀鹽酸(濃鹽酸 1 分を水 4 分に加へたるもの)を加へ瓶口を小なる時計皿にて蔽ひつつ 30 分間靜かに煮沸したる後流水下に之を冷却し, 蒸餾水を加へて約 150 cc に稀釋すべし. 次に 10 cc の 5% 鹽化-Barium 溶液を一滴宛靜かに加へ此際毫も溶液を振盪すべからず又添加後 1 時間は之を振盪するこまなく其儘放置するこまを要す. 1 時間經過したる時は無灰濾紙を用ひて之を濾過し硫酸-Barium の沈澱を悉く濾紙上に集め約 250 cc の冷水を以て之を洗滌し, 濾紙を乾燥し, 次で之を豫め灼熱, 除濕器内冷却, 秤量を経たる坩堝内に入れ, 燃焼し, 残渣が殆んど全く白色なるに至らしめ, 除濕器内にて冷却せしめ後秤量すべし. 更に之を灼熱し, 冷却して, 再び秤量し, 重量不變となりて止む.

**計算** 坩堝及び硫酸-Barium の重量より坩堝の重量を控除して硫酸-Barium の重量を求め之より次の式により供試尿中の SO<sub>3</sub> の重量を知る.

BaSO<sub>4</sub> の分子量 : SO<sub>3</sub> の分子量 :: BaSO<sub>4</sub> の重量 : x (SO<sub>3</sub> の重量)

233.43 : 80.06 :: y : x

#### 3. 無機硫酸(重量分析, Folin の法<sup>1)</sup>)

**實施** 25 cc の尿を 250 cc の Erlenmeyer の瓶に入れ之に 100 cc の水及 10 cc の鹽酸(1:4)を加へてよく混和し, 更に之に 10 cc の 5% 鹽化-Barium を一滴宛加へ添加の際にも, 又添加後 1 時間の間にも毫も之を振盪するこまなく靜かに放置すべし. 1 時間の終りに之を無灰濾紙を以て濾過し處理するこま上記總硫酸の定量と同様にすべし.

#### 4. 總硫黃, 總硫酸及無機硫酸の容量分析法

(Fiske の改良したる Rosenheim 及 Drummond の法)<sup>1)</sup>

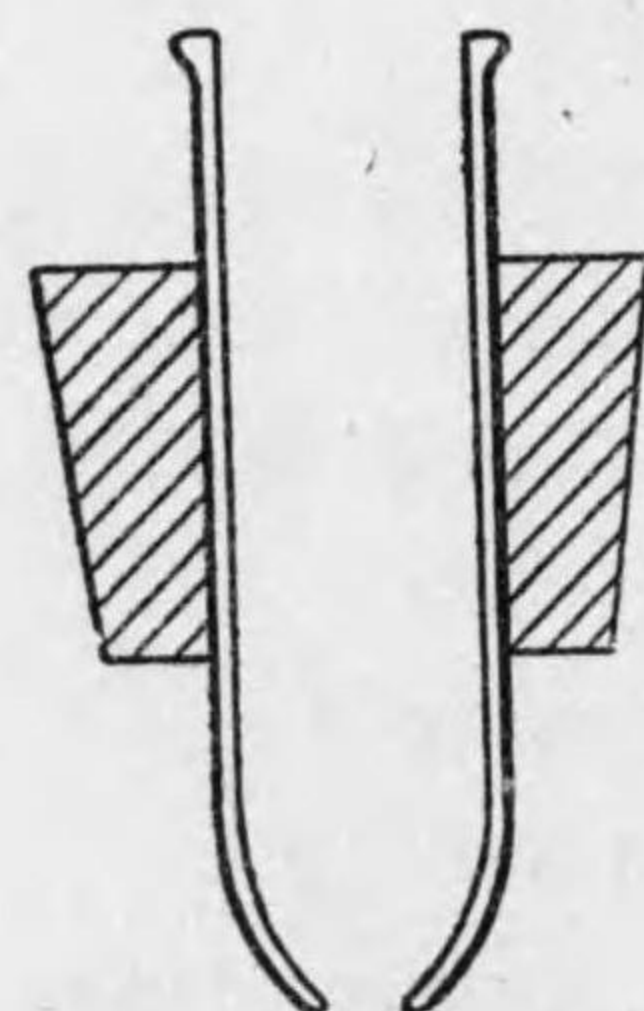
**原理** 無機硫酸鹽は其儘又抱合性硫酸鹽は鹽酸と共に煮沸して遊離

1. J. Biol. Chem. 1, 131, 1905-06.

せしめたる後、又中性の硫黄は Benedict の試薬と共に加熱し酸化せしめて硫酸に變ぜしめたる後硫酸鹽を Benzidin 溶液にて沈澱せしめ之を N/10 KOH にて Phenolphthalein を標示薬として滴定するに Benzidin は弱滴として標示薬に反應せざる爲硫酸のみを滴定するこゝを得。

**實施 磷酸鹽除去：** 50 cc の量瓶中に無機硫酸の状態に於て 5-10 mg の硫黄を含有する如き尿(通常 5-10 cc の尿)を入れ、水を加へて約 25 cc に稀釋し、1 滴の Phenolphthalein 溶液及 1 滴の濃安門(又は溶液を薄桃色となすに必要なる量の安門)を加へたる後、5 cc の 5% の鹽化安門を添加し、次で水を加へて標識まで至らしめ、よく混和すべし、溶液を約 0.75 g の細末濾性炭酸-Magnesium を容れたる乾燥 Erlenmeyer-瓶に移し、1 分間振盪し、浮游液を直径 9 cm の濾紙の上部に至るまで十分に満たし、初め濾過したる部分は之を元の Erlenmeyer 瓶に戻したる上、更に全浮游體を同じ濾紙を通じて乾燥したる容器内に收容すべし。

**無機硫酸鹽の定量：** 上記濾液の 5 cc を滴管にて 100 cc の樽杯に移し、之に 2 滴の 0.04% Bromphenol-青 Alcohol 溶液及び 5 cc の水を加へたる後約 1N の HCl を一滴宛之れに添加して青色が全く消退し溶液が黄色を呈するに至らしむ。爰に於て量管より 2 cc の Benzidin 試薬<sup>\*</sup>を注加し 2 分間放置せしむ。終りに 4 cc の 95% Aceton を加へ更に 10 分間放置したる後第 40 圖の如き特殊の濾過管内にて紙層を通じて濾過し、樽杯



第 40 圖

及び漏斗を 1 cc の 95% Aceton を以て 3 回洗滌し、次に 1 回 5 cc にて洗滌したる後約 2 cc の水を濾過管に入れ、沈澱及紙層を尖銳の Nichrom 線にて管の下端を通じて大硬質試験管内に貫通し、數滴の水にて線を洗ひ、濾過管を試験管の口に懸けたる儘試験管の内容を煮沸するに至るまで加熱し、之に 2 滴の 0.05% Phenol-赤の水溶液を加へたる後濾過管を通じ微量滴管より約 1 cc の 0.02 N NaOH を加へ、濾過液の内壁を 2-3 cc の水にて洗ひ落し再び試験管を煮沸せしめて水蒸氣が盛んに發散するに至ら

しめ、又更に充分の水を以て濾過管を洗滌し試験管内液量を約 10 cc となすべし。かくする時は濾過管内の沈澱は悉く除去せらるるを以て濾過管を去り試験管内容に 0.02 N NaOH を加へて滴定を繼續すべし、液の色彩が黄より赤に變じ初めたる時は再び之を煮沸し熱溶液を初め沈澱を作成せしめたる樽杯内に注ぎ又試験管内に戻すべし。此の如き操作により樽杯の壁に膠着し居りたる沈澱は全く分解せらるべし、此時より以後は基準滴液の注加を注意して行ふを要し一回の添加量は 0.02 cc を超ゆべからず。溶液を煮沸するも桃色の色彩を失はざるに至りて滴定を了す。

0.02 N NaOH の 1 cc は 0.32 mg の S に相當するにより滴定滴量に 0.32 を乗する時は 5 cc の尿中に無機硫酸鹽として存する S の mg 數を得。

**總硫酸鹽：** 第一段にて得たる濾液の 5 cc を 100 cc の樽杯に採り之に 1 cc の 3 N HCl (大約にて可なり)を加へ水浴上に加熱して全く蒸發乾固せしめたる後更に 10 分間加熱を繼續し、之より直ちに 10 cc の水を加へ、樽杯を廻轉しつつ残渣を破壊すべし。之に 2 cc の Benzidin 試薬を加へ、二分後に 4 cc の Aceton を加へ硫酸を定量するこゝ全く第二段と同様にすべし。計算も全く第二段と同様なり。

**總硫黄** 0.25 cc の Benedict の硫黄試薬を直径 6 cm の蒸發皿に移し之に第一段にて得たる濾液 5 cc を加へ蒸發乾固せしむ(可成的“弱熱”の電氣板を用ゆるを可す)。夫より加熱の度を増加し終に小燃子を用ゐて灼熱し赤熱下に 2 分間放置し内容が全く黒變するに至らば燃子を去り放冷せしむるこゝ 5 分間。之に 1 cc の 3 N HCl を加へ、再び蒸發乾固に至りたる時は残渣を約 5 回 2 cc. 宛の水にて 100 cc の樽杯中に滌注し、1 滴の HCl を加へたる後、Benzidin 試薬及 Aceton にて沈澱せしむるこゝ上記第二段及第三段と同様に爲すべし。其後の操作も亦全く之に準ず但し 3 回 1 cc 宛の 95% Aceton にて洗滌する代りに初めは 2 cc の 50% Aceton, 後この 2 回は 1 cc 宛の 95% Aceton を用ゆべし(然らざれば銅を全く除去するこゝ難し)。計算 上記第二段及第三段の場合と同じ。

### 第5-4節 尿中に於ける固定滴, Calcium 及硫酸鹽の微量定量

#### Hoffman の法<sup>1</sup>

**原理** 尿中の磷酸鹽及蛋白質等を除去したる濾液を作製す(原濾液). 固定滴の定量には原濾液に硫酸を加へて灰化し水及 Benzidin 溶液(2 cc)を加へ無機硫酸鹽を Benzidin-硫酸鹽として沈澱せしめて之を濾別し濾液を 0.02 N の NaOH にて滴定す. 此滴定値に容積の補正をなしたる値を Benzidin 溶液(2 cc)のみの滴定値より減じたる値は沈澱せし Benzidin-硫酸鹽中の硫酸の量即最初に結合し居たる滴の量に相當す.

Calcium は之を原濾液より蓚酸鹽として沈澱せしめ此蓚酸を過-Mangan-酸加里にて滴定す.

無機硫酸鹽は其儘, 總硫酸鹽は鹽酸にて處理したる後硫酸鹽を Benzidin 溶液にて沈澱せしめ之を 0.02 N の NaOH にて滴定するに Benzidin は弱滴として標示薬(Phenol-赤)に反應せざる爲硫酸のみを滴定することを得.

**實施 原濾液の作製** 15 cc の尿を内容 60 cc の精密に 25 cc の處に刻度を有する大なる硬質試験管に測り入れ, 之に 10% の醋酸又は 10% の安門を加へて Methyl-赤に對して微酸性をなす. 更に 0.2 N の鹽酸中に鹽化第二鐵を 10% の割合に含有する溶液 0.2 cc, 次で 5% の醋酸安門 4 cc を加へ, 水にて 25 cc をなし絶えず振盪しつつ注意して裸焰にて煮沸する迄加熱すべし, 沸騰點にて尠大なる沈澱發生す. (此沈澱中には總ての磷酸鹽は磷酸鐵及有機磷酸鹽として, 過剰の鐵は總べて鹽基性醋酸鐵として, 蛋白質, 脂肪等も亦大部分の尿中色素と共に存在す). 直ちに小なる無灰濾紙にて濾過すべし, 約 22 cc の濾液を得. 沈澱は煉瓦赤色なるべきも若し灰褐色を呈すれば鹽化鐵の量は總べての磷酸鹽を沈澱せしむるには不充分なるの證なるを以て此際には尿 15 cc の代りに 10 cc を測定に供すべし.

**固定滴の定量** 原濾液 2 cc (尿 1.2 cc に相當す) を 25 cc の白金坩堝に採

1. J. Biol. Chem. 93, 789, 1931.

り 4 N の硫酸 1 cc を加へ炭化し始むる迄蒸氣浴上にて蒸發すべし. 之には約 30 分を要す. 次で坩堝を白金製針金坩堝吊を備へたる環狀燃子 (Rogers) 上に移して灰化を完了せしむ, 火焰は最初坩堝の上次で縁の周圍にあらしむ, 炭化せし混合物は硫酸の沸點に達すれば坩堝の底部にて粘稠なる泡を形成して上昇するにより, 飛散せしめざる様常に注意して坩堝を揚ぐる時は 8-10 分間にて灰化し終るべし. 總べての有機物が分解し終れば燃子の火焰を強めて坩堝を 1 分間赤熱せしむ. 斯くして遊離硫酸の根跡は除去せらるべし. 灰化物中には常に少量の酸化鐵を含有するも測定には障礙なし.

坩堝が冷却すれば硫酸鹽を間接滴定法にて定量す (Stadie 及 Ross). 之には正確に 15 cc の水を坩堝に採り之に基準 Benzidin-鹽酸溶液<sup>(1)</sup> 2 cc を加ふ, 尖頭に Gom-管を冠せたる攪拌硝子棒にて總べての無機硫酸鹽が溶解し Benzidin-硫酸鹽として再び沈澱する迄充分に攪拌すべし, Benzidin-硫酸鹽が全部沈澱すれば無灰濾紙にて濾別し, 15 cc の濾液を Phenol-赤に對して中性なる迄 0.02 N の NaOH にて滴定すべし.

**計算** 灰化に使用せし尿は 1.2 cc にして, Benzidin 溶液 2 cc は 0.02 N の NaOH 21 cc, Benzidin-硫酸鹽よりの濾液 15 cc (全部にては 17 cc) は 0.02 N の NaOH 7.1 cc を要したりとすれば,

$$\left[21 - \left(7.1 \times \frac{17}{15}\right)\right] \times \frac{1}{5} \times \frac{5}{6} = 2.16 \text{ cc} \cdots \text{尿 1 cc 中に於ける 0.1 N の固定滴の cc 数なり.}$$

**Calcium の定量** 原濾液 10 cc (尿の 6 cc に相當す) を 15 cc に刻度を有する廻澱管に移し, 之に正確に 4% の蓚酸安門 2 cc を加ふ, 此混合物は Methyl-赤に對して殆ん中性なるか弱滴性にして, 蓚酸-Calcium の沈澱には理想的なる pH なり. 1 時間後混合物を 10 分間廻澱し注意して上清を傾瀉すべし. (此上清 10 cc は尿 5 cc に相當し, Denis の法により Magnesium の定量に使用することを得) 沈澱せし蓚酸-Calcium に, 0.5% の安門を蓚酸-Calcium にて飽和せしめたる溶液 4 cc を加へて洗滌し廻澱後上清を傾瀉して除去すべし, 洗滌を尙 1 回反覆したる後, 蓚酸鹽を 5% の硫酸 4 cc に溶解せしめ (水浴中にて 70° に加熱) 微量滴管を用ひ 0.02 N

の過-Mangan-酸加里にて滴定すべし。

**計算** 0.02 N の過-Mangan-酸加里 2.5 cc は Calcium の 1 mg に相当す。

**硫酸鹽の定量** 無機硫酸鹽 (Fiske の改良法). 原濾液 5 cc (尿 3 cc に相当す) を 50 cc の樽杯に移し 10 cc の水にて稀釋し之を基準 Benzidin-鹽酸溶液<sup>\*)</sup> 2 cc にて處理すべし。發生したる沈澱は 7 cm の無灰濾紙にて濾過し、濾液は樽杯に附着せる沈澱を定量的に濾紙上に移すに使用す。濾紙を豫め Aceton にて濕潤し置かば濾過速かなり、沈澱を純 Aceton 2 cc にて 4 回洗滌し、洗滌毎に完全に Aceton を濾紙より排除せしむ。漏斗、濾紙及沈澱より完全に Benzidin 溶液を除去せしむるには、點滴瓶より Aceton を滴下せしめて洗滌するが便なり。濾紙を漏斗より除去するこゝなく濾紙の先端を刺孔して沈澱を小 Erlenmeyer 瓶に移し、洗滌瓶より温湯を注加して沈澱を瓶内に洗滌すべし。沈澱が完全に瓶内に移りたる後、瓶内容を煮沸せしめ沸點に於て 0.02 N の NaOH にて Phenol-赤を標示薬として溶液が中性なる迄滴定すべし。

**計算** 0.02 N の NaOH の 1 cc は硫酸鹽としての S の 0.32 mg に相当す。但し使用せし試薬に對して實驗をなし置くべし。

**總硫酸鹽 (Fiske)** 原濾液 5 cc を 50 cc の樽杯に移し 3 N の鹽酸 3 cc を加へ水浴上にて乾燥する迄蒸發すべし。約 15 分にして總べての鹽酸を驅除し得べし。残渣を 15 cc の水に溶解し Benzidin 溶液 2 cc を加へ上段の如くして硫酸鹽を定量すべし。計算も同様なり。

**注意:** 1) **基準 Benzidin-鹽酸溶液の調製** 250 cc の量瓶中に定規鹽酸 45 cc を採り之に純 Benzidin 4 g を加へ水にて 150 cc に稀釋し溶解する迄振盪すべし。次で水にて標識迄充し濾過すべし。此溶液 2 cc を 0.02 N の NaOH にて Phenol-赤を標示薬として滴定して基準すべし。一般に 0.02 N の NaOH 約 2 cc を要す。此 Benzidin 溶液は數日毎に濾過し再基準すべし。

## 第 5-5 節 尿中蛋白質の定量

### 1. Folin の重量法<sup>1)</sup>

**原理** 蛋白質を熱醋酸によりて沈澱せしめ、廻轉沈澱し、洗滌し、乾燥したる後秤量す。

**實施** 10 cc の尿を豫め秤量したる普通の錐狀廻轉沈澱管内に管量し、之に 1 cc の 5% 醋酸を加へ、15 分間煮沸せる水を満たせる樽杯内に放置したる後、水浴より出し數分間廻轉沈澱せしむべし。上清液を傾斜して去り管内に残留せる沈澱に約 10 cc の煮沸 0.5% 醋酸を加へよく攪拌し再び廻轉沈澱す。上清液を去り、管内に残留せる沈澱を 50% の Alcohol と共によく攪拌し再び廻轉沈澱したる後上部の Alcohol を棄て管を 2 時間 100-110° の空氣浴内にて乾燥せしめ次で除濕器内にて冷却せしめ、秤量すべし。

**計算** かくして得たる重量を 10 倍したるものは尿中蛋白質の%量を表はす。

### 2. 滴定法

100 cc の尿を採り必要に應じ稀薄なる醋酸を加へて弱酸性となしたる後水浴上に加熱して蛋白質が凝固するに至らしむべし。樽杯の外部を拭ひ裸焰上に 2 分間煮沸す。若し Albumin の凝固完全ならざる時は注意して 1 滴若くは 2 滴の稀醋酸を加ふべし。過剰の酸は Albumin を溶存せしむる虞あるを忘るべからず。未だ熱き間に無窒素濾紙を通し濾過すべし。若し濾液に就て更に他の成分を定量せむと欲せば濾液を量瓶中に受け樽杯及濾紙を少量の蒸餾水にて洗滌し元の液量に至らしむべし。濾紙上の沈澱は更に多量の温湯にて之を洗滌し濾紙と共に Kjeldahl の法に従ひて處理し其中の窒素を測定すべし。之より試薬及濾紙内に含有せらるる窒素量 (對照試験にて定む) を控除し之に 6.25 を乗する時は尿中蛋白質の%値を得べし。

1). Laboratory Manual of Biological Chemistry. 1926 版

## 3. Esbach の法

臨牀的に今も猶汎く用ゐらるる法なり。Esbach の蛋白計に尿を標識 U まで加へ、之に Esbach の試薬を加へて標識 R に至らしめ、管を上下に數回顛倒せしめて後冷處に放置し、24 時間を経たる頃沈澱の高さを讀むべし。讀みは尿 1 l 中の蛋白質の g 數を表はす。

注意: i) Esbach の試薬は 10 g の Pikrin-酸と 20 g の枸橼酸とを水 1 l に溶解したるものなり。

## 4. 末吉の法

Esbach の法よりも遙かに精確なる結果を呈す。末吉の蛋白計に尿を標識 U まで加へ、之に末吉の試薬<sup>\*)</sup>を加へて R に至らしめ、栓を施したる後管を上下に數回顛倒せしめたる後放置し 24 時間を経たる頃沈澱の高さを讀むべし。讀は尿中蛋白質の % 量を表はす。尿若し蛋白質を含有するに多量なる時は蛋白計の背面に刻せる劃度を利用し水を以て 2-4 倍に稀釋したる後測定を行ふべし。

注意: i) 末吉の試薬 20.0 の昇汞の細末を 10 cc の濃鹽酸(比重 1.15)に溶解し、之に 5g の臭化加里を 70 cc の水に溶解して得たる溶液を混加したる後 Alcohol を加へて全量を 100 cc とすべし。褐色瓶に貯ふべし。

## 第 5-6 節 Aceton 體の測定

Van Slyke の法<sup>1)</sup>

原理 此法は Shaffer の  $\beta$ -Oxy-酪酸を Aceton に酸化する法と Denigès の Aceton を鹵性硫酸水銀化合物として沈澱する法とを併用したるものなり。酸化と沈澱とを同時に同一溶液内にて行はしむるに由り操作簡單なり。此法によれば Aceton の各成分を單獨に若くは同時に測定するを得。

此法を行はんとせば尿の制腐劑には Toluol 又は硫酸銅以外のものを用ゆべからず。

實施 葡萄糖及び其他定量を障礙する物質の除去法 25 cc 尿を 250 cc の量瓶に入れ、之に 100 cc の水、50 cc の硫酸銅溶液を加へ、良く混和したる後、50 cc の 10% 水酸化石灰浮游液を加へて振盪し Lackmus 紙を以て反應を檢査すべし、液若し未だ鹵性ならざれば更に水酸化石灰を加ふるを要す。次に水を以て標識まで充たし半時間以上放置して葡萄糖を完全に沈澱せしめ之を乾燥したる襞折濾紙を通して濾過すべし。此方法によれば 8% 以下の濃度に於ける葡萄糖を除去するを得。尿若し多量の糖を含有する時は之を稀釋して葡萄糖の含量を 8% 以下に低下せしむるを要す。銅處理は葡萄糖以外の障礙物を除去する爲なるが故に尿が葡萄糖を含有せざる場合にも之を廢すこと勿かれ。濾液中に葡萄糖全く除去せられたりやを檢する爲め其少量を試験管内に採り加熱すべし糖の除去完全ならざる時は黄色の亞酸化銅發生す。

總 Aceton-體の測定(Aceton, Aceto-酪酸,  $\beta$ -Oxy-酪酸). 500 cc の Erlenmeyer 瓶中に 25 cc の尿濾液を入れ、之に 100 cc の水、10 cc の 50% 硫酸及 35 cc の 10% 硫酸水銀を加ふべし。水及試薬を一々添加する代りに 145 cc の“混合試薬”を加ふるも可なり。瓶に内徑 8-10 mm の直行冷却管を有する逆流冷却器を連結し、加熱して内容を煮沸せしめ煮沸行はるるに同時に冷却管を通じて 5% 重-Chrom-酸加里液 5 cc を加へ靜かに煮沸を繼續

1. J. Biol. Chem. 32, 455, 1917.

せしむるこゝ約1時間半なる時は既成 Aceton, Aceto-醋酸の分解によりて発生したる Aceton 及  $\beta$ -Oxy-酪酸の酸化によりて生じたる Aceton 等は何れも悉く硫酸水銀重-Chrom-酸鹽化合物を形成し黄色の沈澱として存在するを以て之を Gooch の坩堝に集め 200 cc の冷水にて洗ひ、110° に1時間乾燥すべし坩堝は之を室内大氣中に放置し(除濕器内にて放冷せしむる要なく反つて望ましからず)後秤量すべし。數回の沈澱測定に同一 Gooch の坩堝を連続使用するも可なり。重量を測定する代りに下記の方法(次の頁を見よ)により滴定するも可なり。

**Aceton 及 Aceto-醋酸の測定** Aceto-醋酸は之を加熱する時は Aceton と  $\text{CO}_2$  とに完全に分解せらるるが故に上記總 Aceton-體測定の方法中 1)  $\beta$ -Oxy-酪酸を酸化する重-Chrom-酸加里を加へず 2) 煮沸を30分より短からず45分より長からしめず(煮沸長きに過ぐれば一部の  $\beta$ -Oxy-酪酸分解せらる)の二點を注意して行ふ時は Aceton 及 Aceto-醋酸に由来する Aceton を定量するこゝを得。

**$\beta$ -Oxy-酪酸の測定**  $\beta$ -Oxy-酪酸は尿より豫め既成 Aceton 及 Aceto-醋酸を驅除し置きたる後總-Aceton-體定量と同一の方法により之を測定するこゝを得。25 cc の尿濾液に 100 cc の水を加へ之に 2 cc の 50% 硫酸を添加し 10 分間煮沸したる後溶液の容積を量筒にて測り再び瓶内に戻し量筒を煮沸の爲め失はれたる量の水にて洗ひ液の總量を元の如く 127 cc とす。茲に於て更に 8 cc の 50% 硫酸及 35 cc の硫酸水銀を加へ、瓶に逆流冷却器を具し以後の操作は全く總-Aceton-體定量の條下に述べたると同じ方法によるべし。

**Aceton 體以外の尿成分による沈澱の空測定** 25 cc の尿濾液に硫酸及水を加へ 10 分間煮沸して Aceton を驅除するこゝ前項に於ける如くし、残渣に硫酸水銀及び硫酸を加へて 170 cc とすこゝも亦前項と同じくするも唯前項と異なり重-Chrom-酸加里を加ふるこゝなく單に逆流冷却器の下に 45 分間煮沸すべし。長時の煮沸は  $\beta$ -Oxy-酪酸より少量の Aceton 分離するにより之を避くるを要す。此實驗によりて得たる沈澱の量を前諸項によりて得たる量より控除するを要す。

此空測定は甚だ僅小にして正常若くは殆んき正常尿に於けるが如く Aceton-體の量少なき時に非ざれば之を顧慮する要なし。

**試薬の検査** 尿の代りに蒸留水を用る本 Van Slyke の Aceton-體測定的全操作を復試したる際何等の沈澱發生せざるこゝを確かむるを要す。本試験は一見無用の如く見ゆるも之を省略すべからず。

**沈澱の滴定** 沈澱を前諸項に於けるが如く秤量する代りに之を滴定して定量するこゝを得。此の際には先づ Gooch の内容を Asbest と共に可及的少量の水を用て小橋杯内に滌注し之に 15 cc の 1N HCl を加へたる後加熱すべし。此操作により沈澱全く溶解するにより之を冷却し、酸性度を軽減する目的を以て 7 cc の 3M 醋酸曹達を加へたる後絶えず攪拌しつつ滴管より迅速に 0.2 M KI を注加すべし。Hg 一定量以上存在する時は直ちに  $\text{HgI}_2$  の赤色沈澱發生するも KI の過剰存在すれば溶解性の  $\text{K}_2\text{HgI}_4$  を作り、此化合物作成に必要な量以上に尙 2-3 cc の KI 過剰に存する時は沈澱速かに溶解す。水銀量數 mg に過ぎざれば KI 添加の際  $\text{HgI}_2$  の沈澱發生する違なくして液は澄明に留まるべきを以て此際には更に 5 cc 以上の KI 液を加へ置き此過剰の KI を歸滴定する爲めに他の滴管より 0.05 M  $\text{HgCl}_2$  を加へ赤色の沈澱が永久に存在するに至らしむべし。此際の反應は  $\text{HgCl}_2 + 4\text{KI} = \text{K}_2\text{HgI}_4 + 2\text{KCl}$  なるにより 1 cc の 0.05 M  $\text{HgCl}_2$  は 1 cc の 0.2 M KI に相當す。

KI 及  $\text{HgCl}_2$  の基準液を調製するには先づ  $\text{HgCl}_2$  液を硫化物法によりて基準し、次で此  $\text{HgCl}_2$  液に對し KI を滴定法によりて基準すべし。

滴性 Aceton-硫酸水銀化合物中の Hg 量は平均 76.9% なりとせらる然るに 1 cc の 0.2 M KI は 10.0 mg の Hg に相當するにより 1 cc の 0.2 M は 13.0 mg の水銀-Aceton 沈澱物に相當す。

滴定法は秤量法に比し精確ならざるも Aceton-體の量微量ならざる時には之を用ゆるも可なり。

**計算** 1 mg の  $\beta$ -Oxy-酪酸は 8.45 mg の水銀-Aceton 沈澱物を發生し、1 mg の Aceton は 20.0 mg の水銀-Aceton 沈澱物を發生す。1 cc の 0.2 M KI は 13 mg の水銀 Aceton 沈澱物に相當す。

注意: i) 所要試薬

- a). 20% 硫酸銅—200 g の  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  を水に溶解し, 全量を 1 l とす.
- b). 10% 硫酸水銀—73 g の純赤色酸化水銀を 4 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 l に溶解す.
- c). 50 Vol. % 硫酸—500 cc の濃硫酸(比重 1.835)を水にて稀釋して 1 l とす. 必要ならば硫酸の濃度を滴定し 17 N とすべし.
- d). 10% 水酸化石灰浮游液—100 g の Merck 熱試薬  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  を水 1 l と混和す.
- e). 5% 重-Chrom-酸加里—50 g の  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  を水に溶解し全量を 1 l とす.
- f). 總 Aceton-體測定用混合試薬—上記 50% 硫酸 1 l, 硫酸水銀 3.5 l, 及水 10 l を混合したるもの.

ii) Aceton の硫酸水銀-Chrom-酸鹽化合物の組成は大約  $2\text{HgSO}_4 \cdot \text{HgCrO}_4 \cdot 5\text{HgO} \cdot 2(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  なるべしといふ.

iii) 昇汞の基準は下の如くして行ふを便とす. 25 cc. の 0.05 M  $\text{HgCl}_2$  を量管にて測り之を約 100 cc に稀釋したる後之に  $\text{H}_2\text{S}$  を通じ黒色の沈澱が稀薄し透明なる溶液を生ずるに至りたる時  $\text{HgS}$  を Gooch の坩堝に集め,  $110^\circ$  にて乾燥す, 此時  $\text{HgS}$  の重量は 0.2908 g なるを要す.

### 第5—7節 尿中遊離 Phenol の定量

#### Folin 等の法<sup>1</sup>

**原理** 尿酸, Phenol 類, Ergothionein 及 Glutathion 等は無色の燐-Wolfram-酸及び燐-Molybden-酸を還元して強く着色したる錯-Ion に變ぜしむ, 尿にては尿酸を銀鹽として完全に除去する時は此反應にて Phenol の排泄量を窺知するこゝを得べし, 但し尿を十分に稀釋し且つ基準液と被檢液との色彩の強さを同様にして比較するを要す.

**實施** 50 cc の量瓶内にて 10—20 cc の尿に 3% の乳酸銀溶液<sup>ii)</sup>を滴下し最早沈澱が増加せざるに至りたる時之に數滴の 10% 膠質性鐵液(市販品)を加へ, 混和し, 水を以て 50 cc に稀釋す, 良く混和したる後乾燥したる定量用濾紙を通じて濾過し, 濾液の 25 cc を他の 50 cc の量瓶に移し, 之に鹽酸酸性飽和  $\text{NaCl}$  液<sup>iii)</sup>を滴下して銀を鹽化物として沈澱せしめ, 水を以て全量を 5 cc とし, よく混和し, 乾燥定量用濾紙を通じて乾燥 Erlenmeyer 瓶中に濾過す.

濾液の 20 cc 及び 2.5 cc の基準 Phenol<sup>iii)</sup>液を夫々 50 cc の量瓶中に採り, 基準 Phenol 液の方には 17.5 cc の水を加へたる後, 各々に微量滴管より 5 cc の Phenol 試薬<sup>iv)</sup>を加へ, 次で振盪下に 15 cc の飽和炭酸曹達<sup>v)</sup>液を滴下し, 直ちに  $30^\circ$ — $35^\circ$  の水を以て 50 cc に稀釋し, 良く混和し, 20 分間放置したる後比色す.

**計算** 24 時間尿中の遊離 Phenol 量を計算するには

$$\frac{\text{基準液の高} \times \text{基準液内 Phenol の mg 數} \times 24 \text{ 時間の尿量}}{\text{尿液の高} \times \text{色釋發生に使用したる尿量}}$$

注意: i) 3% 乳酸銀溶液 3 g の乳酸銀を約 50 cc の水に溶解し, 之に 3.5 cc の 85% 乳酸を加へ, 水を以て 100 cc に稀釋したるもの.

ii) 鹽酸酸性  $\text{NaCl}$  溶液 35 g の  $\text{NaCl}$  を 100 cc の熱 0.4%  $\text{HCl}$  に溶解し, 放冷したるもの.

iii) 基準 Phenol 液 約 0.5 g の結晶性 Phenol を 500 cc の 0.1 N.  $\text{HCl}$  に溶解し,

1. J. Biol. Chem. 22, 305, 1915; 73, 627, 1927

此液を次の如くして基準すべし。2個の250 ccのErlenmeyer 瓶中に上の液25 ccを精確に採り、之に50 ccの0.1 N NaClを加へ、65°に温む。各々に25 ccの0.1 N 沃度液を加へ、施栓したる後室温に30—40分間放置す。他方に盲験用とし2個の250 ccのErlenmeyer 瓶中に25 ccの0.1 n HCl + 50 ccの0.1 n NaCl + 25 ccの0.1 n 沃度液の混合液を作り、是等4個のErlenmeyer 瓶に順次に5 ccの濃鹽酸を加へたる後沃度の過剰を0.1 n Thio-硫酸液にて滴定す、Thio-硫酸鹽の基準に就ては第 頁を参照すべし。盲験液と Phenol 液との滴定値の差より0.1 n Thio 硫酸液1 ccは1.567 mgのPhenolに相當するものとしてPhenolの含量を計算すべし。

- iv) Phenol 試薬 (Folin 及 Ciocalten, 1927). 2 lの硝子瓶に100 gの最純 Wolfram-酸曹達, 25 gのMolybden-酸曹達及び700 ccの水を加へ、完全に溶解したる時之に50 ccの85% 磷酸及び100 ccの濃HClを加へ、錫箔にて蔽ひたる栓にて還流冷却器を附し靜かに10時間煮沸す。次に之に150 gのLi<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 50 ccの水及び2—3滴の臭素を加へ、冷却器を附せずして再び煮沸し過剰の臭素を驅逐す(臭素は一部還元したる試薬を酸化するに用ふるものなり)。終りに之を冷却し、水を以て1000 ccに稀釋す。必要ならば之を濾過す。試薬は塵及び光線を遮断して之を貯ふべし。試薬は黄色にして緑色の色調を帯ぶべからず。
- v) 飽和炭酸曹達 200 gの無水炭酸曹達を1000 ccの熱湯に溶解し、放冷し濾過したるもの。

#### 尿中全 Phenol の定量

前實驗にて色彩發生に使用したる濾液の20 ccを2.5×20 cmの試験管に入れ之に10滴の濃HClを加へ、管口を小漏斗にて蔽ひながら、速かに加熱沸騰せしめ約10分間熱湯中に放置したる後、冷却し、之に10 ccのPhenol 試薬, 25 ccの飽和炭酸曹達を加へ良く混和し、直ちに100 ccの量瓶に移し、35°の水を以て100 ccに稀釋す。再びよく混和す、他方に基準液を作る爲めに100 ccの量瓶中に5 ccの基準Phenol液 + 15 ccの水 + 10滴の濃HClを入れ、之に10 ccのPhenol 試薬及び25 ccの飽和炭酸曹達液を加へ、35°の水を以て100 ccに稀釋し、20分の後比色す、計算は前實驗に準ず、抱合性Phenolは此全Phenol量より前實驗にて得たる遊離Phenol量を控除したるものを以て知るこゝを得。

## 第六章 乳汁及び胃液の定量

### 第61節 乳汁内乳糖の定量

**原理** 血檢定量法を乳汁に應用したるものにして試薬の使用量の割合は勿論調整を要したり。

**實施** 1 ccの乳汁(豫めよく振盪して均一にせしむべし)を正確に100 cc量瓶中に管量し之に2 ccの10% Wolfram-酸曹達を加へ、更に振盪しつつ徐々に2 ccの $\frac{2}{3}$  N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を添加し、3分間放置したる後之に蒸餾水を加へて刻度まで充たさしむ、次で濾過す。

1 ccの濾液をFolinの糖管(第35節参照)に入れ之に1 ccの水を添加す。

第二の糖管に2 ccの基準乳糖液<sup>1)</sup>を入れる。

各管に2 ccの滴性銅試薬(血糖定量に用ゆるもの)を加へ煮沸水浴上にて熱湯を盛れる櫛杯内にて8分間加熱したる後1分間冷却し、次で之に2 ccの隣-Molybden-酸試薬を加へ1—2分の後水を加へて25 ccの標識に至るまで稀釋し、混和し、比色すべし。

**計算** 稀薄基準乳糖溶液2 cc中には0.6 mgの乳糖を溶存し又乳汁除蛋白濾液1 ccは乳汁の0.01 ccに相當するを以て100 cc乳汁中に存する乳糖量は次の計算によりて得らるべし。

$$0.6 \times \frac{20}{\text{未知濾液の讀}} \times 10 \text{ g}$$

注意: i) **基準乳糖溶液** 1.000 gの純粹なる乳糖を0.2%安息香酸溶液に溶解し、全量を100 ccとなし(濃厚基準液)、此溶液3 ccを100 ccの量瓶内に採り同一酸溶液を加へ標識まで充たすべし。濃厚基準液の1 ccは10 mgの乳糖を含有し、稀薄基準液の2 ccは0.6 mgの乳糖を溶存す。



第62節 胃液内遊離鹽酸量の測定

遊離鹽酸量を稱するも實は略定値に過ぎずして胃液の pH を4よりも少しく小なる程度に變ぜしむる爲めに要する滴の量より之を定む。之より更に滴を加へて pH 9 に至らしむるに要する量は結合鹽酸(蛋白質と結合せる鹽酸)及び有機酸の量を示す。是等全部に要せられたる滴量は全酸性度を表はす。

各期より得たる濾過胃液を量管にて清淨なる試験管内に測り、各管に4滴の Dimethylaminoazobenzol (Töpfer の試薬)を加ふる時は赤色を呈するを以て N/10 NaOH を加へて色彩が鮮紅色(pH 4 よりも稍小)に變ぜしむるに要する滴量を記録し、次で直ちに 1% Phenolphthalein 酒精溶液3滴を加へ滴定を繼續し溶液が初め黄變し次で pH 9 に於て赤色に變ずる際先づ永久に淡紅色を帶ぶるに至る時滴管を採録すべし。

計算 5 cc の胃液を採りたる際には上記二列の讀に 20 を乗する時は 100 cc 胃液内の遊離鹽酸及全酸度( $\frac{N}{10}$  定規)を得べし。若し 5 cc よりも小なる量  $x$  の胃液を採りたる際には滴管の讀に  $\frac{100}{x}$  を乗すれば可なり、かくして得たる數位を下の例の如く記入すべし。

時 期	遊 離 鹽 酸	全 酸 度
0 時	9.6cc $\frac{N}{10}$ HCl	11.6cc $\frac{N}{10}$ HCl
0.5	0.8	2.2
1.0	24.4	27.6
1.5	32.8	40.0
2.0	9.6	16.0
2.5	4.2	7.0

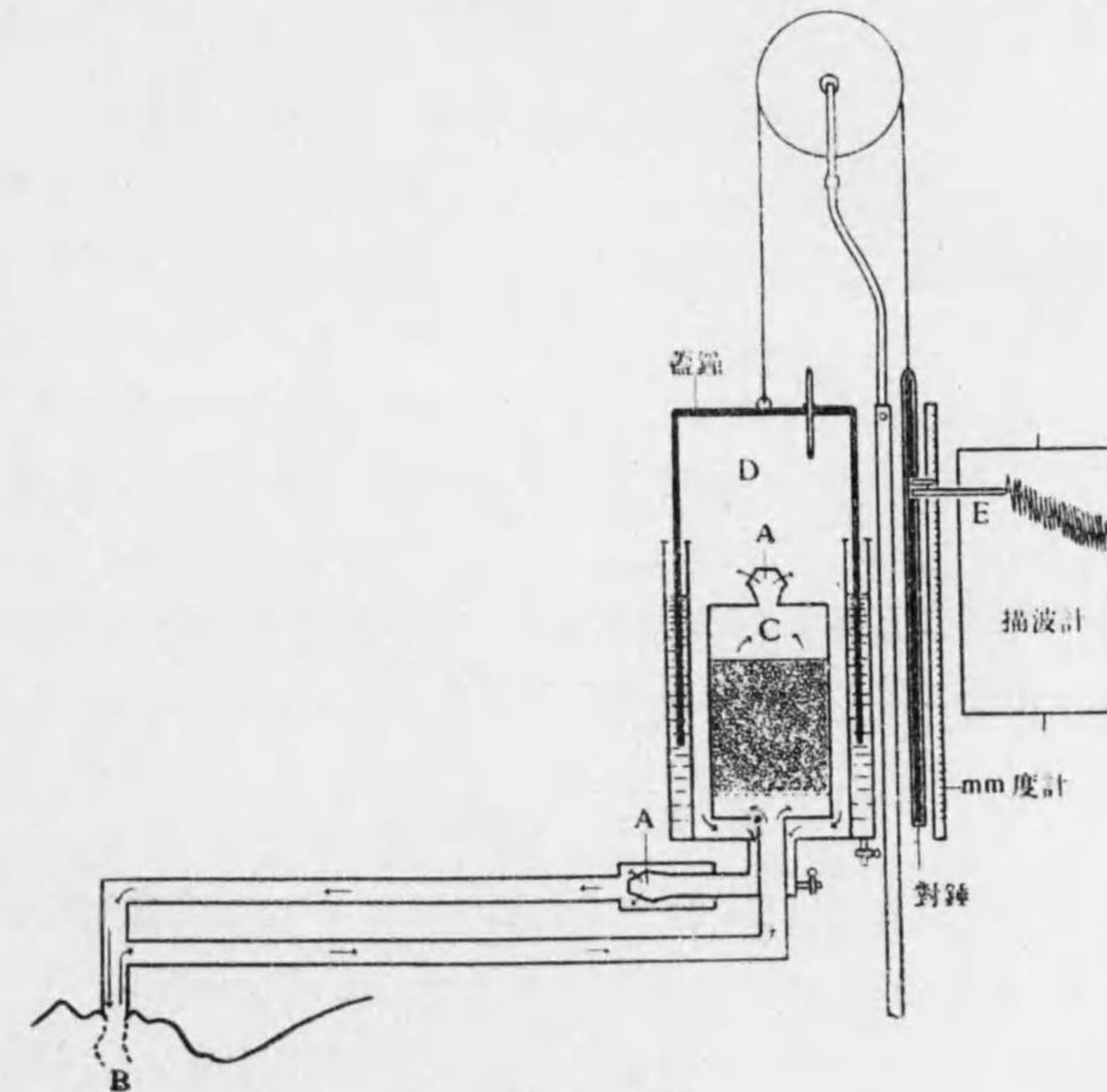
第七章 勢力代謝量の測定

現今實驗室並びに臨牀に於て代謝量を測定するは主として間接熱量測定法に基く。而して呼吸計に閉塞式及び開通式の二種あり

第71節 閉塞式呼吸計

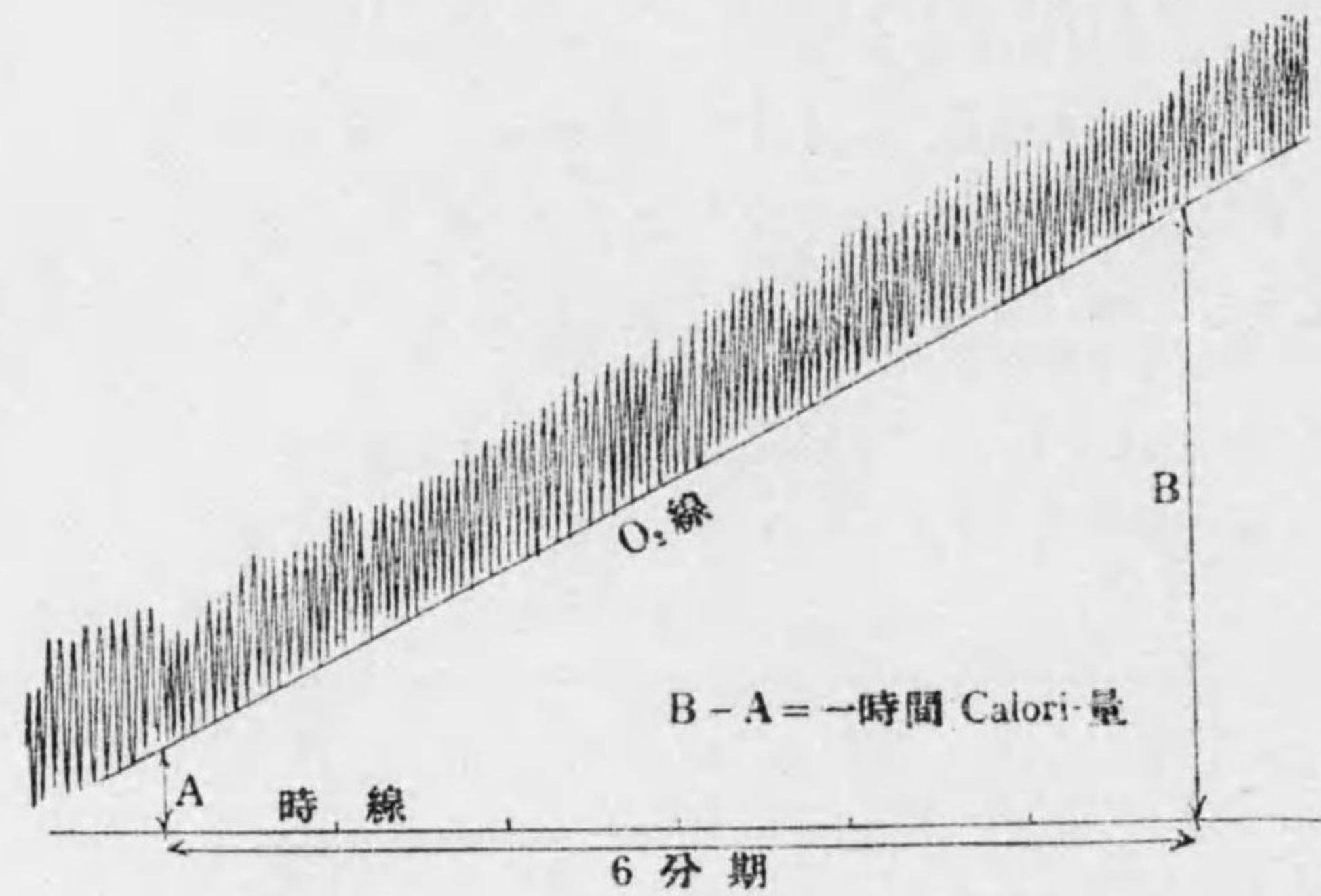
1. Benedict-Roth の呼吸計

呼吸量は吸氣内酸素の含量によりて影響を蒙るこゝ殆んどなきを利し酸素張力大なる空気を呼吸量度計内に充たし被檢者をして此密閉氣内に對し呼吸せしめ其炭酸は之を曹達石灰に吸収して酸素の消費を呼吸量度計の讀より測定す。呼吸比は凡て 0.82 なりと想定し、費消したる酸素量に 1 l に對し 4.825 Cal を乗じて被檢期内に發生したる熱量を算出す。



第 41 圖

其構造は第 38 圖に示すが如く二個の Saddle の瓣 A により呼氣は口腔 B より曹達石灰槽 C を經て呼吸量度計 D に、吸氣は呼吸量度計より口腔に向ひ絶えず同一方向に移動して疏通を得しむ。呼吸量度計の蓋を釣持する對錘には指針ありて蓋鐘の運動を mm 度計にて知るこゝを得べく又描波計に之を印するを得る如くなれり。蓋鐘の大きさは 1 mm の高毎に 20.73 cc を占むる如く設計せらる。かくする時は 6 分間時に於ける蓋鐘の移動 1 mm は 1 時間には 0.1073 l の酸素の消費に相當し其熱量は  $0.2073 \times 4.825 = 1 \text{ Cal}$  (對 1 時間) となるにより計算に便なり。初め呼吸度量計を酸素にて充たしたる後被檢者をして呼吸せしめ之を描波計に畫かしむ。酸素



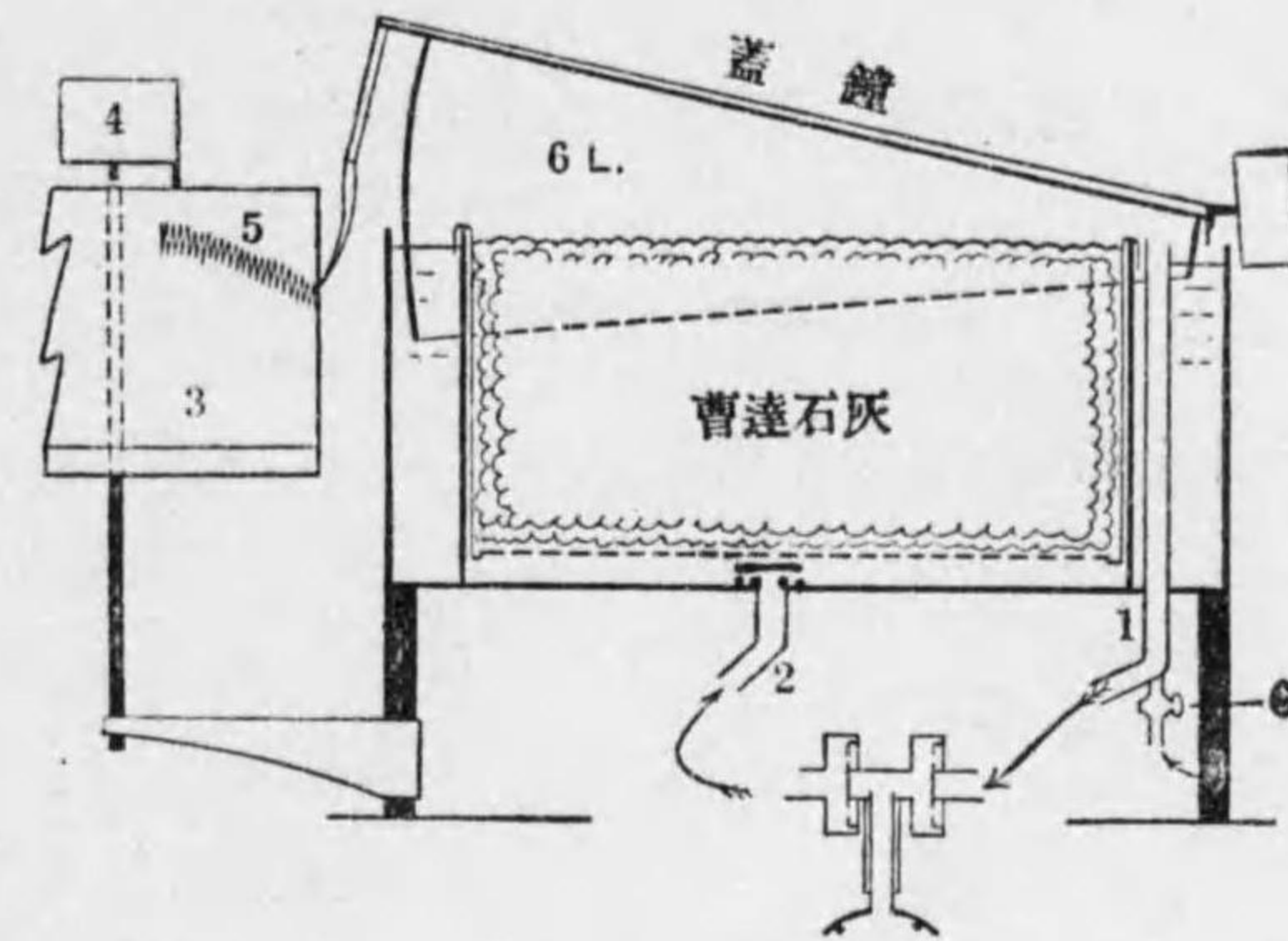
第 42 圖

消費線が 6 分間に上昇する度に温度、壓、水蒸氣壓等の補正を加ふる時は其數値は 1 時間に對する熱發生量を指示す。

## 2. Krogh の呼吸計

Benedict の呼吸計と同じく閉塞式に屬す Aluminium 蓋鐘を有する呼吸量度計、描波器(3) Bowdit の時計(4) 及正確なる尺度を具ふ。

呼吸量度計中には  $\text{CO}_2$  を吸収せしむる曹達石灰を盛れる容器を藏す。呼吸量度計の外濠には水を充たし蓋鐘を之に浴せしむ。呼氣は圖中 2 よ



第 43 圖

り呼吸量度計内に進入し其内に存する  $\text{CO}_2$  を曹達石灰に與へたる後 1 を通じて唧口部に歸る。2 及 1 の唧口部との間には呼吸瓣ありて呼吸氣の方向を常に同一ならしむ。6 の活栓を開き此處より器中に酸素を送入す。

試験に際し被檢者は唧口部を啣みて呼氣を 2 に送り吸氣を 1 より得て呼吸す。之と同時に Bowdit の時計及描波器を運行せしめ活栓 6 を通じて約 5 l の酸素を送入す。此時器中瓦斯の含酸素量は約 40% に上るべし。

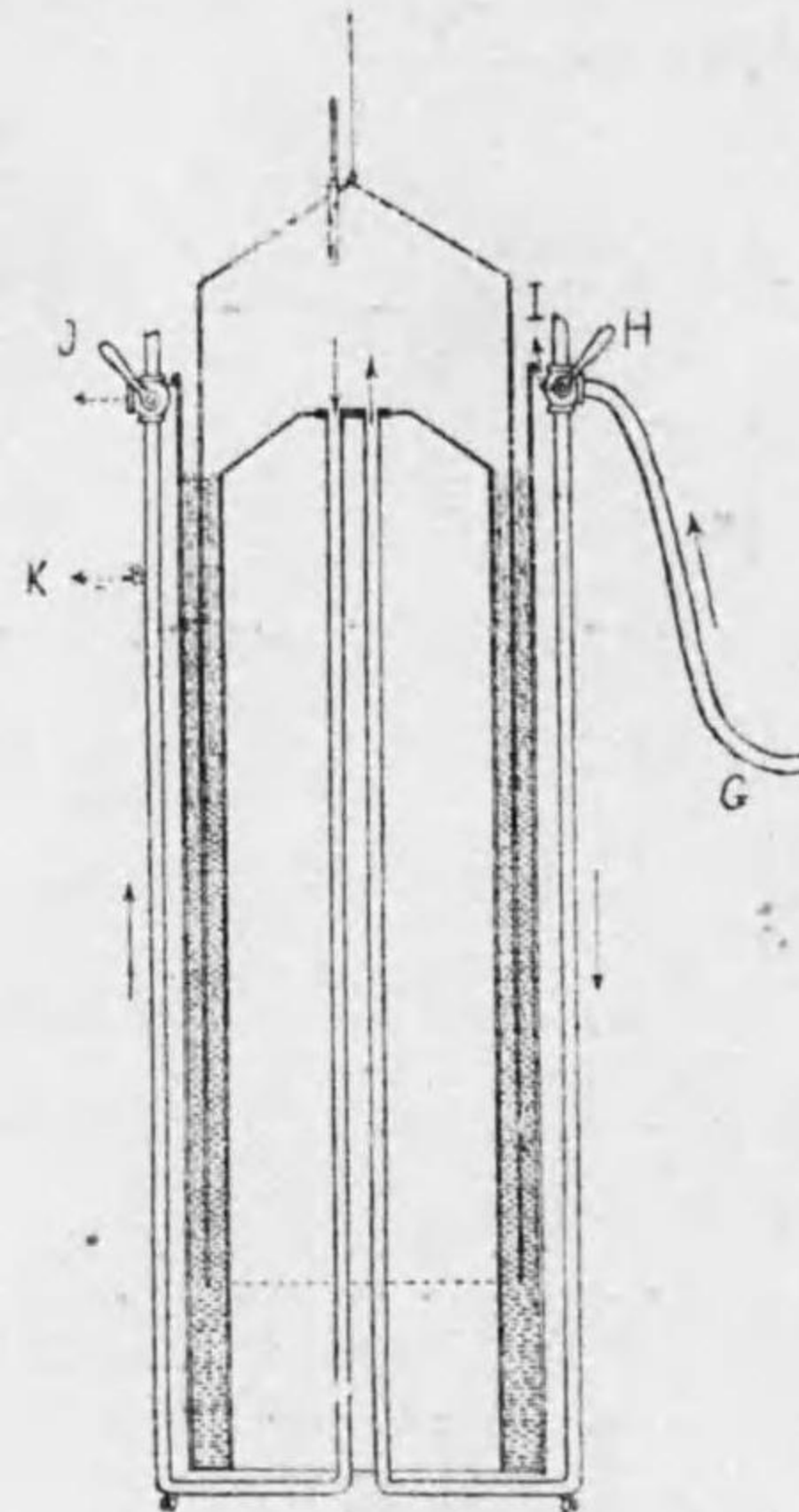
呼吸に伴ひて Aluminium の蓋鐘は交互に浮沈す。且つ一呼吸の間に體內にて消費せらるる酸素の量に相當し各呼吸毎に蓋鐘は漸次沈降す。尤も温度恒定せざるか被檢者の呼氣状態均一を缺けば曲線の進行不規則なるが故に曲線均勢を得たる後初めて試験の目的を達するこゝを得。普通初め 5 分間を豫備試験とし次で約 10 分間の本試験を繼續せしむ。

1 分間の酸素消費量を算出するには曲線の均勢を得たる部分の初點及び終點より零線(呼吸量度計の最低位に於て描波器を廻轉せしめて之を畫くこゝを得)に向ひ垂直線 C1 及 D2 を降下し、各々の高さを附屬尺度にて測定す尺度の目盛度は 100 cc に相當す。試験の持續時間を n とすれば  $\frac{C1-D2}{n}$  は 1 分間の酸素消費量を表はす、此量を  $0^\circ$  及 760 mm に補正すべし。かくして得たる酸素消費量を l 數にて表はし之に 4.83 を乗すれば試験時間内の熱發生量を得。

## 第72節 開通式呼吸計

## 3. Tissot の呼吸計

開通式呼吸計にては吸氣を組成一定せる大氣に求め、呼氣を一定時間の間瓦斯計量器に集めたる後、Haldane の瓦斯分析器(第73節参照)によりて其組成を検し其時間内に消費せる酸素及呼出せる炭酸量を測定す。



第 44 圖

今假りに呼出氣中の炭酸量を4.0%, 酸素を16.5%とし此の如き組成を有する呼氣を15分間に100l 呼出したりし此際の呼吸比並びに熱量を算出せむ。

呼吸比の測定 呼氣中に含有せらるる  $O_2 + CO_2$  の和は  $16.50 + 4 = 20.50\%$  なるにより N 含有量は  $100 - 20.50 = 79.50\%$  にして大氣中の N 含有量

79.03%より大なり。然るに N は呼吸の際に容積に變化を來さざるを以て呼氣中に N が吸氣中より多量に存するは吸氣時に於て攝取したる酸素量が呼氣時に於て排泄する  $O_2 + CO_2$  量よりも大なるを示す。呼氣 100 cc に對し實際に吸入したる酸素量は

$$\frac{20.94 \text{ (大氣中の酸素\%)}}{79.03 \text{ (大氣中の } N_2 \text{\%)}} \times 79.50 \text{ (呼氣中 N \%)} = 21.06$$

即呼氣中に 79.50% の N ある爲には吸入さるべき酸素は 21.06 なり。故に實際吸收せられたる  $O_2$  は  $21.06 - 16.50 = 4.56\%$  なり。

他方呼氣及吸氣中  $CO_2$  の差は  $4.00 - 0.03 = 3.97\%$  なるにより呼吸比は

$$\frac{3.97}{4.56} = 0.87$$

なり。

熱量: Tissot の呼吸量度計 100l を示し此時溫度  $20^\circ$ , 氣壓 747 mm Hg なり。先づ瓦斯を  $0^\circ$ , 760 mm Hg の乾燥瓦斯に補正するを要す。即ち  $20^\circ$  に相當する水蒸氣壓 17.5 を控除し、眞鍮尺度晴雨計の溫度に對する補正 2.39 を控除して 727.21 mm Hg を得たる後容積を  $0^\circ C$  及 760 mm Hg に補正し 89.2l を得。此瓦斯量に上述の酸素% 量を乗すれば

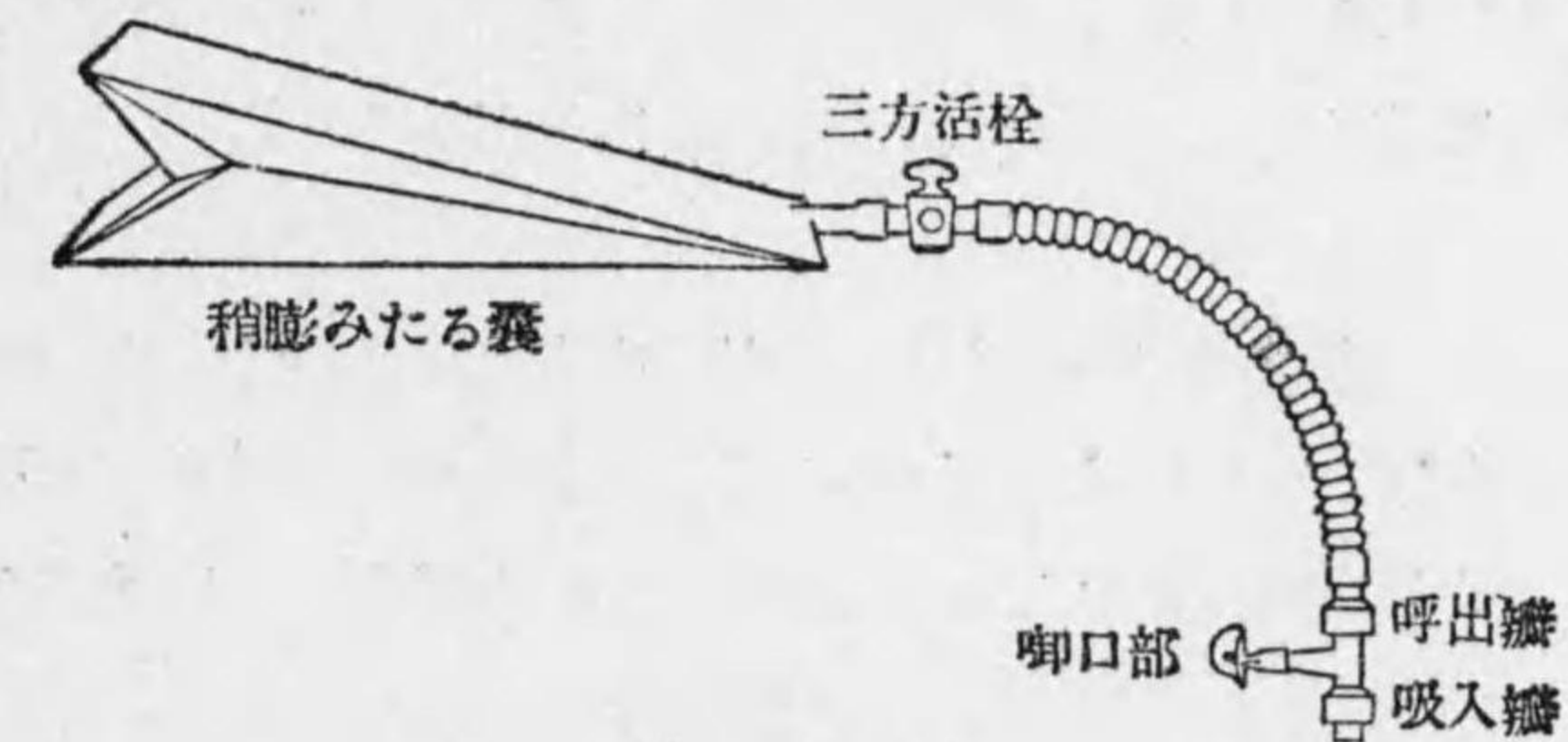
$$89.2 \times \frac{4.56}{100} = 4.07l$$

を得。之れ 15 分に於ける酸素消費量なり故に 1 時間には 16.28l の酸素を消費す従て此量に  $RQ = 0.87$  の際の酸素熱量値 4.89 を乗する時は 79 Cal を得。

## 4. Douglas 囊の法

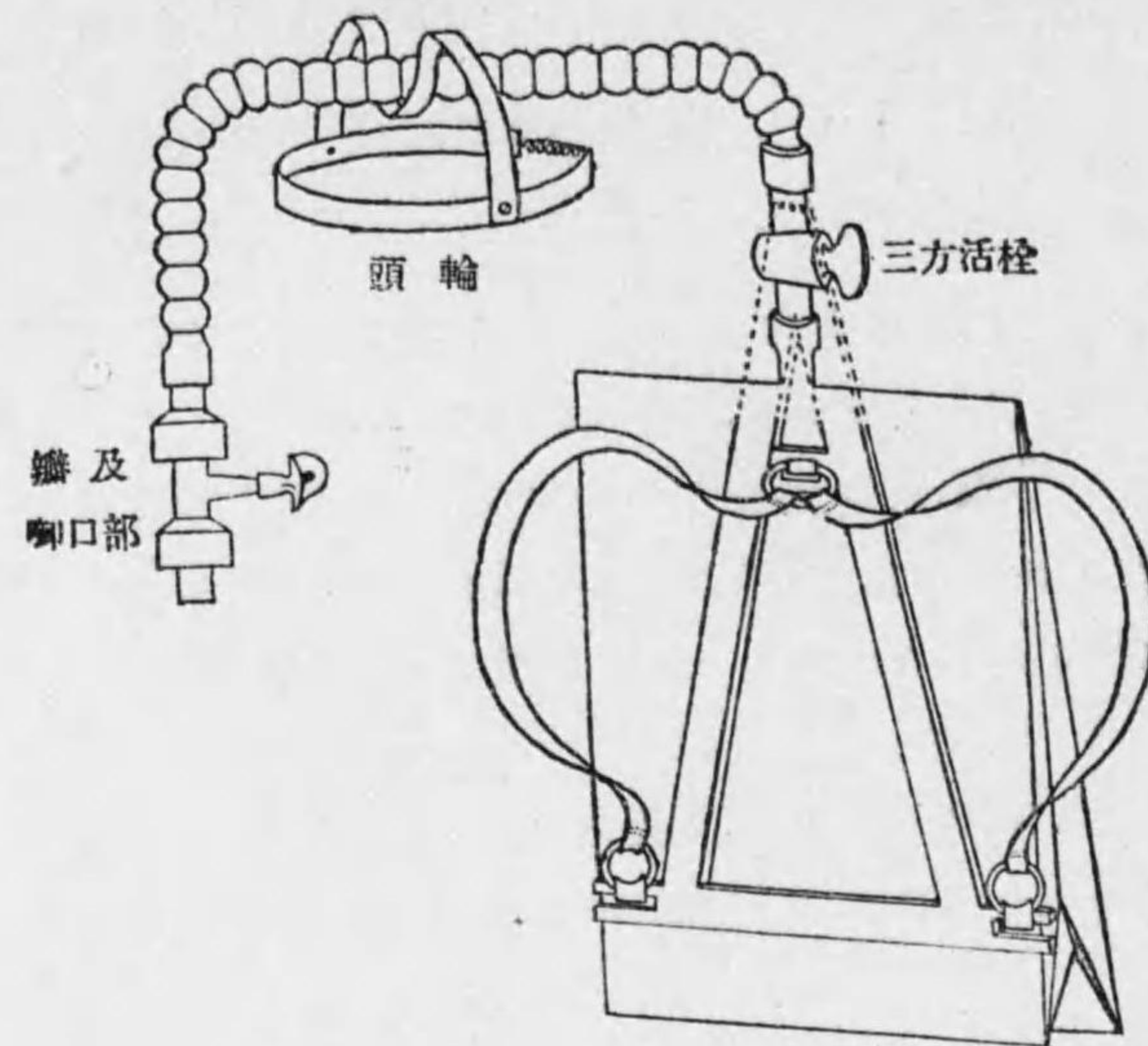
原理 短時間内の吸氣を集め其組成を分析して之を吸氣の組成と比較し、之より酸素消費量及び炭酸發生量を算出す。

囊の構造 囊は第 45 圖に示すが如く 1) Gom 引楔形瓦斯囊の約 60l 以上を占むるもの。2) 大なる三方活栓。3) 口徑大なる可撓性管狀部



第 45 圖

4) 唧口部及び吸收瓣よりなる。各部を連結する際三方活栓が正當なる位置に轉回せられ居ることを確むるを要す。尙重要なるは囊中に残留する空氣が定量せらるべき呼氣と同様なる組成を有する如くすべきことなり。



第 46 圖

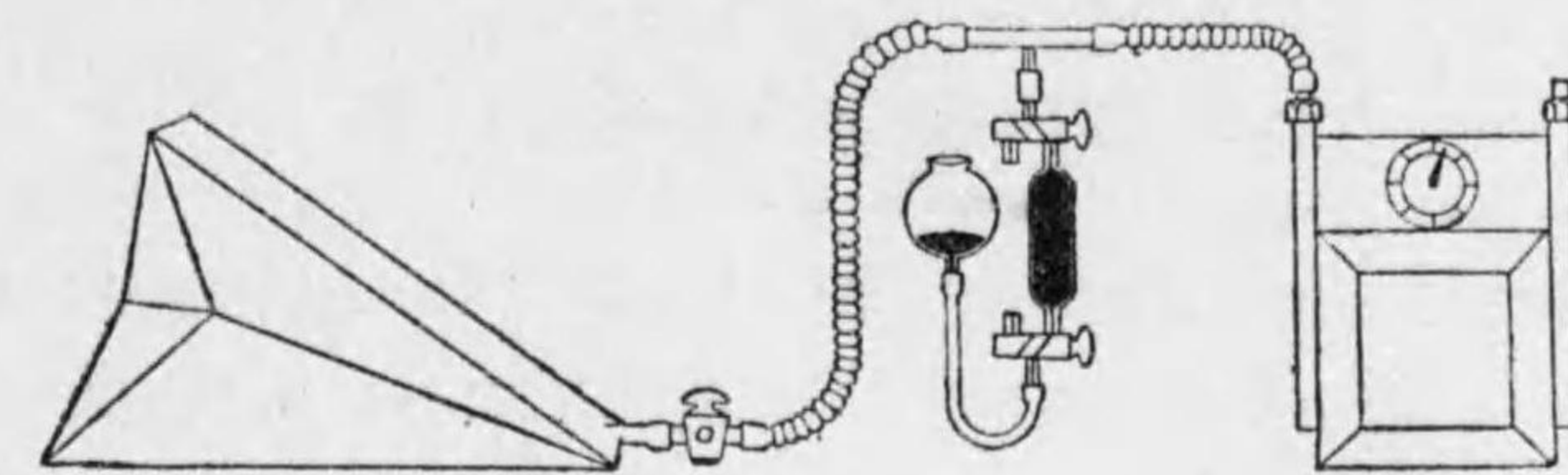
之には先づ囊を壓して之を空虚にしたる後 1-2 分間瓣を通じて囊中に呼氣を送り、再び囊を壓して囊中の空氣を驅逐し活栓に向ひて囊底より緊捲すべし。次に三方活栓を轉回して囊を閉ぢ呼氣は活栓を通じて外氣中に奔出せしむべし。

**實施 呼氣の採集** 此囊を用ゆれば靜止、歩行、疾走、食後何れの状態にても呼氣を採集するこゝを得。此際多くの場合には第 46 圖の如き接続により囊を背に擔ふを要す。

1. 靜止の際 被檢者は靜かに横臥又は安居し、囊を後方の机上に置くべし。此姿勢をまりたる後 10 分後に採集を行ふべし。終りの 5 分間は瓣を通じて呼出せしめ器に慣れしむるを要す。呼吸順調に復したる時呼氣の終りに於て三方活栓を轉回し呼氣を囊に送り時刻を記録し、5-6 分の後呼氣の終りに於て活栓を再び轉回して囊を閉ぢ時刻を注意して記録すべし。

2. 歩行疾走の際 此際は囊の大なるものを選ぶべし。歩行疾走は均等なる如く豫め練習すべし。

**呼氣の容積測定及び分析の準備。** 装器の脚口部及瓣を除去し、遊離端



第 47 圖

を第 47 圖に示す如き瓦斯採集管又は Bailey 罎に T 字管を以て接続すべし。

接続に先ちて瓦斯採集管(又は罎)を完全に水銀にて充たし置くべし。之には上下の活栓を管に對して開き均高球を擧げ T 字管の廣徑部まで達せしめたる後一方の活栓を閉づべし。茲に於て囊中の空氣を手を以て壓してよく混和せしめ、次で三方活栓を開き囊を靜かに壓して呼氣を瓦斯計に送入す。其量約 10 l に達したる頃採集管の活栓を開き、水銀が悉く流下したる瞬間に活栓を閉づ。囊中にある空氣を更に瓦斯計を通じて驅除し囊を捲きて出來得る限り空氣を排除すべし。

瓦斯計の讀より基準溫度壓に於ける 1 分間の容積に還元すべし。

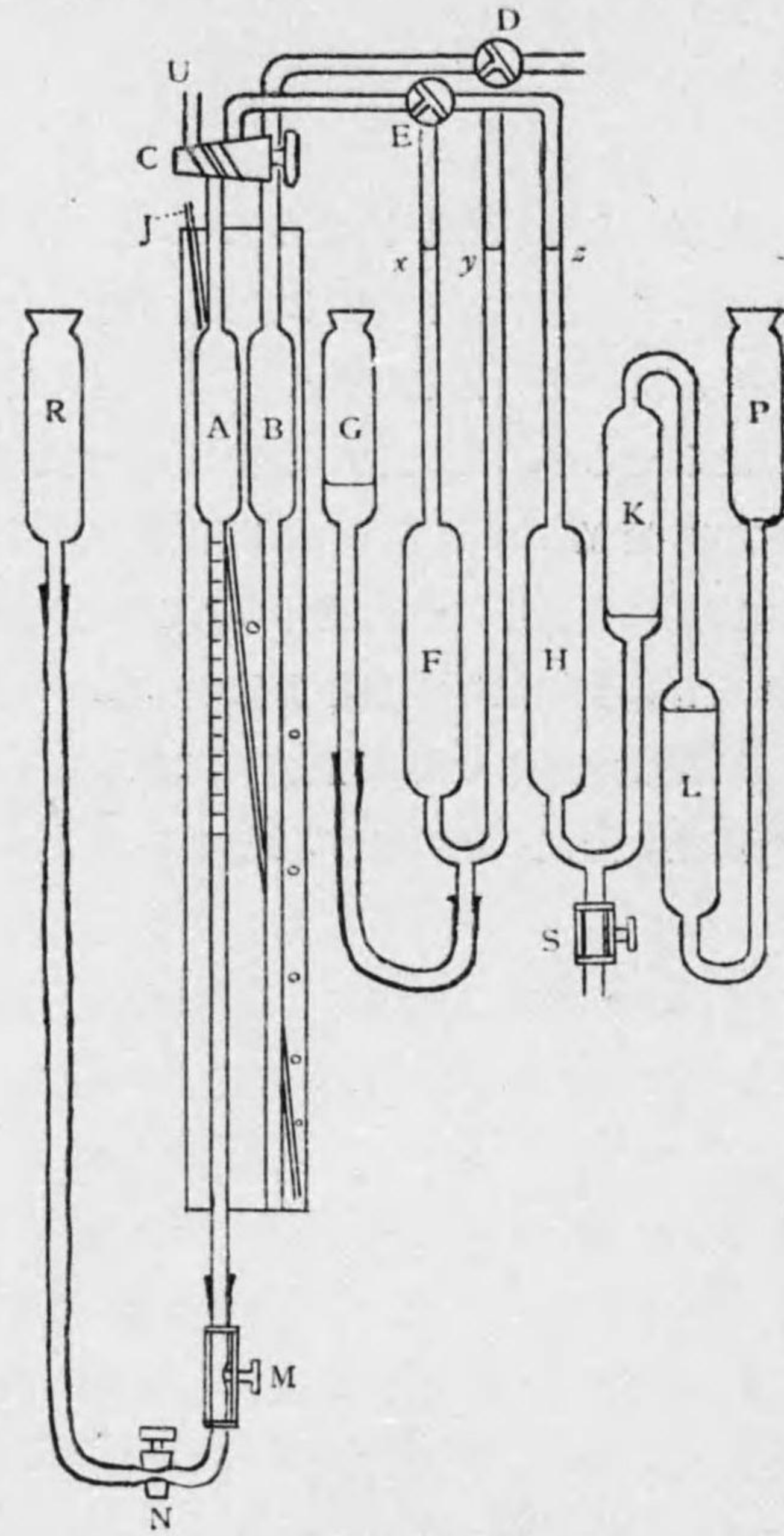
**瓦斯の分析** 第 73 節に記述せる Haldane の裝置により之を分析すべし。

## 第73節 Haldane の瓦斯分析器

**原理** 被験すべき空気を量管にて測り之を10% KOHと接觸せしめたる時の容積の減少より炭酸値を知る。次に飽和 KOH 液に10%の割に Pyrogallol を溶解したるものに酸素を吸収せしむ。此の時残留する瓦斯は窒素及び Argon なり。

**装置** 第48圖に示す如く瓦斯滴管 A は夫れと同容量の対照滴管 B と共に水筒中に存在し(水筒中に静かに硝子管 J より空気を吹き込みて其中の温度を均一にす)尙之に二酸化炭素を吸収する F 球及び酸素を吸収する H 球を連続せしむ。F は10% 苛性加里を含有し、H は滴性 Pyrogallol 液を含有す。

瓦斯量管 A は 21 cc の容積を有し、球の大きさは約 15 cc にして標尺せられたる幹は約 4 mm の内徑及び 60 cm の長さを有し 15 cc より 21 cc 迄の間は 0.01 cc に割度せられ居り量管の上端は一個の二方活栓を有し其位置によりて或は空気を外より A 中に吸引し、或は之を吸収管 F 又は H に送ることを得しむ。量管の下端は水筒の底部にある Gom 栓を通して出で Gom 管により均高球と接続す。N は活栓、M は水銀の高さを精密に均整する螺子なり。



第 48 圖

炭酸吸収管 F は 10% の苛性加里を含有し活栓 C 及 E を適當に廻轉して瓦斯量管 A と連続せしむることを得。対照滴管 B も亦氣壓計 y を通じて此炭酸吸収管 F に連絡せしむることを得。(此氣壓計は三方活栓によりて外氣も通ずることを得)。分析施行中に温度の變化ある時は氣壓計 y 中の滴性液の水面の高さに變化を生ず。

吸収後の瓦斯量を採讀する際には吸収管内滴液の水面を氣壓計に於けるものと同位にすべし。かくの如くする時は温度の變化による誤差を避くることを得。

酸素吸収球 H は殆んど飽和濃度にある苛性加里液 100 cc に 10 g の Pyrogallol を溶解して得たる溶液にて充たす。苛性加里液は苛性加里棒を同量の水に溶解して得らるべく其比重は 1.55 たるを要す。液面は球に附屬する幹に於ける標識 z に在らしむるを要す。Pyrogallol 液を管 S を通じて H 球の 8 割を占むる迄入らしめ、次に P より同じく Pyrogallol 液を注ぎて P 及 L に於ける液の水面の高さの差により H に於ける Pyrogallol 液の水面が z に達するに至らしむべし。此操作中活栓 E は開通し居ることを要す。Pyrogallol 酸鹽液を標識 z に精密に立たしむるには S を通じて少量の Pyrogallol 液を加減する必要あるべし。

分析開始に先ち K 及 L 間に介在する空氣より完全に酸素を吸収し去るを要す。然らざれば Pyrogallol 溶液の水準面の高に變化を招來すべし。又瓦斯滴管を吸収球と連結する毛管内空氣も亦  $\text{CO}_2$  及  $\text{O}_2$  を含有すべからず。之には本分析を行ふに先ち大氣の案山子分析をなすを可とす。最も重要な事は分析の開始に當り凡ての管内に於ける大氣壓を同一にするを要するにあり。之には瓦斯滴管に於ける活栓を大氣に向ひ開き、次に吸収管に對して開き、吸収管の幹の液の水準面に差なきに至らしむべし。此水準面を基準とす。瓦斯滴管内には水準上に少量の水を入れ水蒸氣を以て空氣を飽和せしむべし。採讀する前に液の流下を完結せしむるに充分なる時間を待つべし。瓦斯採集瓶には Bailey 罎を用ふるを可とす。瓶は底部に於て細管にて互に連絡せる二個の硝子圓筒より成り Cement により金屬袴を穿ち堅牢とせられり。圓筒の一方の頂部は漏斗狀に凹陷す。他の圓

筒の頂部は狭窄して三方活栓を有する 2mm 毛管さなる。而して該活栓の第二の開孔は第一圓筒の漏斗様頂部に屈俯する毛管に連続す。器には半ば水銀を以て充たし、使用前 1% 硫酸にて流洗す。

**實施** Bailey 罎の Gom 管を瓦斯滴管の開孔部 U に接続し、活栓 C を大氣に向ひて開き、均高球を上げ水銀を Bailey 罎の活栓を通じて彎曲毛管部まで至らしめたる後 Bailey 罎の活栓を轉回して瓦斯滴管と罎とを交差せしめ、均位球を下降せしめて瓦斯を滴管中に導入すべし。罎内瓦斯は絶えず少しく陽壓の下にある如くすべし。均位球の高さを適當の處に固定し、活栓 N を閉ぢ、螺子 M を旋回して滴管内水銀の高さを調製すべし。次に活栓を開きて吸接管と連絡せしむ。此時瓦斯滴管内空氣が大氣壓と同等なれば液の水準面に何等の變化を認めざるべし。瓦斯滴管に於て採讀を行ふべし。

茲に於て活栓 E をして A と F とのみの連結を行はしめ、均高球 R を上げて水銀を滴管内に、空氣を F 球内に導き、瓦斯を進退せしむるこゝ數回 CO<sub>2</sub> を完全に苛性加里液に吸収せしめたる後空氣を滴管内に悉く復歸せしめ、均高球 R にて水銀の高さを略等しくし活栓 N を閉ぢ螺子 M を旋回し F 管に於ける液の高さが原位置を占むるに至らしむべし。此時滴管を採讀し其容積の減少を算出し之を以て CO<sub>2</sub> の容量とす。

酸素は同様の方法により瓦斯を鹵性 Pyrogallol 溶液を盛れる吸収球 H に導き(活栓 E をして A と H とを連絡せしむ)吸収を行はしむべし。但し酸素の吸収は CO<sub>2</sub> の吸収よりも緩徐なるを以て吸収の完結を注意して検査するを要す。F 球と E 活栓との間の空氣は數回其中に存する酸素を排除する爲めに洗滌すべし。吸収完結したる時は瓦斯滴管に就て採讀し、第二回の容積の減少量を以て酸素量を知り得べし。

## 附錄 水素-Ion-濃度測定法

### 第一節 比色法

色素性標示薬を含有する溶液の呈する色彩は該色素の變色域に屬する一定の酸性度に於ては其標示薬の濃度以外に尙溶液の水素 Ion 濃度に伴ひて變化す。故に標示薬の變色域内の pH を有する二種の溶液に同量の一標示薬を加へたる時兩液が同一の色調を示す時は兩者は同一の pH 値を有するこゝを知るべし。此原理に基き一定の pH 値を有する緩衝劑液を具へ未知液と同一色彩を同一色素標示薬に對して呈するものを見むる時は未知液の pH 値を測定するこゝを得べし。此の如き方法によりて容易に溶液の水素 Ion 濃度を知るこゝを得。

各標示薬は其變色域比較的狭小なるを以て各種の水素-Ion-濃度を測定せむと欲せば多數の標示薬を具ふるを要す。且つ標示薬は後項説述する如く溶液内に存する鹽類若くは蛋白質の量によりて影響せらるるこゝ渺なきものを選択せざるべからず。今日まで多數研究者により試用せられ推奨せられたる色素性標示薬の中現今廣く用ゐらるるは Clark 及 Lubs の標示薬なり。其化學的名、商名等を擧ぐれば

Clark 及 Lubs の色素性標示薬

化 學 名	商 名	變 移 域 pH	色 酸	彩 鹵	濃 度 %
m-Kresolsulfophthalein	Metakresol-紫	0.5-2.5	赤	黄	0.04
Thymolsulfophthalein	Thymol-青	1.2-2.8	赤	黄	0.04
Tetrabromophenolsulfophthalein	Bromphenol-青	3.0-4.6	黄	青	0.04
Tetrabrom-m-Kresolsulfophthalein	Bromkresol-青	4.0-5.6	黄	青	0.04
Dibrom-ortho-Kresol-sulfophthalein	Bromkresol-紫	5.2-6.8	黄	紫	0.02
Dibromthymolsulfophthalein	Bromthymol-青	6.0-7.6	黄	青	0.04
Phenolsulfophthalein	Phenol-赤	6.8-8.4	黄	赤	0.02
Orthokresolsulfophthalein	Kresol-赤	7.2-8.8	黄	赤	0.02
Thymolsulophthalein	Thymol-青	8.0-9.6	黄	青	0.04

測定に際しては色素は表に掲げたる濃度にて 10 cc の被檢液中に 5 滴宛滴加すべし。標示薬根本液を調製するには 0.1 g 標示薬を琥珀乳鉢に

採り等量の 0.05 N 苛性曹達液即

色素名	0.1 g 色素に等量なる 0.05 N NaOH cc	色素名	0.1 g 色素に等量なる 0.05 N NaOH cc
Phenol-赤	5.7	Thymol-青	4.3
Bromphenol-青	3.0	Bromthymol-青	3.2
Kresol-赤	5.3	Chlorphenol-赤	4.8
Bromkresol-紫	3.7		

をよく研和して色素を中和せしめ、全く溶解したる後、水を加へて 25 cc に充たす。此液は 0.4% の色素を含有するにより之より適當に稀釋して之を用ゆべし。

**比較緩衝液** 各種の緩衝劑が其緩衝能を完全に發揮する pH 域は比較的狭小なるを以て各 pH に於ける緩衝液を得るには幾種かの緩衝劑を用ゆるを要す。

今日まで多數研究者により試用せられ推奨せられたる緩衝液及び其 pH 値を擧ぐれば

Clark 及 Lubs 鹽酸鹽化加里緩衝劑

0.2 HCl cc	0.2 KCl cc	稀釋容量	pH
97.0	50	200	1.0
64.5	50	200	1.2
41.5	50	200	1.4
26.3	50	200	1.6
16.6	50	200	1.8
10.6	50	200	2.0
6.7	50	200	2.2

Kolthoff 及 Vleeschhouwer: 枸橼酸緩衝劑

0.1 M 一加里枸橼酸鹽 cc	0.1 N HCl cc	稀釋容量	pH
25	23.05	50	2.2
25	20.10	50	2.4
25	17.05	50	2.6
25	14.00	50	2.8
25	10.95	50	3.0
25	7.95	50	3.2
25	4.95	50	3.4
25	1.95	50	3.6

0.1 M 酸性枸橼酸加里 cc	0.05 硼砂 cc	稀釋容量	pH
25	0.6	50	3.8
25	4.1	50	4.0
25	8.0	50	4.2
25	12.5	50	4.4
25	16.7	50	4.6
25	21.1	50	4.8
25	25.4	—	5.0
25	28.9	—	5.2
25	32.3	—	5.4
25	35.5	—	5.6
25	38.65	—	5.8
25	41.0	—	6.0

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 緩衝劑

0.15 m. KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> cc	0.15 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> cc	pH
9.75	0.25	5.29
9.50	0.5	5.59
9.0	1.0	5.91
8.0	2.0	6.24
7.0	3.0	6.47
6.0	4.0	6.64
5.0	5.0	6.81
4.0	6.0	6.98
3.0	7.0	7.17
2.0	8.0	7.38
1.0	9.0	7.73
0.5	9.5	8.04

磷酸鹽入手し難き時は 1 M 磷酸, 1 N 苛性曹達及水を 1:1:1 の割に混合して M/3 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> を, 1:2:0 の割に混合して M/3 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 液を調製することを得べし

Palitzsch: 硼酸緩衝劑

0.2 M 硼酸+NaCl	0.05 M 硼酸曹達	pH	0.2 M 硼酸+NaCl	0.05 M 硼酸曹達	pH
0.3	9.7	67.7	4.5	5.5	8.41
0.6	9.4	7.09	5.5	4.5	8.60
1.0	9.0	7.36	6.0	4.0	8.69
1.5	8.5	7.60	7.0	3.0	8.84
2.0	8.0	7.78	8.0	2.0	8.98
2.5	7.5	7.94	9.0	1.0	9.11
3.0	7.0	8.08	10.0	0.0	9.24
3.5	6.5	8.20			

## Kolthoff : 炭酸曹達鹽酸緩衝劑

0.1 N Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> cc	0.1 N HCl cc	稀釋容量	pH
50	20	100	10.17
50	15	100	10.35
50	10	100	10.55
50	5	100	10.86
50	3	100	11.04
50	0	100	11.36

## Ringer : 第二磷酸鹽苛性曹達緩衝劑

0.15 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1 M NaOH	pH
50	15	10.97
50	25	11.29
50	50	11.77
50	70	12.06

同一緩衝劑にて長き領域に互り用る得らるるものは Mc Ilvaine の緩衝劑なり此のものは枸橼酸鹽と磷酸鹽とより構成せらる。

## Mc Ilvaine : 枸橼酸磷酸鹽緩衝劑

0.1 M 枸橼酸 cc	0.2 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> cc	pH	0.1 M 枸橼酸 cc	0.2 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> cc	pH
19.60	0.40	2.2	9.28	10.72	5.2
18.76	1.24	2.4	8.85	11.15	5.4
17.82	2.18	2.6	8.40	11.60	5.6
16.83	3.17	2.8	7.91	12.09	5.8
15.89	4.11	3.0	7.37	12.63	6.0
15.06	4.94	3.2	6.78	13.22	6.2
14.30	5.70	3.4	6.15	13.85	6.4
13.56	6.44	3.6	5.45	14.55	6.6
12.90	7.10	3.8	4.55	15.45	6.8
12.29	7.71	4.0	3.63	16.47	7.0
11.72	8.28	4.2	2.61	17.39	7.2
11.18	8.82	4.4	1.83	18.17	7.4
10.65	9.35	4.6	1.27	18.73	7.6
10.14	9.86	4.8	0.85	19.15	7.8
9.70	10.30	5.0	0.55	19.45	8.0

**實施** 先づ如何なる標示薬が適當なるかを定むべし。即ち Kongo-, Lackmus-, Phenolphthalein 紙にて檢し Phenolphthalein に対して酸性にして Lackmus に対して弱鹼性なれば pH 7-8 附近を想像し其領域の比較溶液及び標示薬を試むるが如し。

試験管は無色の硝子より成るものを選び且口径相等しきを要す。10 cc 溶液を試験管に入れ之に 0.05 cc の標示薬を加へ、比較溶液も同様に處理す。被檢液並びに比較溶液に色素を添加するは必ず同量なるを要し且つ出來得る限り同時に添加すべし。比色は可成的速かに之を行ふべし之れ色素標示薬の或ものは酸性度の變化によりて溶解度を異にし沈澱することあり又酸性度によりては分解破壊を蒙むるものあるが爲なり。

試験管は之を垂直に對し 35-40° の角度を有する如く試験臺に掛け白色陶土板若くは白紙を背景として被檢液と同色調を有する比較溶液を探求すべし。

## 比較緩衝液を用ゐずして pH を測定する法

## 1. 一色性色素を標示薬とする法

(Michaelis-Gyemont の法<sup>\*)</sup>)

**原理** 一色性色素が或溶液内にて色彩を呈する時其色調は色素の一部が着色分に變じたる量に比例す此量は鹼性色素液にて色素が悉く着色質に變じたるものを稀釋し比色して其濃度より之を測定することを得。

被檢液中にある標示薬の一部は酸として存在し一部は鹽として存し此二者の間には次の關係あり。

$$[H^+] = K \cdot \frac{\text{標示薬酸}}{\text{標示薬鹽}}$$

故に今標示薬の全濃度を 1 とし其着色分の濃度を F とすれば

$$[H^+] = K \cdot \frac{1-F}{F}$$

此式の兩數の對數を探り

$$\log [H^+] = \log K + \log \frac{1-F}{F}$$



logK の代りに -pK を入れば

$$pH = pK + \log \frac{F}{1-F}$$

故に一色性色素の-pK の値 (次の式を見よ) 知れ居る時は此式より pH の値を知ることを得.

第 2 表

標示薬	濃度	色彩	pK					應用 pH 域
			16°	18°	20°	30°	40°	
β-Dinitrophenol	0.1	黄	3.71	3.69	3.68	3.62	3.56	2.2-4.0
α-Dinitrophenol	0.1	黄	4.08	4.06	4.05	3.99	3.93	2.8-4.4
ζ-Dinitrophenol	0.1	黄	5.16	5.15	5.14	5.09	5.04	4.0-5.5
p-Nitrophenol	0.1	黄	7.22	7.18	7.16	7.04	6.93	5.2-7.0
m-Nitrophenol	0.3	黄	8.35	8.33	8.31	8.22	8.15	6.7-8.4
Phenolphthalein	0.04 (30% Al- cohol)	赤	第 4 表 を 見 よ					8.5-10.5
Alizarin 黄 GG	0.05 (50% Al- cohol)	黄						10.0-12.0

**實施** 一列の試験管に標示薬の 1, 0.5, 0.25 cc 及び 10 倍稀釋液 1.25 0.63; 0.32; 0.16 cc, 次に 100 倍稀釋液 0.8; 0.4; 0.2 cc を採り各管に 0.01-0.02 苛性曹達 9 cc. を加へ水を以て稀釋し全容を 11 cc とす。斯くして得たる色標尺の互に隣れる二管は其色調を明かに區別することを得べし。

爰に於て他の一管に 10 cc の被檢液及び 1 cc の標示薬原液を入れ, 5 分の後比較管の何れも同色調を有するかを検すべし。比色は天空(白雲を最良とす)に向ひ透過光線にて行ふか, 又は白色紙の前に管を持して之を爲すべし。練習により微小なる色調の差も之を鑑識するに至ることを得。

色彩度 F は被檢液も同色調を呈する比較管内に含有せらるる標示薬原液量 cc にて表はさる。例へば被檢液の呈する色が 10 倍稀釋標示薬液 1.25 cc を含有する比色管も同色調なりとせば F=0.125 なり。是より被檢色彩 pH を知らむとせば先づ F の値より  $\log \frac{F}{1-F}$  を計算すべし。之には F と  $\varphi = \log \frac{F}{1-F}$  の値の關係を曲線にて表はしたるものを用ゆるか, 又は第 3 表を用ゆれば便利なり。

第 3 表 (Kolthoff による)

F	φ	F	φ	F	φ	F	φ
0.002	-2.69	0.01	-2.00	0.10	-0.95	0.50	± 0.00
0.004	-2.40	0.015	-1.80	0.14	-0.79	0.60	+ 0.20
0.006	-2.22	0.025	-1.60	0.18	-0.65	0.70	+ 0.38
0.008	-2.07	0.040	-1.38	0.20	-0.59	0.80	+ 0.60
0.010	-2.00	0.060	-1.20	0.25	-0.47	0.85	+ 0.75
—	—	0.080	-1.06	0.35	-0.25	—	—
—	—	0.100	-0.95	0.40	-0.18	—	—
—	—	—	—	0.50	± 0.00	—	—

上例にては F が 0.125 なるにより φ = -0.85, 従つて p-Nitrophenol を標示薬として用ひたりとせば 20° に於ける標示薬の pK は 7.16 なるにより pH = 7.16 - 0.85 = 6.31.

注意して調製せられたる比較管は若し之を熔閉し直射光線を避けて貯ふる時は永久の使用に堪ゆべし。尤も毎月 1 回宛試験を施行して原色彩を維持することを査證するを要す。

Phenolphthalein 及び Alizarin-黄の如く多結澗性標示薬酸にては上記 F-φ 表により pH 値を算出することは不能, 此兩標示薬の場合には次に掲ぐる表 (Michaelis) を用ゆべし。

第 4 表

F	pH	F	pH	F	pH	F	pH
Phenolphthalein							
0.010	8.45	0.09	8.90	0.34	9.40	0.60	9.90
0.014	8.50	0.12	9.00	0.40	9.50	0.65	10.00
0.030	8.60	0.16	9.10	0.45	9.60	0.70	10.10
0.047	0.70	0.21	9.20	0.50	9.70	0.75	10.20
0.069	8.80	0.27	9.30	0.55	9.80	0.80	10.30
Alizarin-黄 GG.							
0.13	10.00	0.29	10.60	0.56	11.20	0.83	.80
0.16	10.20	0.39	10.80	0.66	11.40	0.88	12.00
0.22	10.40	0.46	11.00	0.75	11.60	—	—

緩衝能力小なる溶液(例へば水道の如し)にては標示薬の添加により其 H 値を變ずること大なるにより此際には標示薬の濃度が小なるを要す。Bresslau は次の如き標示液濃度及び比較液を賞用せり。

被検液 pH	比較標示液の含量 (0.1 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> を加へて 100 cc とす)	被検液の pH	比較標示薬の含量 (0.1 N Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> を加へて 100 cc とす)
0.1:300 p-Nitrophenol	標示薬液 18 倍稀釋	7.4	5.67
5.6	2.31 cc	7.6	6.6
5.7	2.91	0.1:400 α-Dinitrophenol	標示薬原液
5.9	4.5	4.6	2.0
6.1	7.0	4.8	2.8
6.25	9.7	5.0	3.8
	標示薬原液	0.1:150 m-Nitrophenol	標示薬原液
6.4	1.3	8.3	4.4
6.6	1.9	8.5	5.4
6.8	2.67	8.7	6.4
7.0	3.6		
7.2	4.56		

尙次の表に掲ぐる標示薬液は同色調を呈す。

標示薬	其の濃度	耐久管の pH											
α-Dinitrophenol	0.1:200	2.6	2.8	3.0	3.2	3.4	3.6	3.8	4.0	4.2	4.4	4.6	—
p-Nitrophenol	0.1:100	—	5.2	5.4	5.6	5.75	5.9	6.05	6.2	6.35	6.5	6.6	6.67
p-Nitrophenol	0.1:300	5.6	5.7	5.9	6.1	6.25	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.65
p-Nitrophenol	0.1:600	5.9	6.0	6.2	6.45	6.6	6.8	7.05	7.35	7.95			
m-Nitrophenol	0.3:100	6.7	6.8	7.0	7.1	7.3							
m-Nitrophenol	0.1:150	7.4	7.45	7.7	7.9	8.15							
m-Nitrophenol	0.1:300	7.75	7.8	8.1	8.4								
m-Nitrophenol	0.1:600	8.17	8.35	8.9									

2. 二色性色素を標示薬とする法

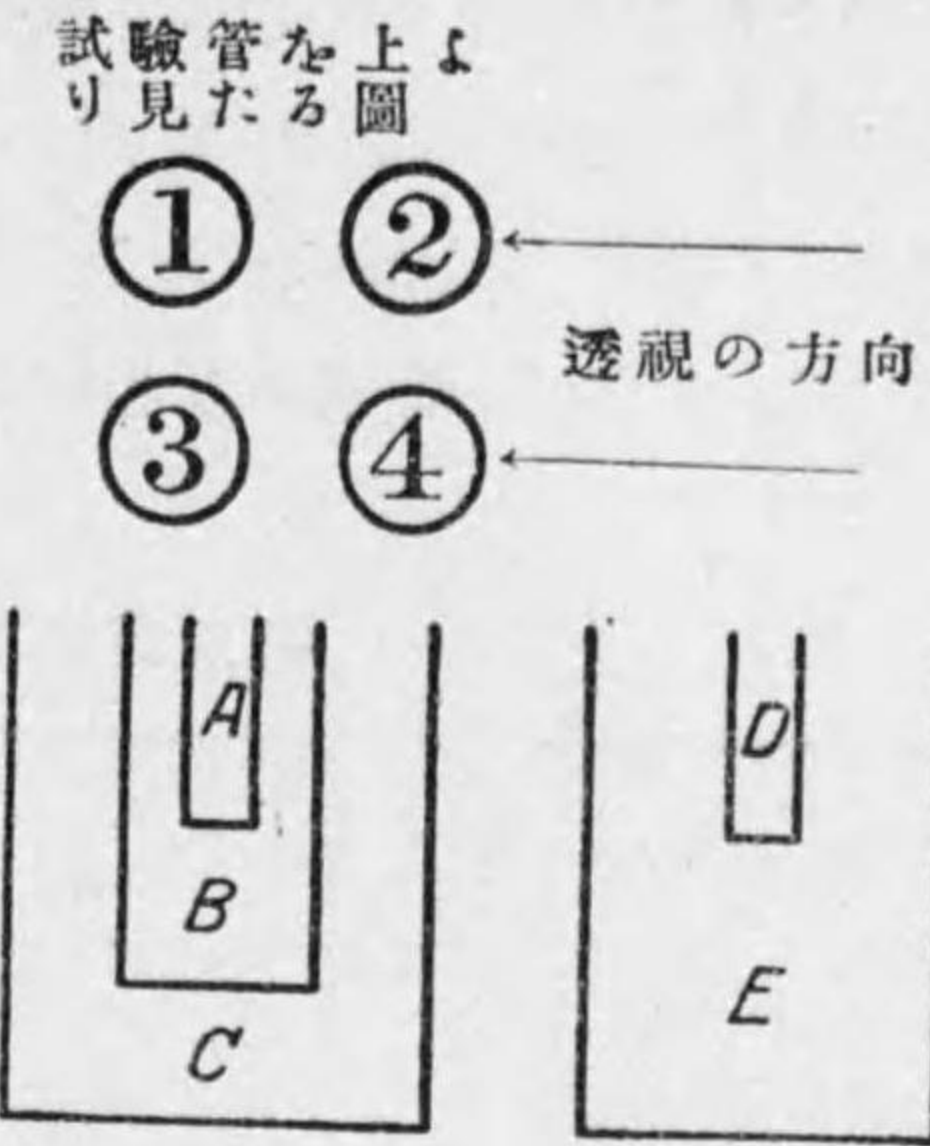
原理 純酸性色及び純鹼性色の間に介在する各中間色を鹼性標示薬液の層並びに酸性標示薬液の層を透過せしめたる光線にて作り之を被検液の色彩を比較する法なり。

Gillepsie は 4 個の試験管を採り第一管に酸性標示薬液、第二管に鹼性標示薬液を入れ且つ兩管中に存する標示薬の滴数の和を常に 10 とせり。

例へば第一管に 3 滴入るる時は第二管には 7 滴を入るるが如し。各管に 5 cc の酸性液若しは鹼性液を入る第三管には 5 cc の被検液及 10 滴の標示薬を入れ、第 4 管には 5 cc の水を盛る。比色する際には矢の方向に觀察すべし。管は底平たき錠剤容器にて可なり。此法は簡單にして特別の装置を要せず酸性及鹼性液中の標示薬滴定より

$$pH = pK + \log \frac{\text{酸性液中滴数}}{\text{鹼性液中滴数}}$$

により計算することを得。又は Gillepsie は比色計の一側容器 E には被検液及標示薬を入れ、他側容器中 C には鹼性標示薬液、B には酸性標示薬を入れる(標示薬の滴加数は何れも同じくすべし)。A 及び C は動かさず、B は上下に移動す。B の移動により酸性及鹼性標示液の比變化す。此の移動の度を標尺にて讀むを得べし又直接に pH 値を標尺に附するも可なり。A 及 D の中 D には水、A には標示薬を混ぜざる被検液を入るべし。



第 49 圖

比色 pH 測定法の誤謬

比色 pH 測定法は檢電 pH 測定法に比し甚だ簡單なれども種々の原因により測定に誤謬を來たすことあるを以て注意を怠るべからず、以下主なる誤謬を摘記すべし。

1. 酸謬 標示薬は多くの場合酸として使用する此の際には之を被検液内に加ふる時其溶液の pH に變化を及ぼすことを免れず。此の影響は殊に溶液が純水又は中性鹽溶液の如く緩衝性に乏しき時、及び標示薬の酸としての性状大なるものに著しく大なり、故に標示薬は酸性の性状餘り大ならざるものを選び、其濃度を出來得る限り小さくすること必要なることあり。

標示薬を鹼として用ゆる際には其ものの水解により溶液は鹼性に偏移す。

2. 鹽謬 標示薬は弱酸なるが故に中性鹽の存在によりて其電離度に影

響を受くることあるのみならず鹽類は標示薬の色彩に屢々大なる變化を來たすことあるを以て同じ pH 値を有する溶液も其中に存在する鹽類の濃度異なるものは色彩を異にするこゝあり。之は各標示薬色素に就て別々に其影響を調査し之を補正するより外なく、或種色素は全く標示薬として用を爲さざるものあり。

標示薬鹽類補正表 (Kolthoff)

標示薬	中性鹽濃度 (定規度)			
	0.1	0.25	0.5	1.0
Tropäolin OO	-0.03	-0.04	-0.04	+0.08
Thymol-青(酸階)	-0.06	-0.10	-0.10	-0.10
Methylorange	-0.08	-0.09	-0.05	+0.09
(不適) Bromphenol-青	-0.05	-0.19	-0.40	-0.50
(不適) Kongo-赤	±0.00	-0.25	-0.50	-1.00
Nitramin	-0.06	-0.14	-0.15	-0.30
(不適) Tropäolin	-0.38	-0.48	-0.58	-0.80

但し中性鹽の濃度が生體體液中に在る如き濃度(0.01-0.2N)なる時は特殊不適當の色素を除き殆んど補正を加へざるも可なるもの如し。

**3. 蛋白質誤** 凡ての蛋白質、其分解産物及び其他膠質性物質は標示薬の色彩に大なる影響を有す。其主なる原因は是等物質に吸着せらるるに在り其影響の度は色素により蛋白質により各々異なるに因り補正を加ふるこゝも亦容易ならず。但し Cullen<sup>1</sup> は血漿及血清 pH 値測定に Phenol-赤色を用ゐたる場合人血漿に -0.22; 犬血清に -0.35; 家兎血漿に -0.17 の補正を加へたり。

p-Nitrophenol 及 Methyl-赤は蛋白質の影響を受くるこゝ小なり。他の色素に就ては檢電測定法により蛋白質誤の大きさを豫め窺知したる後之を用ゆべし。

**4. Alcohol 誤** Alcohol を水に添加する時は其誘電恒数を減少する爲め水の解離積を變化せしむるのみならず、標示薬の電離恒数を變ずるを以て影響するも Kolthoff, Michaelis 及水谷等によれば一定の補正により之を除くことを得こいふ。

1. J. Biol. Chem 52, 501. 1922

Alcohol 誤, 温度 12° (Kolthoff)

標示薬	Alcohol 含量 %					
	10	20	30	40	50	70
Thymol-青(酸階)	±0.00	+0.02	+0.07	+0.15	+0.21	+0.30
Tropäolin OO	-0.06	-0.23	-0.60	-1.0	-1.4	-1.9
Dimethyl-黄	-0.11	-0.24	-0.48	-0.8	-1.1	-1.7
Methylorange	-0.10	-0.20	-0.47	-0.9	-1.2	-1.8
Phenolphthalein	+0.06	+0.10	+0.15	+0.45	+1.0	+2.2
Thymolphthalein	+0.1	+0.3	+0.6	+1.0	+1.3	+1.9
Nitramin	-0.25	-0.6	-0.9	-1.05	-1.1	-1.25

Alcohol の含量 10% 以下なる時は之を不問に附して可なり。

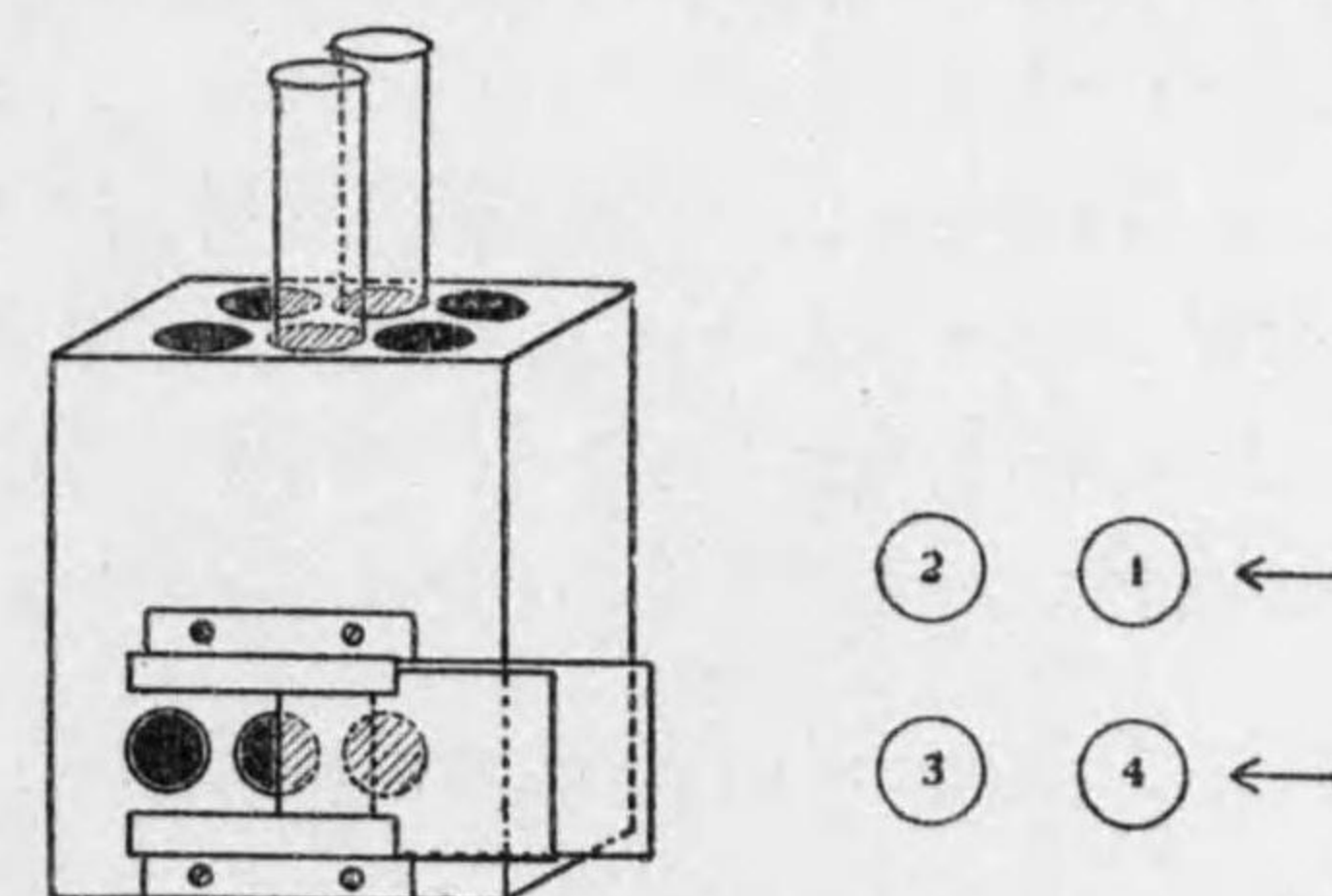
Nitrophenol 標示薬の pH 値と Alcohol 含量 (Michaelis 及水谷)

標示薬	Alcohol 含量 %									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
m-Nitrophenol	8.37	8.56	8.75	8.97	9.15	9.40	9.60	9.92	10.24	10.73
p-Nitrophenol	7.15	7.17	7.28	7.38	7.63	7.85	8.11	8.34	8.59	8.90
ζ-Dinitrophenol	5.15	5.20	5.23	5.39	5.45	5.58	5.70	5.95	6.08	6.46
α-Dinitrophenol	4.00	4.00	4.00	4.00	4.15					

### 帯色液若くは濁濁液の pH 値測定

被檢液が既に一定の色彩を有する時又は濁濁し居る際には圖の如き比色器を用ひ比較溶液標示薬混合管を通じたる光線を更に被檢液を透して眺め之を被檢液標示薬混合管を通じたる光線を更に水を透したるものと比

較すべし器は木塊に二列に並べる6個の上下孔道を穿てるものにして各二列の孔道は下方に近く器の前後に貫通する三個の孔道にて互に連絡し其後面に乳色又は青色硝子板を挿入する枠を具ふ。



第 50 圖

管1に被検液+標示薬, 管3には比較管, 管4には被検液, 管2には水を入る。

### 緩衝度の測定

**原理** 溶液の緩衝度は之に一定量の酸若くは鹼性を添加した際の pH 値の移動により測定せらるべし。例へば pH A なる溶液に a 量の HCl を加へたる時溶液の pH 値が B となりたりすれば

$$\tan \alpha = \frac{\text{pH}_A - \text{pH}_B}{a}$$

而して緩衝度絶大なる時は  $\tan \alpha = 0$  に, 緩衝度僅小なる時は  $\tan \alpha = \infty$  なるにより緩衝度は  $\tan \alpha$  の反数即  $\text{Cotg } \alpha$

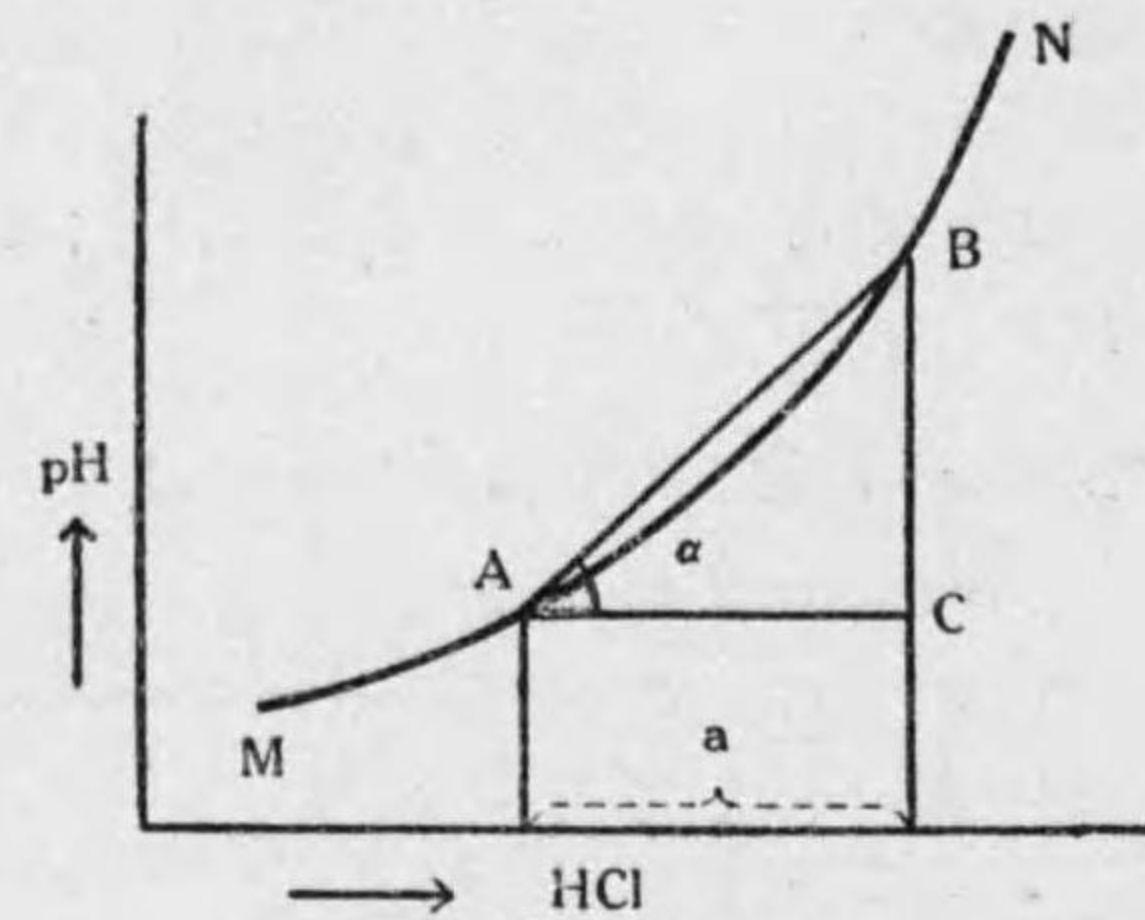
$$pC = \frac{a}{\text{pH}_A - \text{pH}_B}$$

にて表はさるべし, 又 NaOH を b 量丈添加した際の pH 値の變化よりも同様にして緩衝度を窺知するこゝを得べし。尤も此際は  $\text{pH}_B > \text{pH}_A$  なるにより pC 値は負数なるべし。

通常の場合には緩衝液 10 cc を採り之に 0.01 N の HCl 又は NaOH を a cc 加へたる時の pC を以て緩衝液の緩衝度を表はす時は便利なる事多し。

實施に際しては先づ溶液の  $\text{pH}_A$  値を測定し, 別に第3表に掲けたる表より  $\text{pH}_B$  に相等したる色調度を有する比較標示薬液を調製し, 之と同色調を呈するに至る迄被検溶液(規定量の標示薬を含有す)に 0.01 N の HCl 又は NaOH (是等にも同濃度の標示薬を添加し, 被検液中の標示薬濃度の軽減することを防止するを要す)を滴加し其量を測定す。

**實施** 先づ Michaelis の pH 測定標示薬を用ゐて下の如き溶液を調製すべし。



第 51 圖

標示薬	第 I 液	第 II 液	第 III 液	第 IV 液
$\beta$ -Dinitrophenol	飽和水溶液	第 I 液 10分 水 90分	0.1 Ncc 10分 第 I 液 10分 水 80分	0.1 N NaOH 10分 第 I 液 10分 水 80分
$\alpha$ -Dinitrophenol	飽和水溶液	”	”	”
p-Nitrophenol	0.1% 水溶液	”	”	”
m-Nitrophenol	0.3% 水溶液	”	”	”
Phenolphthalein	{0.1 g + 75 cc Al- cohol + 175 cc 水	”	”	”

多くの生體體液にては Para- 及 Metanitrol にて事足るべく時さして之に  $\alpha$ -Dinitrophenol を要するこゝあり。是等の第 III 及第 IV 液は空氣中より炭酸の竄入を防ぎたる貯瓶中に蓄へ之に滴管を具ふべし。滴定は無色なる内容約 50 cc の平底調材硝子容器を選むべし。

一定の pH 値例へば  $\text{pH} = 6.2$  なる値を有する被検液が  $\text{pH} 7.5$  に對し幾何の緩衝度を有するかを測定せむとせば先づ  $\text{pH} 7.5$  なる比較標示薬液を作成すべし。之は Metaphenol の範圍なるにより 0.01 N NaOH + Metaphenol 混合液(第 IV 液)にて作るを得。即此標示薬の pK 値 8.335 より 7.5 を控除したる 0.835 に相當する色彩度  $F = 0.113$  を第3表によりて知得し, 第 II Metanitrophenol 液の 1.13 cc 並 0.01 N NaOH の 9.87 cc を混合して該色調比較液を作るべし。此の如き液 20 cc を上記滴定硝子に容る。次に第二の滴定硝子に 10 cc の被検液, 1 cc の Metanitrophenol (第 I 液)を入れ之に滴管より鹼性 Metanitrophenol 第 IV 液を滴下し溶液が比較標示薬液と同色調を帯ぶるに至らしむべし。色調を比較するには溶液の厚さ異なるにより常に水平の方向に於て行ふことを要す。10 分の後に鹼性 Metanitrophenol (第 IV 液)の消費量を決定す。若し第 IV 液の量過ぎて被検液の色彩が比較標示薬よりも濃厚となりたる際には酸性標示薬(第 III)液を加へて色調を匡正し且つ第 III 液の消費量を第 IV 液の消費量より控除すべし。今被検液を  $\text{pH} 7.5$  の比較標示薬液と同色調ならしむる爲めに要したる第 IV 液の量を假りに 8.0 とすれば緩衝度は

$$pC = \frac{a}{\text{pH}_A - \text{pH}_B} = \frac{8.0}{6.2 - 7.5} = 6.15$$

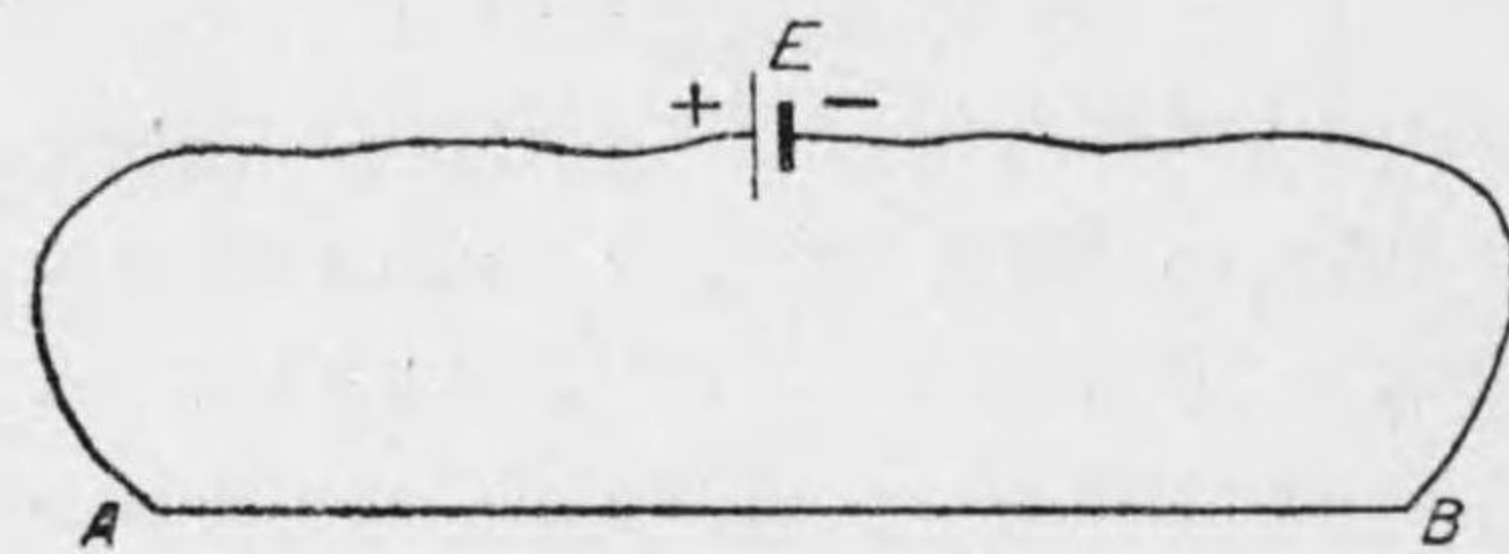
なり。

第二節 檢電的水素-Ion濃度測定法

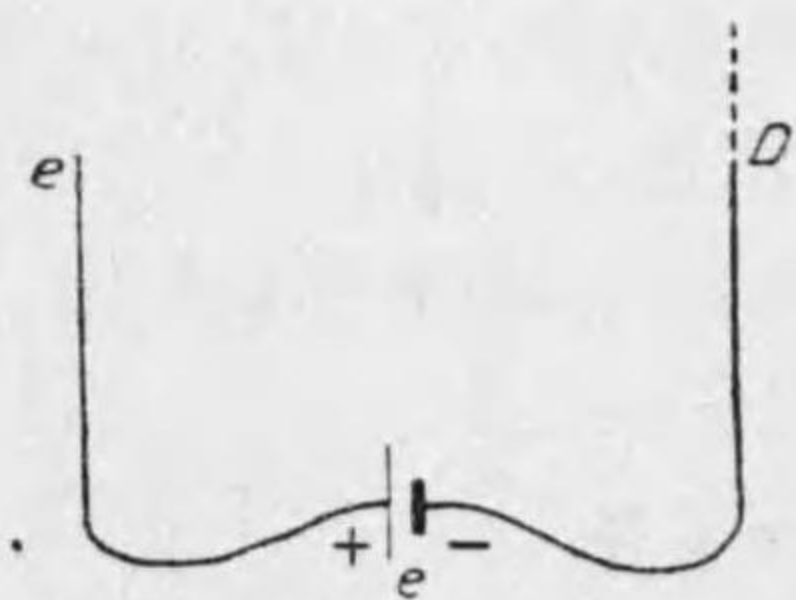
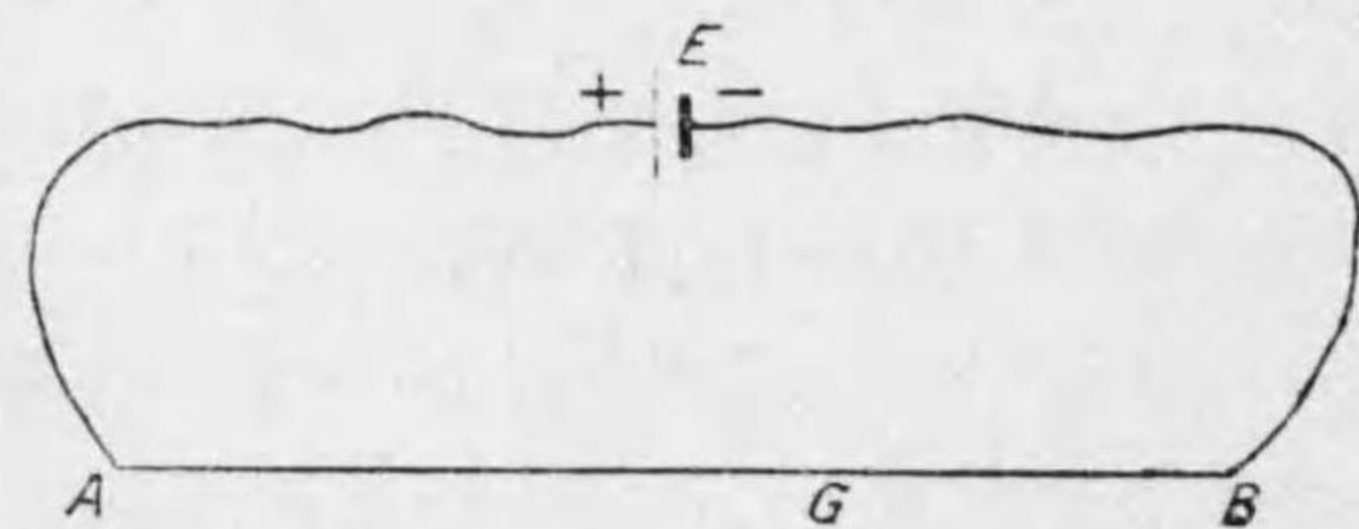
電動力の測定

原理 濃淡電池の電動力を測定するに際し兩極を連結したる導線内に電力計を挿入して磁針の偏差を検する法は不可なり。之れ電流の交通と共に忽ちにして電力小なる濃淡電池の電位差輕減し眞値を得るこゝ能はざるが爲なり。故に此の如き電池の電動力測定には補償法を用ふるを例さす。

補償法の原理は被檢電池間に電流を流通せしめず兩極間に適當なる一定値を有する第二の電位差を反對の方向に挿入し被檢電極間に電流交通を阻止せしめて電位差を決定するなり。之を圖を示して説明せむに第52圖に



第 52 圖



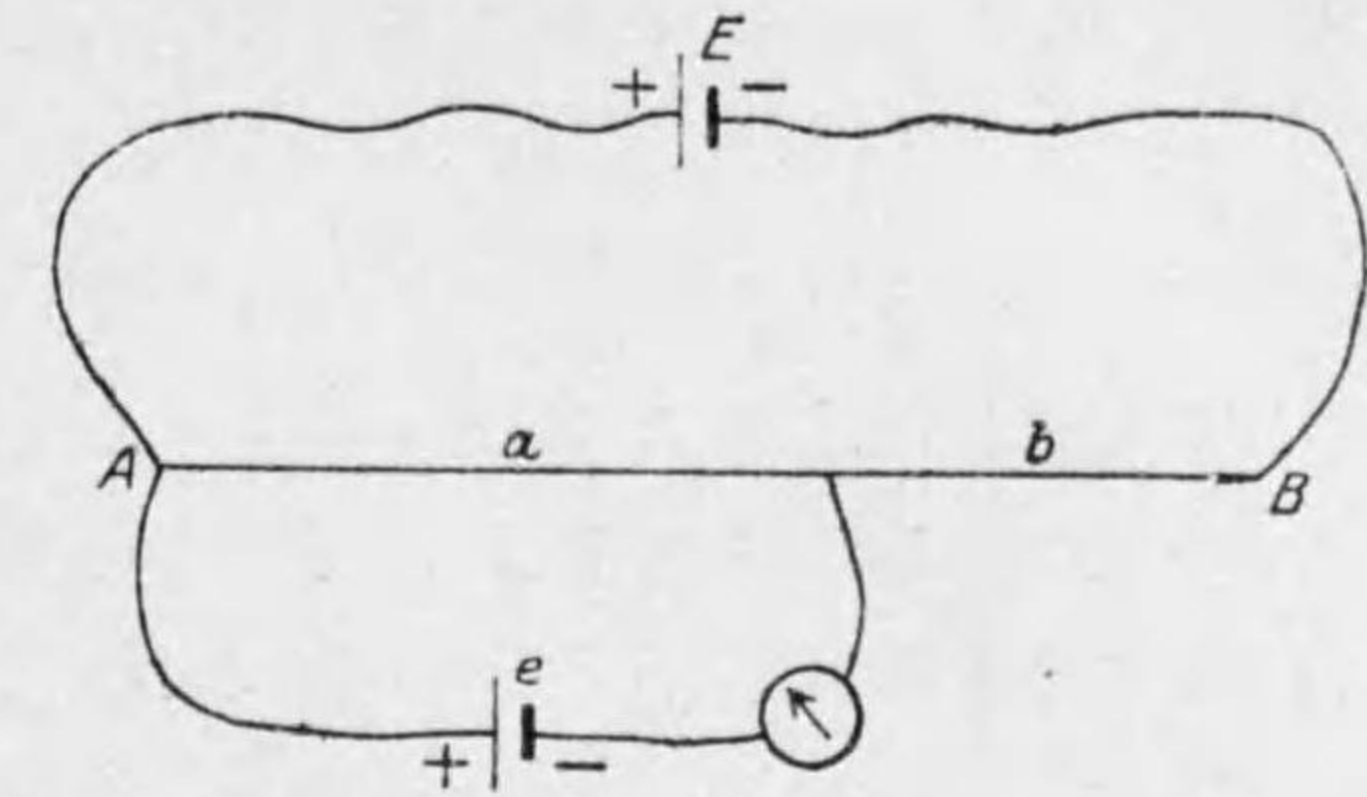
第 53 圖

於てEを一定電源例へば蓄電池とし、ABは大なる抵抗を有する目盛せられたる薄線としA及びBの兩端を太き銅線(殆んど抵抗を呈せず)にて連結するにAB間に電位の落差平等に行はれAに對する電位差はBよりAに近づくに従ひ漸次減少す。今又第53圖に於ける如くEより小なる電動力を有する電源eの兩端にC及Dなる銅線を附したるものを考ふにCに對するDの電位差と同様な電位差をAに對して有

する點GがAB線上に在るべし。故に第54圖の如くC端をAに、D端をGに接続せしむる時は電流源eは電流を發現せしめず。斯の如き状態に於ては兩電源E及eとの間には下の關係存在す。

$$\frac{E}{e} = \frac{a+b}{a}$$

但し此場合にはaはADの距離、bはDBの距離さす。故に電流源eを通して電流發現せしめざる點Dを測定すれば上式によりてeの



第 54 圖

價を知るこゝを得べし。Dの位置を測定するにはD點を滑走子として隨意にAB線上に位置を變ぜしめe電源を包藏する小電環内に挿入したる電流検査器が毫も電流の流通を示さざる點を求むれば可なり。

橋梁 上記D點の位置を決定するに好みて用らるるものは所謂橋梁なり。此のものは緊張せられたる白金線を標尺上に裝したるものにして其兩端はA及Bに相當し、a及bは容易く之を標尺上に採讀するこゝを得。

測度用電池 eの値を知るには上記Eの値が精確に知らるるこゝを要す。Eには蓄電池を用ゆ、蓄電池の電壓は通常2.1-2.3 Voltなるも其値は甚しく動搖し又使用に際し漸次變化するを以て其値を不絶 Westonの定規電池にて測定するを要す。

Westonの定規電池 Cadmium電池にして其電動力著しく恒定し且つ温度による影響極めて小なるを以て愛用せらる。其電壓は1.0186 Voltなり。

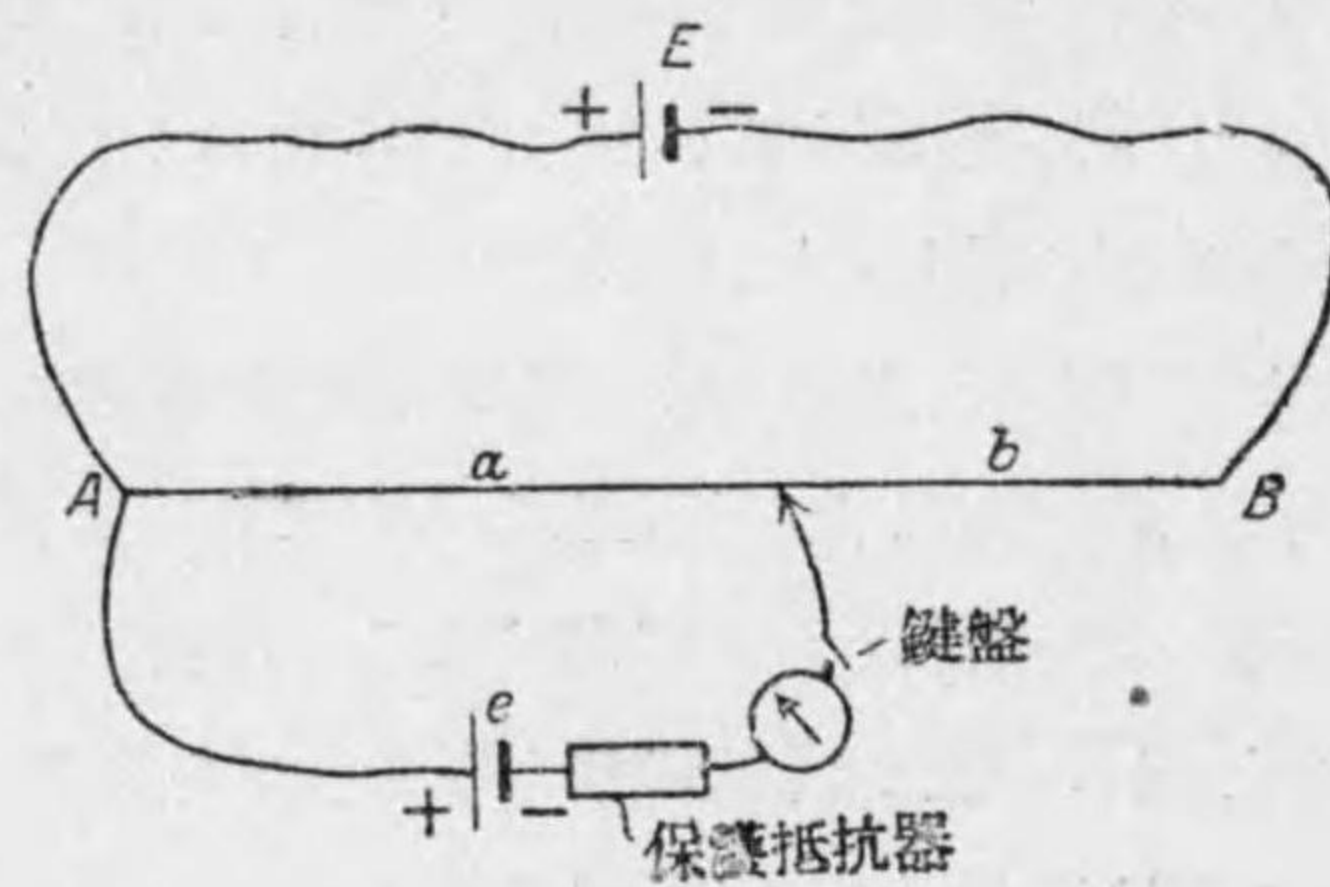
定規電池を取扱ふには常に細心の注意を要す。之を震盪し又顛倒すべからず。又決して極めて僅微なる電流以外を通ぜしむるこゝ勿れ。少しく多く電流を通過せしむる時は電壓忽ち減少し恢復するこゝ極めて徐々なり。此の如き電流の流通屢々なる時は最早全く之を用ゆるこゝ能はざるに至るべし。定規電池の電極に附屬せる電線は必ず之を硝子板上に置き絶縁を完全ならしむべし。定規電池は之を2個具へ、其1は常用し、他は之

を基準するに用ゆべし。

**蓄電池の電動力の測定** 蓄電池の電動力を測定するには上記大小二電環の  $e$  に Weston の定規電池を入れ橋梁上にて  $a$  及  $b$  の値を測り

$$E = e \frac{a+b}{a}$$

により  $E$  の値を算出するこゝを得べし。但し此際  $e$  には毫も電流通過せしめずして  $D$  点を見出すこゝは甚だ難く滑走子が正當なる點に遭遇せざる限り必ず一定の電流が定規電池を流通するを免かれず。可成的電流が  $e$  を通過するこゝを避くるには  $e$  を包藏する小電環内に鍵盤を装し電流の通過を瞬間的にし單に檢電計の振れを見るに止まらしむるのみならず、小電環内に保護抵抗器(10萬 Ohm の挿填抵抗器を用ゆるを可こす)を挿入し初



第 55 圖

めは先づ抵抗を大にし  $D$  點が適當なるか即  $e$  電環に電流通ぜざるか否やを鍵盤を押して檢すべしかくする時は電流通ずるも其強さ極めて小にして電池及檢電計を害するに至らず。檢電計に電流の通過を示さざるに至れば漸次抵抗を輕減し終

には全く抵抗を去りて  $D$  點の位置を決定すべし。然る時は蓄電池の電壓は

$$E = \frac{a+b}{a} \times 1.0186 \text{ Volt}$$

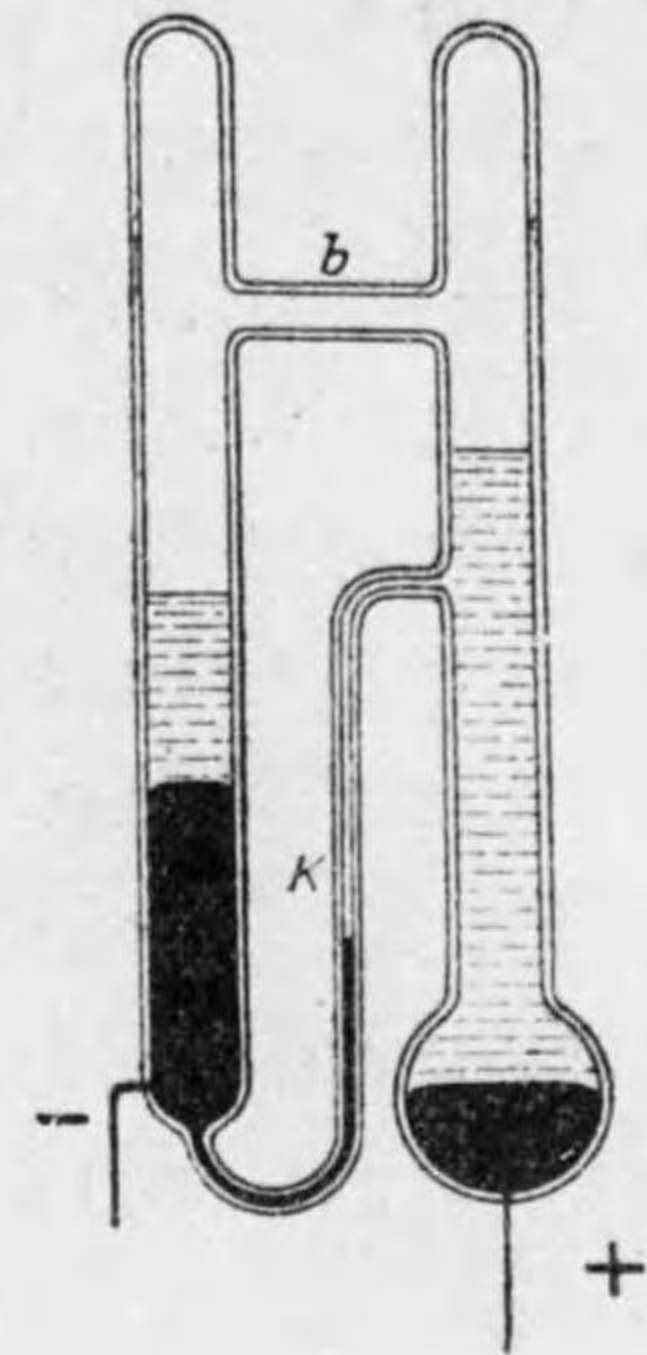
なり。

**未知電動力の測定** 未知電動力を定規電池の代りに挿入し滑走子を移動して小電環内に電流通過せざる點を求むれば可なり。

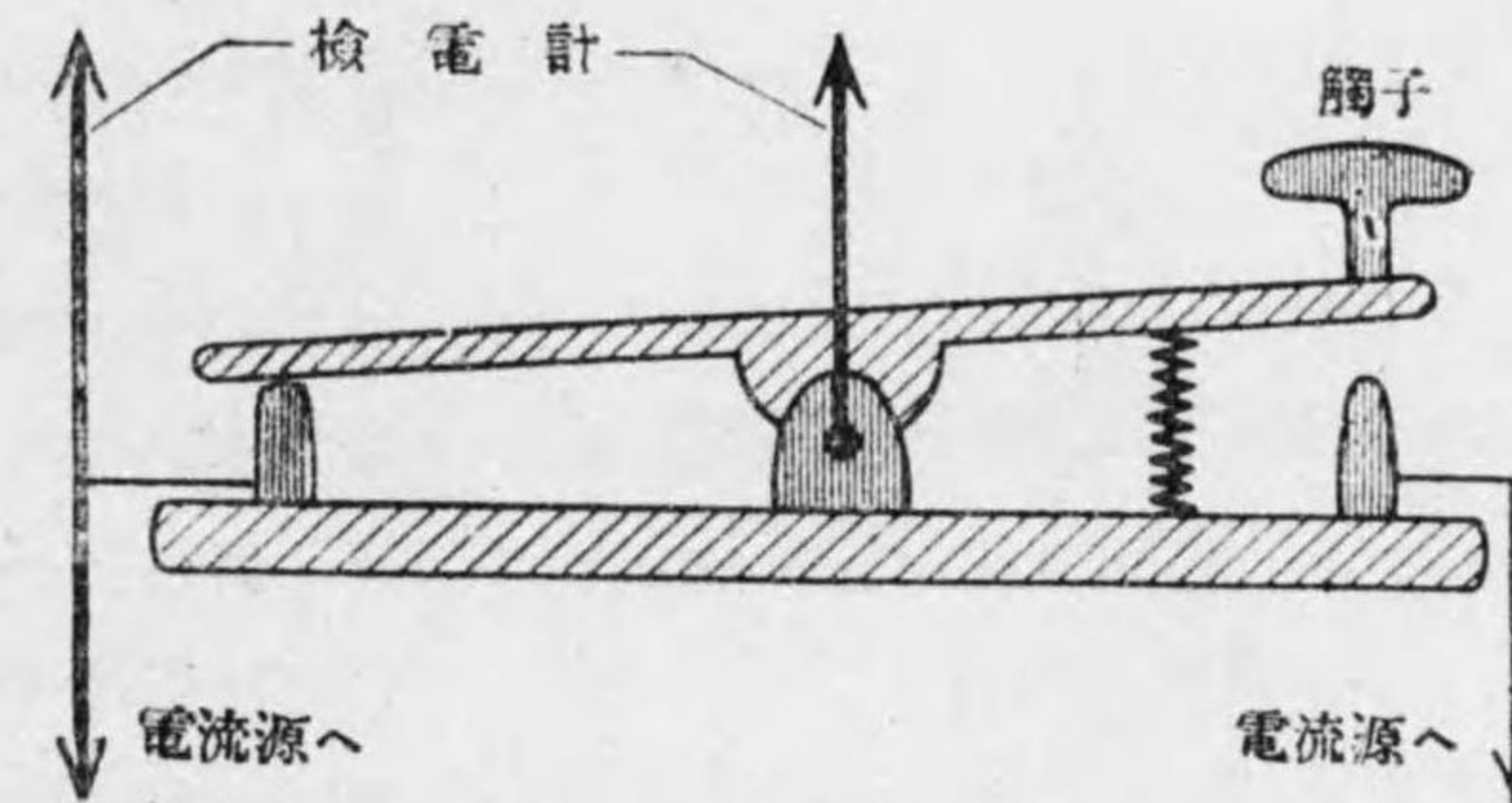
**正負計** 正負計は電流の有無を檢し同時に電流存する時の方向を知るに適したる器にして鋭敏なるを要す。普通に用ゐらるるは毛管檢電計なり。此のものは第 56 圖に示すが如く大小二面の水銀面を有する電極が稀硫酸にて隔てられたるものにして小水銀面は毛管内にて Menisk を形成す。今若し+の標符を有する電極より電流が流入して硫酸液に入り-の標符を有

する極に入れば水銀の表面張力變するが爲め Menisk は電流通過の方向に移動す。此移動を顯微鏡にて檢するなり。

毛管檢電計は鋭敏なるも強き電流の通過により毛管内に瓦斯發生する時は Menisk の運動阻止せらるる故に保護抵抗器を用ゐて其發現を防ぐべし。若し瓦斯發生せば一旦凡ての水銀を球狀水銀槽中に移し夫より新たに水銀の一部を毛管内に入るべし。又久しく微弱電流を通ずる時は自己電流の爲めに Menisk の運動緩徐なるにより器を使用せざる時は兩極を互に銅線にて連續し同電位を得しむべし。之には第 57 圖に示したる鍵盤を用ゐるを便こす。觸子を下に壓すれば右側接觸



第 56 圖



第 57 圖

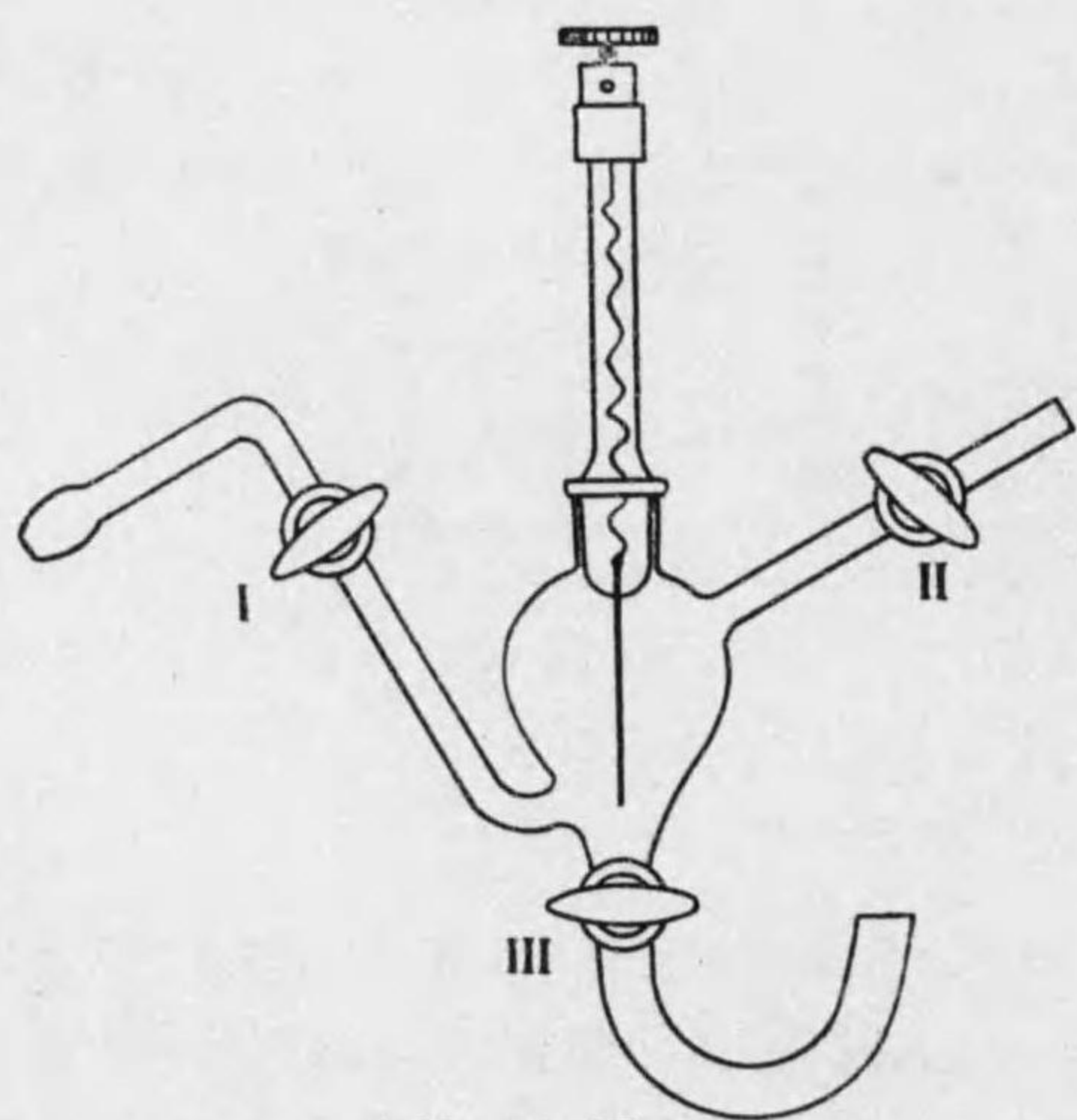
閉ち左側接觸開きて電流は電源より檢電計を通じて電源に戻る。之に反し手を放ては觸子は螺條の爲めに上りて左側接觸を閉ち、右側接觸を開くが故に電源より來る電流は斷たれ檢電計は鍵盤の左側部にて短距離閉鎖を受く。

正負計として Millivoltmeter を用ふるこゝを得。此際 Voltmeter の示針の零點は標尺の中央に存し僅微の電流によりて左若くは右に偏する如く作らる。

## 水素電極

水素-Ionを含有する溶液中に浸漬すべき水素電極は白金に水素を吸着せしめて作る。之れ白金がよく水素を吸着するに、電氣をよく傳導するに、自身小なる溶解壓を有し周囲の液に對し殆んど測量し難き程小なる電位差を有するに過ぎざればなり。但し單平なる白金板は水素を吸着するに少なるが故に其表面に白金を電氣鍍金せしめ(白金黒といふ)て水素の吸着を増大せしむ。且つ白金が完全に水素にて飽和し水素電極として作用し得る爲めには絶えず水素瓦斯と接觸するを要す。故に多くの場合には白金黒を以て被はれたる白金板若しくは白金線の先端を水素-Ion濃度を測定せむとする液に浸たし上半部は水素瓦斯雰圍氣に接觸せしむ。

電極の形狀は第55-57圖に示すが如く種々あり、其用途によりて適當なるものを選びべし。被檢液の量多き時、少なき時、被檢液が炭酸及其鹽類を溶存する時、溶存せざる時等に従ひて異なる形狀を用ゆるを可し、例へば普通の目的にては茄子形電極及MichaelisのU電極にて事足るべし。



第58圖  
茄子型電極

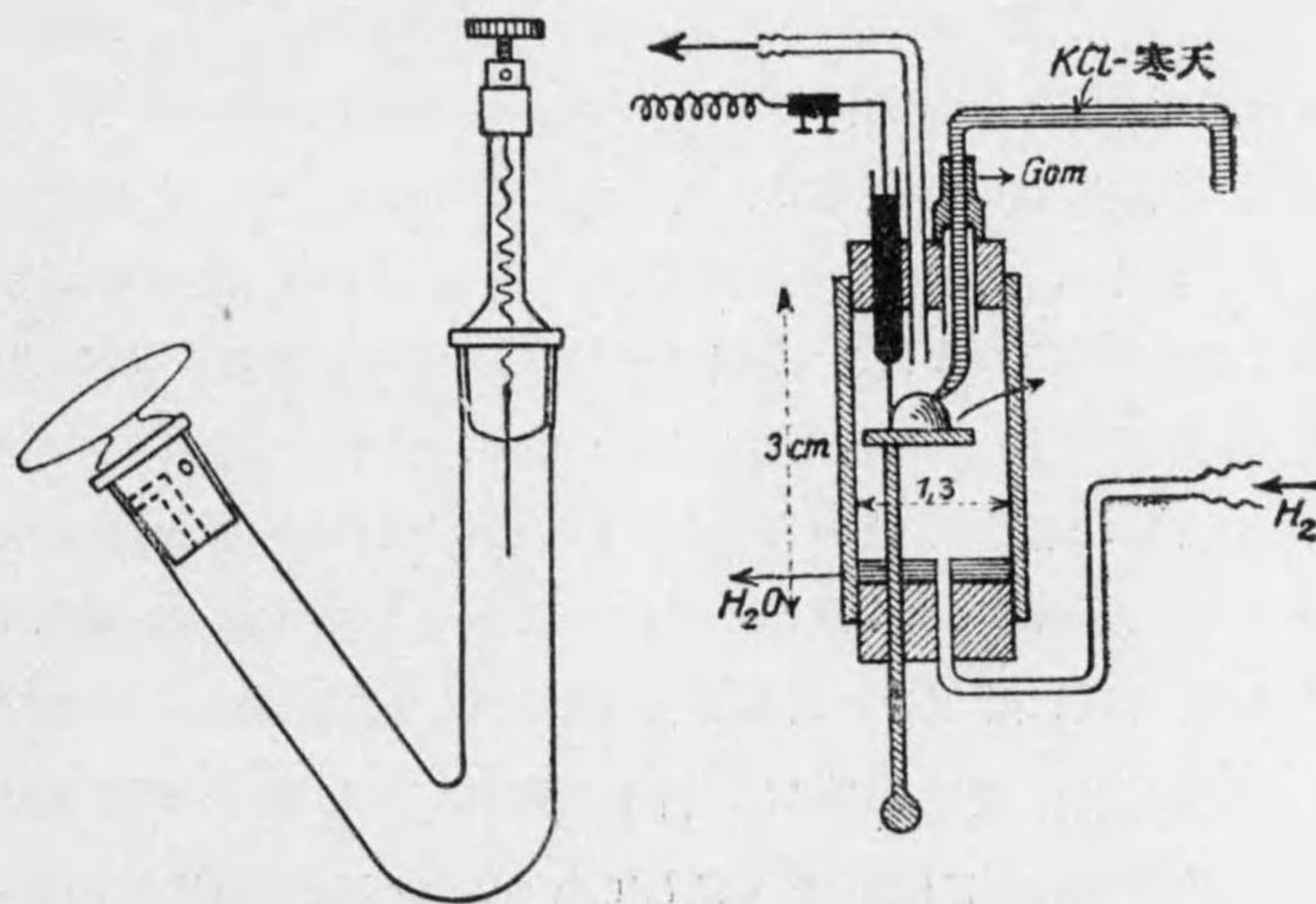
茄子形電極 茄子形電極は圖の如き構造を有し絶えず被檢液に水素を送り白金極を水素にて完全に飽和せしめつつ之に對する被檢液の水素-Ionの電位を測定す。器に被檢液を約 $\frac{1}{3}$ 容量以内に入れ、洗滌せられたる水素を活栓Iを通じて被檢液に送り活栓IIを通じて器外に導くこと約3分にして、先づ活栓IIを

ものを選びべし。被檢液の量多き時、少なき時、被檢液が炭酸及其鹽類を溶存する時、溶存せざる時等に従ひて異なる形狀を用ゆるを可し、例へば普通の目的にては茄子形電極及MichaelisのU電極にて事足るべし。

茄子形電極 茄子形電極は圖の如き構造を有し絶えず被檢液に水素を送り白金極を水素

閉ぢ、次に活栓Iを閉ぢたる後活栓IIIを開き寒天曲導管(277頁参照)により中間槽と連結せしむべし。一回電鎖の電位差を測定したる後活栓IIIを閉ぢ、活栓I及IIを再び開きて更に2-3分間水素を被檢液に通じ、更に前述の如き方法により第二回の電位差探讀を行ふべし。第一回及第二回の探讀値相等しき時は測定完了す。此際差を認むる時は更に水素を通じ測定を反復するを要す。茄子形電極は $\frac{\text{H}_2\text{CO}_3}{\text{NaHCO}_3}$ 若しくは $\frac{\text{NaHCO}_3}{\text{Na}_2\text{CO}_3}$ 混合によりて水素-Ion濃度緩衝せられ居る溶液のpH位測定には之を用ふるに可し。蓋し $\text{H}_2$ の送入に際し $\text{CO}_2$ 驅除せられpH値の變化を招來すればなり、此の如き際にはU電極を用ふるを可し。

U電極 第56圖の如き形狀を有す。被檢液を電極の存する脚に空氣を混ぜざる如くして充たし、硝子毛管を以て水素を電極脚に送入し其中に存する溶液の一部を驅除し白金線の先端が約1mm程液中に浸漬する如くすべし。次でU管の他脚に被檢液を充たしたる後閉塞栓を施こしU管内には水素以外の他のGasの竄入するに可し。栓の送入により驅除せらるる溶液は栓に存する小孔を通して逃出すべし、夫より栓を振りて該孔を閉づべし。



第59圖

第60圖

被檢液の量小なる時は茄子形電極及びU電極共に大に過ぐるを以て此

際には

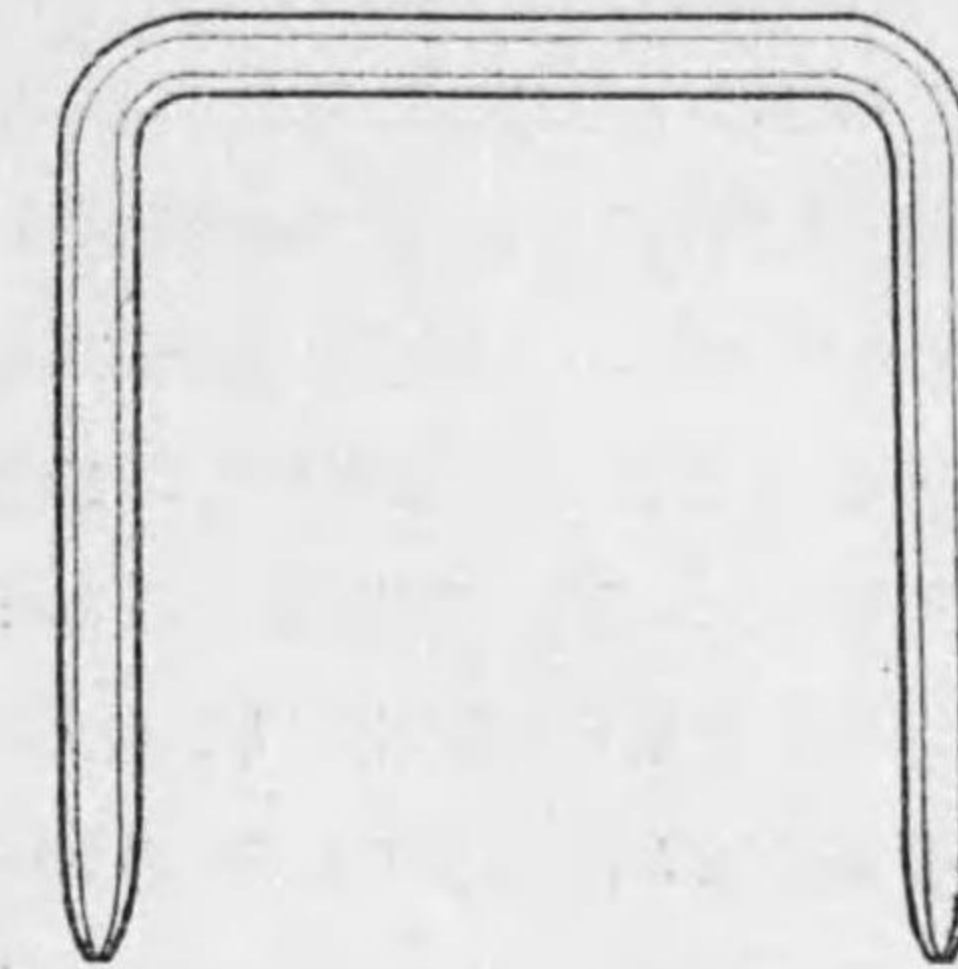
Lehmann の小電極 を用ふるを可ます。之によれば2-3滴の液量を以て其 pH 値を測定するここを得。該電極は第60圖に示すが如き形状を有し術者自ら之を作製するここを得べし。即短かき硝子管及び二個の Gom 栓を以て一室を作り之に水素を下より導入し、上より流出せしむ。室内に硝子板よりなる小卓あり下方 Gom 栓を貫通して上下したる硝子棒上に座す。此小卓上に被検液の小滴を載せ、之に上方 Gom 栓を通じ Platin-鍍金を施せる白金線並びに可動性の寒天-KCl-管の尖嘴端を接觸せしむ。

**水素の純化** 水素は Kipp の装器に顆粒状亜鉛及び鹽酸を入れて發生せしむれば可なり。水素の發生遅延したる際には少量の硫酸銅を加へ之を助長すべし。茲に發生したる水素は之を純化せしむる爲めに三個の洗滌罫を通過せしむべし。其第一罫には濃厚昇汞溶液を容れ、第二罫には2%過-Mangan-酸加里液を入れ、第三罫には5%苛性曹達を充たすべし。過-Mangan-酸鹽は屢々之を新裝するを要す。赤色消褪して褐變するは最早使用に堪へざるの證なり、他の二罫は長時の使用に堪ゆ、かくの如くして純化せられたる水素は更に全く空氣を含有せざる所に就て確めらるるを要す。之には第三罫に Gom 管を以て硝子管を續ぎ硝子管の先端を毛管狀に引き延ばし先づ久しく水中にて水素を吐出せしめたる後水を以て充たせる試験管を毛管先端に倒置して水素にて水を置換せしめ、管口を拇指にて閉ぢて水より出し、之を開くと同時に點火すべし、水素若し空氣を含有せざる時は焔は音響を發するこもなく靜かに試験管底に至るまで降下すべし。

**電極白金鍍金法** 30 ccの水に 1g の鹽化白金及び 0.007g の醋酸鉛を溶解して得たる溶液の數ccを小なる硝子槽に入れ、電極を豫め濃硫酸にて清淨にし蒸餾水にてよく濯滌したる後之を 4 Volt の蓄電池の陰極に繋ぎ、白金鍍金槽に附屬せる電極を蓄電池の陽極に接続する時は暫時にして白金黒の被膜生成せらるべし、新製の電極にては鍍金時間約5分を要すべし。再鍍金の際には約1分にして充分なるべし。次に電極を蒸餾水にてよく洗滌し、暫時前と同じ方向に電流を通じつつ稀硫酸中に於て水素を發生せしめたる後蒸餾水にてよく洗滌すべし。使用せざる時は常に之

を蒸餾中に貯ふべし。

**寒天曲導管の作製** 約直徑4mmの硝子管を曲けて第61圖の如き形状をなし一方の先端は纖細をなすべし。飽和 KCl 溶液(約30%)に約3%の割に寒天を加へ水浴上又は蒸氣槽中に加熱して溶解し、之を豫め加熱したる上記硝子管内に吸入せしめ放置すべし、斯くして作りたる寒天曲導管は之を飽和 KCl 溶液中に貯藏するを可ます。

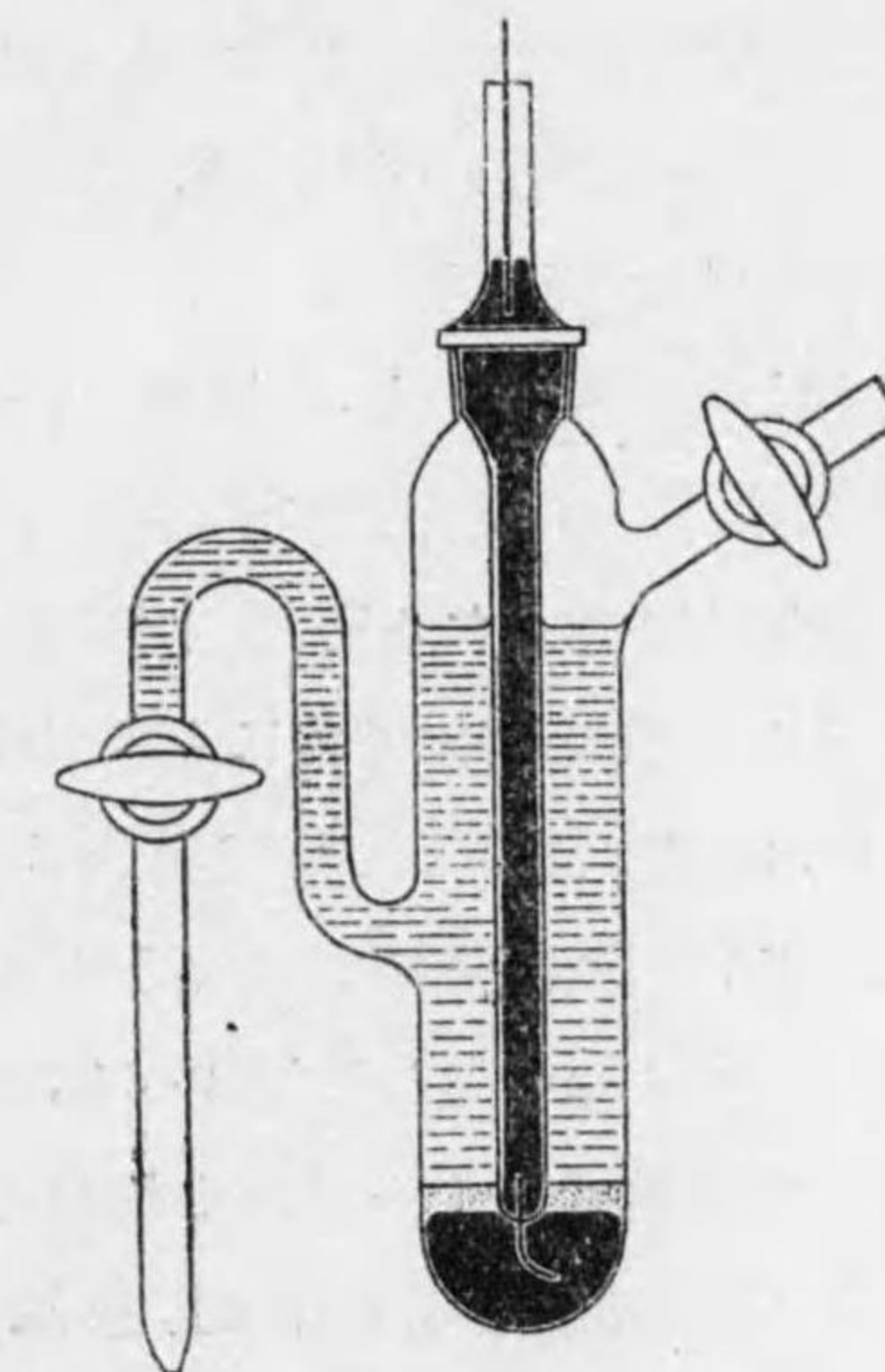


第 61 圖

#### 甘汞電極(連關電極として)

一の未知水素-Ion濃度の溶液の價を測定するには此液を含有する電極の外に尙一定水素-Ion濃度の溶液を抱有する電極を連結し其間に發現する電位差を測定するここを要す。此一定水素-Ion濃度を有する電極の代りに他の液體電極を用ゆるここを得而して此電極(之を連關電極といふ)は單に電流を導き且つ此極に對し他の未知液電極の電位差を測定するを得しむるものなり。従つて之には其用法極めて簡單にして且つ之を連結する對極に對し精確なる一定の電位差を呈するものを撰ぶべし。此の如き條件に適したる電極は甘汞電極なり。

第62圖は即ち一種の甘汞電極にして器の底部に水銀を入れ、其上に甘汞の薄層を置き之に鹽化加里液を注ぎたるものなり。此の如き甘汞電極の電位は



第 62 圖



電極金屬を水銀をなしたる時鹽化加里溶液の鹽素-Ionの濃度に従つて變するものなり。之れ甘汞は其溶解度極めて小なるが故に其水銀に接觸する溶液層は常に其飽和液を看做すことを得、此飽和甘汞分子の一部は Hg-Ion 及 Cl-Ion に解離するを以て其 Hg-Ion の數に従ひて水銀と溶液との間に一定の電位差を生ずべし。而して溶液中には尙鹽化加里溶存し此ものは解離度大にして多量の Cl-Ion を溶液に放つが故に甘汞の解離は之が爲めに著しく抑制を受くべし、従つて鹽化加里の濃度は甘汞の解離に直接の影響を及ぼし、延ひては水銀-Ion の量及び電位差に影響を與ふ。吾人は此の如き電極を單に誘導電極として用ゆるのみなるが故に電極に充たす鹽化加里は常に同一のものを使用す其濃度は常に濃厚のものを可さす之れ蒸發により又誘導槽内飽和鹽化加里との混合により其濃度を變化するこゝなればなり。

飽和甘汞鹽化加里電極の製作に際しては二三注意を要する點あり。

1. 電極新調なる時は水銀内に潛入せしむる白金線は之を Amalgam 化せしむるを可さす之には白金線を蓄電池の陰極と繋ぎ約1分間之を第一硝酸水銀(少許の硝酸を含有するもの)に浸し、陽極として任意の他の白金を用ゐる電流を通ぜしむべし。
2. 電極に入る水銀は絶對的純粹なるを要す。
3. 甘汞も亦純粹ならざるべからず甘汞を5-6回小皿内にて鹽化加里と強く攪拌して洗條すべし。洗滌したるものを KCl 液と共に電極内に吸引し後 KCl 鹽にて電極を充たすべし。

新たに製作したる濃厚甘汞電極は使用前豫め約24時間之を放置するを可さす之れ此時期内にも尙約1-2 Millivolt の電位の變動起るこゝあればなり。其後は極めて長時の使用に堪ゆ、尙新製のものは之を基準するを可さす。之には基準醋酸液を用ゐて水素電極に對し比較するか、又は 0.1n 又は 1n 甘汞電極に對し基準すべし、之れ 0.1n 又は n 甘汞電極は飽和電極よりも理論値と良く一致する數値を表はすが爲なり。飽和電極若し理論値と隔たりたる値を示す時は其懸隔値を補正值として凡ての測定に算入せしむるを要す。

## pH 値の算出

甘汞電極を連關電極として使用し之を未知液を含む電極との間の電動力を測定したる際に pH 値を算出するには第二水素電極を連關電極として使用したる際は異なる式に従ふことを要す。之れ此處に測定したる電位差は甘汞電極及未知水素電極との間の電位差とよりなるに反し、吾人の求めむと欲するものは基準水素電極に對する未知水素電極差なるを以て之には實測電位差より基準水素電極に對する甘汞電極差を控除するを要すればなり。此値は飽和甘汞鹽化加里電極にては次表に示すが如き値を有し温度と共に極めて僅少の變化を示す。

溫度	Millivolt	溫度	Millivolt	溫度	Millivolt
15°	252.5	19°	249.5	23°	246.8
16°	251.7	20°	248.8	24°	246.3
17°	250.9	21°	248.2	25°	245.8
18°	250.3	22°	247.5	26°	235.5

控除して残りたる部は基準水素電極に對する被檢水素電極の電位差なり、基準水素電極の水素-Ion濃度を 1、被檢水素電極液の水素-Ion濃度を C とすれば

$$E = RT \ln \frac{1}{c}$$

$$\frac{E}{RT} = - \ln c$$

$$\frac{E}{K.RT} = - \log c$$

$$= \text{pH}$$

即 pH 値を得るには上に得たる電位差 E を温度によりて變する  $K.RT=d$  にて除すれば可なり。

溫度	d	溫度	d	溫度	d
15°	57.1	21°	58.3	30°	60.1
16°	57.3	22°	58.5	32°	60.5
17°	57.5	23°	58.9	34°	60.9
18°	57.7	26°	59.3	37°	61.5
19°	57.9	28°	59.7	40°	62.1
20°	58.1				

## 水素電極使用に関する注意

1. 検電測定法の実施に不慮の過失なきことを確かむる爲め一定の pH 値を有する緩衝剤を用ゐて pH の測定を試むることを要す、之には即 50 cc の N NaOH と 100 cc の N 醋酸と 350 cc の水を混合して得たる醋酸鹽緩衝剤を用ゆるを便す、斯の如き液は濃厚甘汞鹽化加里電極に對し常溫にて 515 Millivolt の電位を有す。

2. 水素電極にて測定する時其電位は直ちに終極の値に到達するものに非ず、其初めは電位急劇に上るも後其上昇度緩徐となり終に漸近値に近よる。而して可良なる電極にては數時間此正常なる値を保持するも然らざるものは瞬時にして再び其値を減す、電位の上昇及降下に對する影響は主として電極の白金鍍金の状態及び溶液の緩衝度によりて定まる、即電極の白金鍍金度弱き時は電位の上昇早けれども直ちに降下を招き其眞正の値を示すことなきか其持續時間瞬間的なり、此の如き場合には測定値は何等の價値を有せず、之に反し白金鍍度過重なる時は電位の上昇極めて徐々にして其恒定値を示すには長時間を要するのみならず尙常に僅少の上昇を免かれず、故に鍍金に過不及ありたる際には直ちに綿を以て之を除去し新たに鍍白金を行ふべし、又緩衝度大なる溶液にては鍍白金の度稍過ぎたる電極を用ゆるも良く正常なる測定を行ひ得るも、緩衝度小なる溶液にては鍍白金小なるものを用ゆる外詮なし、故に製作したる電極が上記醋酸鹽緩衝液を用ゐたる際正常なる値を呈する時にも常に之と同時に緩衝度小なる Ringer 液に對しても亦使用に適するや否やを檢查し置くを可す。

3. 白金電極に接觸したる際之を中毒せしむる或種物質あり、之れ白金黒が水素のみならず諸種の物質を吸着し強く之を保持する性を有するに基因す、斯の如き際には更に新たに鍍白金を行ふを要す、電極毒の毒性濃度は次表に示すが如し。

物質	1l 中の g 數	物質	1l 中の g 數	物 液	1l 中の g 數
HCN	0.00000005	P	0.00004	HCl	0.0003
I <sub>2</sub>	0.0000001	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	0.00018	Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	0.002
Br <sub>2</sub> ●	0.00004	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.0002	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.001
NH <sub>4</sub> OH	0.00004	PH <sub>3</sub>	0.00024	Hg(CN) <sub>2</sub>	0.008

其外 Toluol 及 Chloroform も亦障碍を呈す、重炭酸曹達の濃厚液にては電極に於て白金の觸媒作用の爲めに蟻酸發生し眞正の反應よりも酸性に傾ける値を示すを以て之を行ふこと能はず。

血液其他凝固性の物質は時として白金線の尖端に小凝塊の附着を招き誤りたる値を示すことあり。

## Chinhydron 電極

原理 Chinhydron は溶解性小なる結晶性褐色物質にして水溶液にては Chinon 及 Hydrochinon に分解す、而して Chinon は無關性物質なるも Hydrochinon は二結鹵性酸にして二個の水素 Ion と 1 個の Hydrochinonion とに解離す、従つて Hydrochinonion は Chinon と同一の組成を有するも電荷を帯ぶる點に於て之を異なる、此兩者間には一價の Ferro-Ion と二價の Ferri-Ion との間に似たる關係あり Chinon を酸化性質、Hydrochinon を還元性質と認むることを得べし。

此の如き一對の物質が溶液内に存在する時は電極金屬と溶液との間の電位差の大きさに次の式に相當する影響をなす。

$$E = E_K - \frac{RT}{n} \ln \frac{[Red]}{[Ox]}$$

此處に  $E_K$  は恒數、 $R$  及  $T$  は普通の如く瓦斯恒數及絶對溫度を示し  $n$  は化學値、 $[Red]$  及  $[Ox]$  は酸化性質及び還元性質の濃度を表はす、今 Chinon の濃度は  $[C]$ 、Hydrochinon 陰-Ion 濃度を  $[A]$  のにて表はす時は

$$E = E_K - \frac{RT}{n} \ln \frac{[A]}{[C]} \dots \dots (1)$$

然るに Hydrochinon 陰-Ion は全 Hydrochinon の一部に過ぎず、其度は Hydrochinon の電離式によりて知らる。

$$K_1 = \frac{[HA][H]}{[H_2A]} \text{ 及 } K_2 = \frac{[A][H]}{[AH]} \dots\dots\dots (2)$$

此處に  $K_1$  及  $K_2$  は二結滴性酸の第一及第二の解離恒数す。

然る時は Hydrochinon  $[H_c]$  の總量は不解離の Hydrochinon の分子  $H_2A$ , 一價の陰-Ion  $HA$  及二價の陰-Ion  $A$  より構成せらるべく。

$$[H_c] = [H_2A] + [HA] + [A] \dots\dots\dots (3)$$

又式(2)により

$$[AH] = \frac{[A][H]}{K_2} \text{ 及 } [AH_2] = \frac{[A][H]^2}{K_1 K_2}$$

之を式(3)に代入し,  $[A]$  に対して式を解けば

$$[A] = \frac{[H_c] K_1 K_2}{[H]^2 + [H] K_1 + K_1 K_2}$$

此の式を式(1)に入れば

$$E + E_K - \frac{RT}{2} \ln \frac{[H_c] \cdot K_1 K_2}{[C] \cdot ([H]^2 + [H] K_1 + K_1 K_2)}$$

之を書き改むれば

$$E = E_K - \frac{RT}{2} \ln K_1 K_2 + \frac{RT}{2} \{ [H]^2 + [H] K_1 + K_1 K_2 \} - \frac{RT}{2} \ln \frac{[H_c]}{[C]}$$

此式は一見極めて複雑なるが如く見ゆるも第1項及び第2項を纏めて新らしき恒数  $E_K'$  にて表はし, 第3項にて  $K_1$  及  $K_2$  は非常に小なる数なるにより  $K_1 K_2$  及  $[H] K_1$  を削除して單に  $-\frac{RT}{2} \ln [H]^2$  即  $RT \ln [H]$  となし; 第4項は Chinhydron にては Chinon と Hydrochinon と同量に存するこより此項は零なるを以て全式は極めて簡單なる次式となすを得べし。

$$E = E_K' + RT \ln [H]$$

而して電位値は殆んど全く溶液中の水素-Ion-濃度に關係し(尙温度も少しく之に影響を及ぼす)。

$$E = E_K' - k RT \cdot \text{pH} \quad (k \text{ は } \log \text{ を } \ln \text{ に換算する際の恒数なり})$$

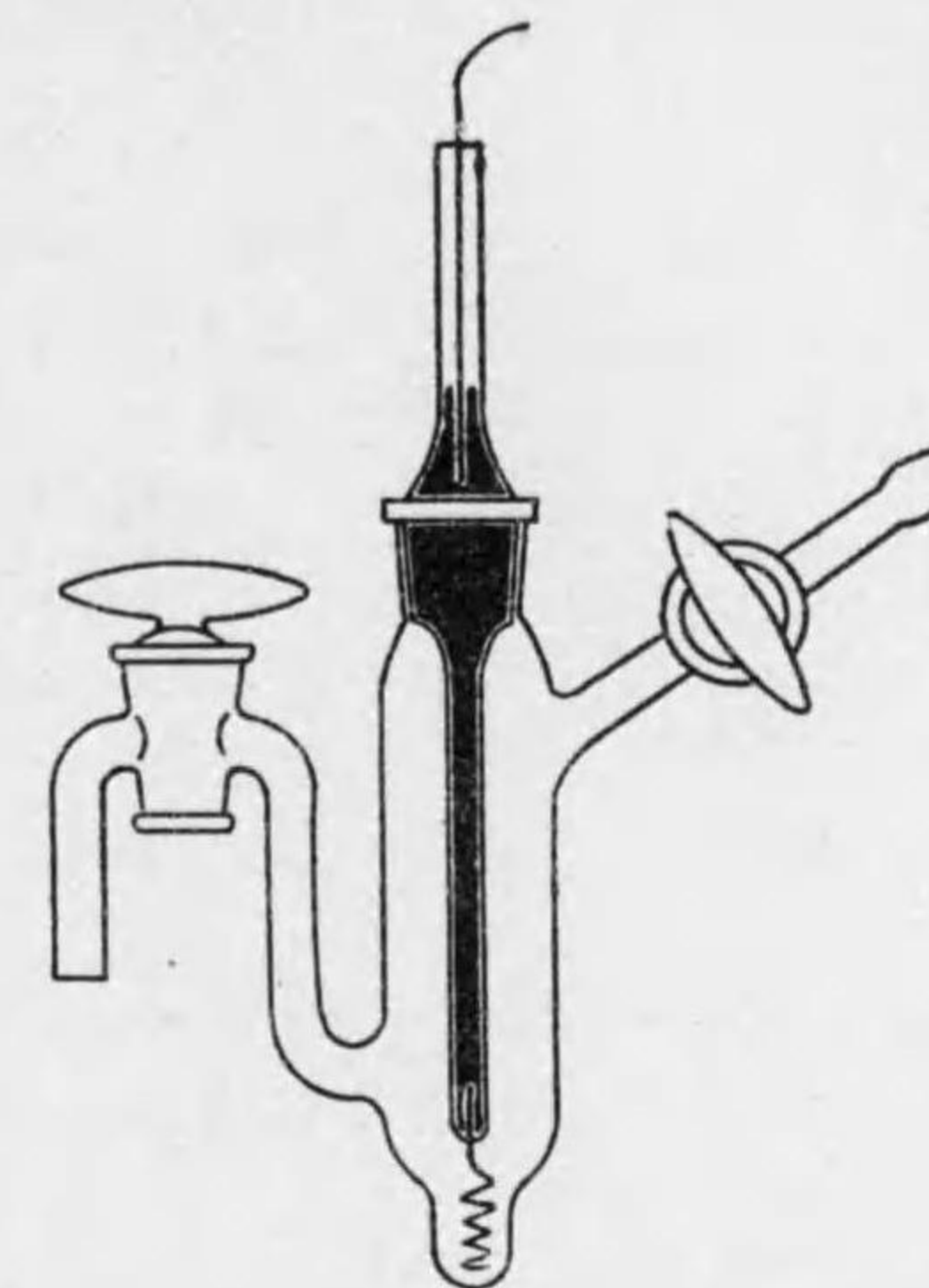
従つて

$$\text{pH} = \frac{E_K' - E}{k \cdot RT} = \frac{E_K' - E}{0.000198T}$$

$E$  は Chinhydron 電極を誘導電極に対して測定した際の電位差,  $E_K'$  は誘導電極によりて異なり飽和甘汞電極を用るたる際には 0.4568 なる値

を有す。又 0.000198  $T$  の値には第 325 頁下段表の  $d$  を用ゆべし。

**實施** 電極槽は第 60 圖に示すが如く甚だ簡單なるものにして之に被檢液及び少量の Chinhydron 粉末を入れよく振盪し溶液に滑面の白金線を浸たして之を一方の極とし, 之に対して任意の誘導電極を配すべし, 誘導電極には KCl-甘汞電極を用ゆるを最も適當す, Chinhydron-電極と甘汞電極との連絡は鹽化加里溶液を以てすべし。電位の測定及 pH 算出の法は水素電極に於けるこ同様の法に遵ふべし。



第 63 圖

Chinhydron 電極の有する特長中の最も著しきは數秒間にして電位が其極限值に到達するにあり, 唯此電極の缺點は pH=7.6-7.8 以上の滴性度にては之を用ゆるこ堪はざる所あり。

# 實驗生化學索引

## 定性之部

		頁	
<b>A</b>			
Acetaldehyd	7	伯林青 72	
Acetamid	14	伯林青試驗(Cyan-水素酸) 23	
Aceton	8	Benzidin 試驗(血液) 104	
Aceton-尿	93	——(血尿) 98	
Acet-醋酸	20	Benzol 27	
Acet-醋酸尿	94	Bial の試験 42	
Acetylen	22	Biuret 反應(尿素) 24	
Acetyl-鹽化物	14	——(蛋白質) 49	
Acrolein	21	沒食子酸 32	
Acrolein 反應(脂肪)	48	Bredig の電弧法 71	
Albumose-尿	92	Brom の檢出 2	
Amino-酸	12	Brucin 60	
安門(尿)	85	葡萄糖 35	
安息香酸	29	<b>C</b>	
Anthrachinon-誘導體	101	Cacodyl 反應 11	
Antifebrin	100	Carey Lea の銀水溶體 74	
Antipyrin	100	Calcium(尿) 85	
Apomorphin	57	Carmin 纖維素 79	
Atropin	62	Chinidin 59	
<b>B</b>			
麥芽澱粉酵素の製造	77	Chinin 58	
麥芽糖	44	窒素の檢出 1	
Balsam 及 Santalol	162	Chlor(尿) 85	
馬尿酸	31	——の檢出(有機質中) 2	
馬尿酸(尿)	88	Cholesterin 49	
Barfoed の試験	37	Cinchona-類油體 58	
Bence-Jones の蛋白質	91	Cinchonin 59	
Benedict の試験	37	Cocain 59	
——(尿)	93	Codein 57	
		Coffein 61	
		Collodium-囊 65	

Coniin	63	Glyoxyl-酸	51
Cyan-水素酸	22	Gmelin の試験(尿)	95
Cyanur-酸	25	—(胆汁)	110
<b>D</b>			
唾液	111	五炭糖	41
脱纖維血液の製法	103	Guajak-試験(血液-Katalase)	104
澱粉酵素	78	—(血尿)	97
澱粉の水解	45	Gunning の試験	8
電氣的移動	66	Günzburg の試薬	112
Devoto-Bang の法(Albumose-尿)	92	凝乳反應(胃液)	112
Diazo-反應	98	<b>H</b>	
Digitonin の作用(Cholesterin)	49	Hammarsten の試験(尿)	96
Dimethylamin	9	—(胆汁)	110
<b>E</b>			
Ehrlich の試験(Diazo-反應)	98	醱酵試験	39
Elektrophorese	66	Hay の試験(胆汁酸)	109
Erdmann の試薬	56	Heller の法	90
Ethylalcohol	4	Heller の試験(血尿)	97
<b>F</b>			
Fehling の試験(葡萄糖)	36	Hematoporphyrin	168
—(尿酸)	26	Hemin	107
Fenton の試験	18	Hemin-結晶試験	97
Fe(OH) <sub>3</sub> -水溶體	72	Hemochromogen	108
Folin の反應(尿酸)	27	Hofmeister の法(Albumose 尿)	92
Formaldehyd	6	保護膠質	74
Froehde の試薬	56	膨化	75
Furfurol の試験(五炭糖)	42	Hopkins-Cole の反應	51
<b>G</b>			
Galactose	40	Hopkins の試験(乳酸)	15
Gerhardt の鹽化鐵反應(Acet-醋酸)	20	Huppert-Cole の試験(胆汁)	110
—(Acet-醋酸尿)	94	Huppert の試験(尿)	96
銀水溶體	69	Hydrazon-試験(葡萄糖)	41
蠟燭	10	Hypoxanthin(筋)	156
Glucuron-酸(尿)	88	<b>I</b>	
		胃液	111
		Indol	33
		Indol-赤色反應	33
		Indophenol-反應(Antifebrin)	101
		硫黃の檢出	3
		硫黃水溶體	69

<b>J</b>		Kreatinin	116
Jaffe の Kreatinin-試験(尿)	88	枸橼酸	18
Jod の檢出	2	果糖	39
Jodoform-試験(Alcohol)	5	<b>L</b>	
鞣酸	32	Lecithin	48
<b>K</b>			
解血現象	103	Legal の試験	8
還元-Hemoglobin	107	Legal の試験(Acet-醋酸)	20
乾酪素	115	—(尿)	93
Katalase の作用	82	Lieben の Jodoform-試験	8
Kataphorese	66	—(尿)	93
硅酸水溶體	71	Liebermann-Burchard の反應	49
鹼化	47	Liebermann の反應(Phenol)	29
懸垂濾紙試験	67	<b>M</b>	
血液	103	Magnesium(尿)	85
血液-Katalase	104	Mandelin の試薬	59
血液過酸化酵素	104	Mecon-酸	31
血尿及血色素尿	97	Methemoglobin	108
血清	105	Methylalcohol	4
血清球素	105	Methylamin	9
血清蛋白素	105	Millon の反應	50
血色素	106	Molisch の試験	39
血色素分光鏡檢査	107	—(蛋白質)	51
血漿	106	Molybden-青水溶體	69
筋肉浸出液	117	Morphin	56
金水溶體の製成	68	沒食子酸	32
琥珀酸	20	Mulder の試験	38
膠化	75	Murexid-反應(Coffein)	62
高級脂酸	13	—試験(尿酸)	25
膠質	65	<b>N</b>	
膠質の凝固及保護膠質	72	Narcotin	57
膠質溶液の性狀	65	粘液酸の試験	40
膠質溶液の製成	68	Nessler の試薬	84
酵素	77	NH <sub>3</sub> (尿)	85
葡萄糖	41	Nicotin	62
Kreatin(筋)	118	肉桂酸	30

Ninhydrin 反應	13		
——(蛋白質)	49		
二酸化-Mangan 水溶體	70		
Nylander の試験	37		
——(尿)	93		
乳汁	115		
乳化(Lecithin)	48		
——(脂肪)	48		
尿	85		
尿酸	25		
尿酸結晶の製成	87		
尿素	23		
——(尿)	87		
尿素酵素	83		
乳酸	15		
乳酸試験(胃液)	114		
乳蛋白素	116		
乳糖	43		
乳糖の分離(乳汁)	117		
<b>O</b>			
黄疸尿	95		
Olein-酸	22		
Oliver の試験(尿)	97		
Opium-類瀉體	56		
Orcin-試験	42		
Osazon-試験(葡萄糖)	38		
<b>P</b>			
Pepsin	78		
Pettenkofer の反應(胆汁酸)	109		
Phenacetin	101		
Phenol	28		
Phloroglucin-試験	41		
Pikrin-酸試験(葡萄糖)	37		
Plattner-鹽の製成	110		
Pyrogallol	31		
		<b>R</b>	
		Rhodan の反應	111
		林檎酸	19
		磷の檢出	3
		磷酸鹽(尿)	86,
		Rosenbach の變法(尿)	95
		Rothera の試験	21
		類瀉類	55
		類瀉體の檢出	63
		硫化鉛反應	51
		硫化水銀水溶體	70
		硫化銅水溶體	70
		硫酸鹽(尿)	86
		<b>S</b>	
		醋酸	11
		Salicyl-酸	30
		——(尿)	100
		Salkowski の反應(Cholesterin)	49
		酸化-Hemoglobin の製成	106
		酸化酵素	82
		酸化炭素-Hemoglobin	108
		三硫化砒素水溶體	70
		Santonin	101
		煮沸試験(蛋白質)	52
		Schardinger の反應	83
		Schiff の試験	6
		——(尿酸)	26
		Schlesinger の Urobilin-試験	89
		Schumm の分光器的試験(血尿)	107
		Schweizer の試薬	46
		正常尿	85
		石鹼	12
		Seliwanoff の試験	39
		Selen-水溶體	75
		纖維素	106
		脂肪	47

——酵素	84	Tyndall の現象	66
蔗糖	43	<b>U</b>	
蔞酸	15	Uffelmann の試験(乳酸)	15
酒石酸	16	Ultra-濾過法	66
臭素(尿)	99	Urobilin-原	89
臭素の檢出	2	Urobilin-試験	89
Strychnin	60	<b>V</b>	
水銀(尿)	99	Veratrin	61
水酸化鐵水溶體	69, 72	<b>W</b>	
水素の檢出(有機質中)	1	Weidel の反應(筋-Xanthin)	119
Sulfosalicyl-酸試験(尿)	91	Weyl の Kreatinin-試験(尿)	87
錫酸水溶體	71	<b>X</b>	
<b>T</b>			
蛋白尿	89	Xanthin(筋)	118
蛋白質の沈澱反應	52	Xanthin-鹽基(筋)	118
——色彩反應	49	Xanthoprotein-反應	50
膽汁酸	109	<b>Y</b>	
膽汁色素	110	藥尿	99
炭素の檢出(有機質中)	1	沃化銀水溶體	71
多糖類	45	沃度(尿)	99
Teichmann の結晶	107	沃度試験	45
Thein	61	有機化合物水溶體	71
糖原	46	遊離鹽酸の反應	111
糖尿	92		
Trimethylamin	10		
Trommer の試験	35		
Trypsin	80		

## 定量之部

0.1 N AgNO <sub>3</sub> の調製	159
0.1 N 鹽酸の調製	149
0.1 N 沃度液の調製	158
0.1 N 過-Mangan-酸加里の調製	152
0.1 N 苛性曹達の調製	148
0.1 N Rhodan 液の調製	160
0.1 N 砒酸の調製	147
0.1 N Thio-硫酸曹達の調製	155

## A

Acefon-體の測定(尿)(Van Slyke の法)	285
Amino-酸窒素の測定	260

## B

馬尿酸の定量(尿)	267
Benedict の尿酸試薬の調製	194
Benedict の糖滴定試薬	166
Benedict-Roth の呼吸計	293
分析天秤	123

## C

Calcium の定量(重量分析)	132
Calcium の定量(血清)(Kramer-Tisdall-Clark-Collip)	224
——(Roe 及 Kahn)	225
Cholesterol の定量(血液)(Bloor-Cornell)	203
——(Leiboff)	204
沈澱法	156

## D

銅の定量	234
Douglas 囊の法	297

## E

鹽化物の定量(Mohr の法)	159
——(Volhard の法)	159
——(血液)(Van Slyke)	218
——(血液)(Whitehorn)	218
——(尿)(Volhard-Arnold)	274

## F

Formaldehyd の定量	158
Formol 滴定法(Sørensen)	174

## H

Haldane の瓦斯分析器	300
閉塞式呼吸計	293
Hemoglobin の定量(血液)(Newcomer)	215
比濁計の使用法	209
非蛋白性窒素の定量(血液)(Folin)	183
秤量法	125

## J

持満性酸度の測定(Folin)	253
實値係數	133
重量分析	121
沃度数	164
沃度法	155

## K

開通式呼吸計	296
Kalium の定量(血清)(Breh-Gaebler)	229
還元糖の定量(Benedict)	166
——(Pavy-隈川-須藤-百瀬)	167

過酸化水素の定量	154
苛性曹達及び炭酸曹達混合物の定量(Wardar)	150
經驗的基準滴定液	133
鹼化數	163
血漿内脂酸及 Cholesterol の定量(Bloor, Pelkan 及 Allen)	206
血液除蛋白濾液の調製(Folin-Wu)	283
血液の採取	283
血液蛋白質の定量	213
血糖の定量(Benedict)	199
——(Hagedorn-Jensen)	197
——(Somogyi-Shaffer-Hartmann)	200
基準Kreatinin液(Folin)	195
基準尿酸液(Benedict-Hitchcock)	294
基準尿酸 Formalin 液の製法	265
呼氣の採取	298
呼吸比の測定	296
呼吸計	293
高級脂酸の定量(隈川-須藤-田村の法)	161
混和筒	135
Kreatin の定量(血液)(Folin)	190
——(尿)(Folin)	263
Kreatinin の調製	262
Kreatinin の定量(血液)	195
——(尿)	262
Krogh の呼吸計	294

## L

Lecithin の定量(血液)	210
------------------	-----

## M

Magnesium の定量(重量分析)	129
——(血清)(Denis)	227
無機硫酸の定量(尿)(重量分析)	267

## N

Natrium の定量(血清)(Kramer-Gittleman)	228
Nessler の試薬(Folin-Wu)	186
——(Koch-MacMeekin)	256
二酸化炭素抱容能(血液)(Van Slyke 及 Cullen)	236
乳酸の定量(尿)	268
尿の比重	252
尿の採集	252
尿量測定	252
尿酸の定量(血液)(Benedict 及 Behre)	193
——(尿)(Benedict-Franke)	264
——(尿)(Folin-Schaffer)	266
——(尿)(Folin-Wu)	264
尿酸試薬(尿)(Folin-Denis)	265
尿素酵素(固形)の調製	259
尿素酵素液の調製	259
尿素酵素調材の效力測定	259
尿素の定量(血液)(Folin-Svedberg)	199
——(血液)(Karr)	191
——(尿)(Van Slyke-Cullen)	258

## P

Pavy-隈川-須藤の試薬	167
pH 値測定(尿)	253

## R

磷酸の定量(血液)(Youngburg)	230
——(尿)(Youngburg)	273
量瓶	135
量管	134
量酸法及び量滴法	144
量筒	135
量容器	134

量容器の検定	141	—(檢電法)	316
硫酸の定量(重量分析)	131		
—(血液)	222		
<b>S</b>			
酸化法	152	蛋白質の定量(血液)	213
酸素抱容能測定(血液)(Van Slyke-Stadie)	240	—(尿)(重量法)	283
		—(尿)(滴定法)	283
		—(尿)(Esbach)	284
		—(尿)(末吉)	284
酸数	165	胆汁色素の定量(Meulengrachtの指数)	211
酸溶性磷酸鹽の定量(血液)	220	—(van den Bergh)	211
青化水素酸の定量(Liebig)	160	定規液	137
脂肪屬性 Amino-基の定量(Van Slykの法)	176	定量分析	121
色素標示薬(滴定用)	144	滴管	134
總硫黄の定量(尿)(重量分析)	276	鐵の定量(血液)(Wong; Coombs)	231
總硫酸鹽の定量(尿)(重量分析)	277	Tissotの呼吸計	296
總硫黄, 總硫酸及無機硫酸の容量分析	277	糖の定量(尿)(Benedict)	271
總窒素(血液)(Koch-McMeekinの直接 Nessler化法)	256		
—(尿)(Kjeldahl)	255		
水素-Ion 濃度測定法(比色法)	303		
		<b>U</b>	
		Urobilin-原の定量(尿)(Wallace 及 Diamond)	272

第 I 表

油及び酸の比重と其濃度の關係

1.

NaOH.			KOH.			NH <sub>3</sub> .		
比重 15° 15°	%	g/dl	比重	%	g/dl	比重	%	g/dl
1.014	1.20	1.2	1.014	1.7	1.7	0.998	0.45	0.45
1.022	2.00	2.1	1.029	3.5	3.6	0.994	1.37	1.36
1.036	3.35	3.5	1.045	5.6	5.8	0.990	2.31	2.29
1.045	4.00	4.2	1.060	7.4	7.8	0.986	3.30	3.25
1.052	4.64	4.0	1.075	9.2	9.9	0.982	4.30	4.22
1.060	5.29	5.6	1.091	10.9	11.9	0.978	5.30	5.18
1.075	6.55	7.0	1.100	12.0	13.2	0.974	6.30	6.14
1.091	8.00	8.7	1.116	13.8	15.3	0.970	7.31	7.09
1.100	8.68	9.5	1.134	15.7	17.8	0.966	8.33	8.05
1.116	10.06	11.2	1.152	17.6	20.3	0.962	9.35	8.99
1.134	11.84	13.4	1.171	19.5	22.8	0.958	10.47	10.03
1.152	13.55	15.6	1.190	21.4	25.5	0.954	11.60	11.07
1.171	15.13	17.7	1.210	23.3	28.2	0.950	12.74	12.10
1.190	16.77	20.0	1.231	25.1	30.9	0.946	13.88	13.13
1.210	18.58	22.5	1.252	27.0	33.8	0.942	15.04	14.17
1.231	20.59	25.3	1.274	28.9	36.8	0.938	16.22	15.21
1.252	22.64	28.3	1.297	30.7	39.8	0.934	17.42	16.27
1.274	24.81	31.6	1.320	32.7	43.2	0.930	18.64	17.34
1.297	26.83	34.8	1.345	34.9	46.9	0.926	19.87	18.42
1.320	28.83	38.1	1.370	36.9	50.6	0.922	21.12	19.47
1.345	31.22	42.0	1.397	38.9	54.3	0.918	22.39	20.56
1.370	33.69	46.2	1.424	40.9	58.2	0.914	23.68	21.63
1.397	36.25	50.6	1.453	43.4	63.1	0.910	24.99	22.74
1.424	38.80	55.3	1.483	45.8	67.9	0.906	26.31	23.83
1.453	41.41	60.2	1.514	48.3	73.1	0.902	27.65	24.94
1.483	44.38	65.8	1.546	50.6	77.9	0.898	29.01	26.05
1.514	47.60	72.1	1.580	53.2	84.0	0.894	30.37	27.15
...	...	...	1.615	55.9	90.2	0.890	31.75	28.26
...	...	...	1.634	57.5	94.0	0.886	33.25	29.46
...	...	...	...	...	...	0.882	34.95	30.83



第 I 表 (續)

2.

HCl.			H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .			HNO <sub>3</sub> .		
比重 15° 4°	%	g/dl	比重 15° 4°	%	g/dl	比重 15° 4°	%	g/dl
1.010	2.14	2.2	1.020	3.03	3.1	1.020	3.70	3.8
1.015	3.12	3.2	1.040	5.96	6.2	1.030	5.50	5.7
1.020	4.13	4.2	1.060	8.77	9.3	1.040	7.26	7.5
1.025	5.15	5.3	1.080	11.60	12.5	1.050	8.99	9.4
1.030	6.15	6.4	1.100	14.35	15.8	1.060	10.68	11.3
1.035	7.15	7.4	1.120	17.01	19.1	1.070	12.33	13.2
1.040	8.16	8.5	1.140	19.61	22.3	1.080	13.95	15.1
1.045	9.16	9.6	1.160	22.19	25.7	1.090	15.53	16.9
1.050	10.17	10.7	1.180	24.76	29.2	1.100	17.11	18.8
1.055	11.18	11.8	1.200	27.32	32.8	1.110	18.67	20.7
1.060	12.19	12.9	1.220	29.84	36.4	1.120	20.23	22.7
1.065	13.19	14.1	1.240	32.28	40.0	1.130	21.77	24.6
1.070	14.17	15.2	1.260	34.57	43.5	1.140	23.31	26.6
1.075	15.16	16.3	1.280	36.87	47.2	1.150	24.84	28.6
1.080	16.15	17.4	1.300	39.19	51.0	1.160	26.36	30.6
1.085	17.13	18.6	1.320	41.50	54.8	1.170	27.88	32.6
1.090	18.11	19.7	1.340	43.74	58.6	1.180	29.38	34.7
1.095	19.06	20.9	1.360	45.88	62.4	1.190	30.88	36.7
1.100	20.01	22.0	1.380	48.00	66.2	1.200	32.36	38.8
1.105	20.97	23.2	1.400	50.11	70.2	1.210	33.82	40.9
1.110	21.92	24.3	1.420	52.15	74.0	1.220	35.28	43.0
1.115	22.86	25.5	1.440	54.07	77.9	1.230	36.78	45.2
1.120	23.82	26.7	1.460	55.97	81.7	1.240	38.29	47.5
1.125	24.78	27.8	1.480	57.83	85.6	1.250	39.82	49.8
1.130	25.75	29.1	1.500	59.70	89.6	1.260	41.34	52.1
1.135	26.70	30.3	1.520	61.59	93.6	1.270	42.87	54.4
1.140	27.66	31.5	1.540	63.43	97.7	1.280	44.41	56.8
1.145	28.61	32.8	1.560	65.08	101.5	1.290	45.95	59.3
1.150	29.57	34.0	1.580	66.71	105.4	1.300	47.49	61.7
1.155	30.55	35.3	1.600	68.51	109.6	1.310	49.07	64.3
1.160	31.52	36.6	1.620	70.32	113.9	1.320	50.71	66.9
1.165	32.49	37.9	1.640	71.99	118.1	1.330	52.37	69.7
1.170	33.46	39.2	1.660	73.64	122.2	1.340	54.07	72.5

第 I 表 (續)

HCl.			H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .			HNO <sub>3</sub> .		
比重 15° 4°	%	g/dl	比重 15° 4°	%	g/dl	比重 15° 4°	%	g/dl
1.175	34.42	40.4	1.680	75.42	126.9	1.350	55.79	75.3
1.180	35.39	41.8	1.700	77.17	131.2	1.360	57.57	78.3
1.185	36.31	43.0	1.720	78.92	135.7	1.370	59.39	81.4
1.190	37.23	44.3	1.740	80.68	140.4	1.380	61.27	84.6
1.195	38.16	45.6	1.760	82.44	145.1	1.390	63.23	87.9
1.200	39.11	46.9	1.780	84.50	150.4	1.400	65.30	91.4
...	...	...	1.800	86.90	156.4	1.410	67.50	95.2
...	...	...	1.820	90.05	163.9	1.420	69.80	99.1
...	...	...	1.840	95.60	175.9	1.430	72.17	103.2
...	...	...	1.8405	95.95	176.5	1.440	74.68	107.5
...	...	...	1.8415	97.70	179.9	1.450	77.28	112.1
...	...	...	1.8405	98.70	181.6	1.460	79.98	116.8
...	...	...	1.8400	99.20	182.5	1.470	82.90	121.9
...	...	...	...	...	...	1.480	86.05	127.4
...	...	...	...	...	...	1.490	89.60	133.5

3.

磷酸溶液の比重(4°の水に對し)

15°

比 重	%	比 重	%	比 重	%
1.0054	1.0	1.0874	15.0	1.2651	40.0
1.0109	2.0	1.1196	20.0	1.3059	45.0
1.0164	3.0	1.1534	25.0	1.3486	50.0
1.0276	5.0	1.1889	30.0	1.3931	55.0
1.0567	10.0	1.2262	35.0	1.4395	60.0

17.5°

1.809	93.67	1.701	84.72	1.536	70.26
1.800	92.99	1.677	82.65	1.513	68.19
1.792	92.30	1.653	80.59	1.491	66.12
1.783	91.61	1.629	78.52	1.469	64.06
1.775	90.92	1.605	76.45	1.448	61.99
1.750	88.85	1.581	74.39	1.428	59.92
1.725	86.79	1.556	72.32	1.409	57.86

第 II 表 比重(15°/4°)と定規度

比重 15° 4°	定 規 度						比重 15° 4°	NH <sub>3</sub> 定規度
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl	HNO <sub>3</sub>	KOH	NaOH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		
1.010	0.324	0.593	0.305	0.213	0.239	0.198	0.995	0.666
1.020	0.634	1.155	0.599	0.413	0.464	0.383	0.990	1.224
1.030	0.951	1.737	0.899	0.616	0.700	0.571	0.985	1.934
1.040	1.264	2.328	1.197	0.822	0.939	0.762	0.980	2.637
1.050	1.578	2.929	1.497	1.032	1.182	0.956	0.975	3.343
1.060	1.896	3.544	1.796	1.246	1.431	1.153	0.970	4.043
1.070	2.223	4.158	2.092	1.462	1.684	1.353	0.965	4.740
1.080	2.555	4.784	2.389	1.682	1.942	1.556	0.960	5.453
1.090	2.887	5.414	2.685	1.903	2.205	1.762	0.955	6.208
1.100	3.219	6.037	2.985	2.128	2.472	1.971	0.950	6.966
1.110	3.556	6.673	3.287	2.356	2.744	2.183	0.945	7.722
1.120	3.885	7.317	3.594	2.586	3.021	2.408	0.940	8.480
1.130	4.219	7.981	3.902	2.819	3.302	2.626	0.935	9.251
1.140	4.559	8.648	4.215	3.046	3.588	2.847	0.930	10.03
1.150	4.903	9.327	4.531	3.292	3.878	3.071	0.925	10.81
1.160	5.249	10.03	4.850	3.532	4.173	...	0.920	11.59
1.170	5.600	10.74	5.174	3.778	4.472	...	0.915	12.39
1.180	5.958	11.45	5.499	4.023	4.776	...	0.910	13.19
1.190	6.319	12.15	5.828	4.272	5.084	...	0.905	13.99
1.200	6.685	12.87	6.159	4.523	5.397	...	0.900	14.80
1.210	7.052	...	6.490	4.776	5.714	...	0.895	15.61
1.220	7.424	...	6.827	5.030	6.039	...	0.890	16.42
1.230	7.803	...	7.175	5.288	6.365	...	0.885	17.30
1.240	8.162	...	7.531	5.550	6.693	...	0.880	18.26
1.250	8.521	...	7.894	5.811	7.032	...	...	...
1.260	8.882	...	8.261	6.075	7.375	...	...	...
1.270	9.248	...	8.635	6.341	7.722	...	...	...
1.280	9.623	...	9.016	6.609	8.078	...	...	...
1.290	10.00	...	9.401	6.882	8.432	...	...	...
1.300	10.39	...	9.792	7.153	8.795	...	...	...
1.310	10.78	...	10.20	7.423	9.166	...	...	...
1.320	11.17	...	10.62	7.704	9.542	...	...	...
1.330	11.57	...	11.05	7.981	9.921	...	...	...
1.340	11.95	...	11.49	8.264	10.309	...	...	...
1.350	12.34	...	11.95	8.547	10.704	...	...	...

第 III 表 Alcohol 溶液の比重と其濃度

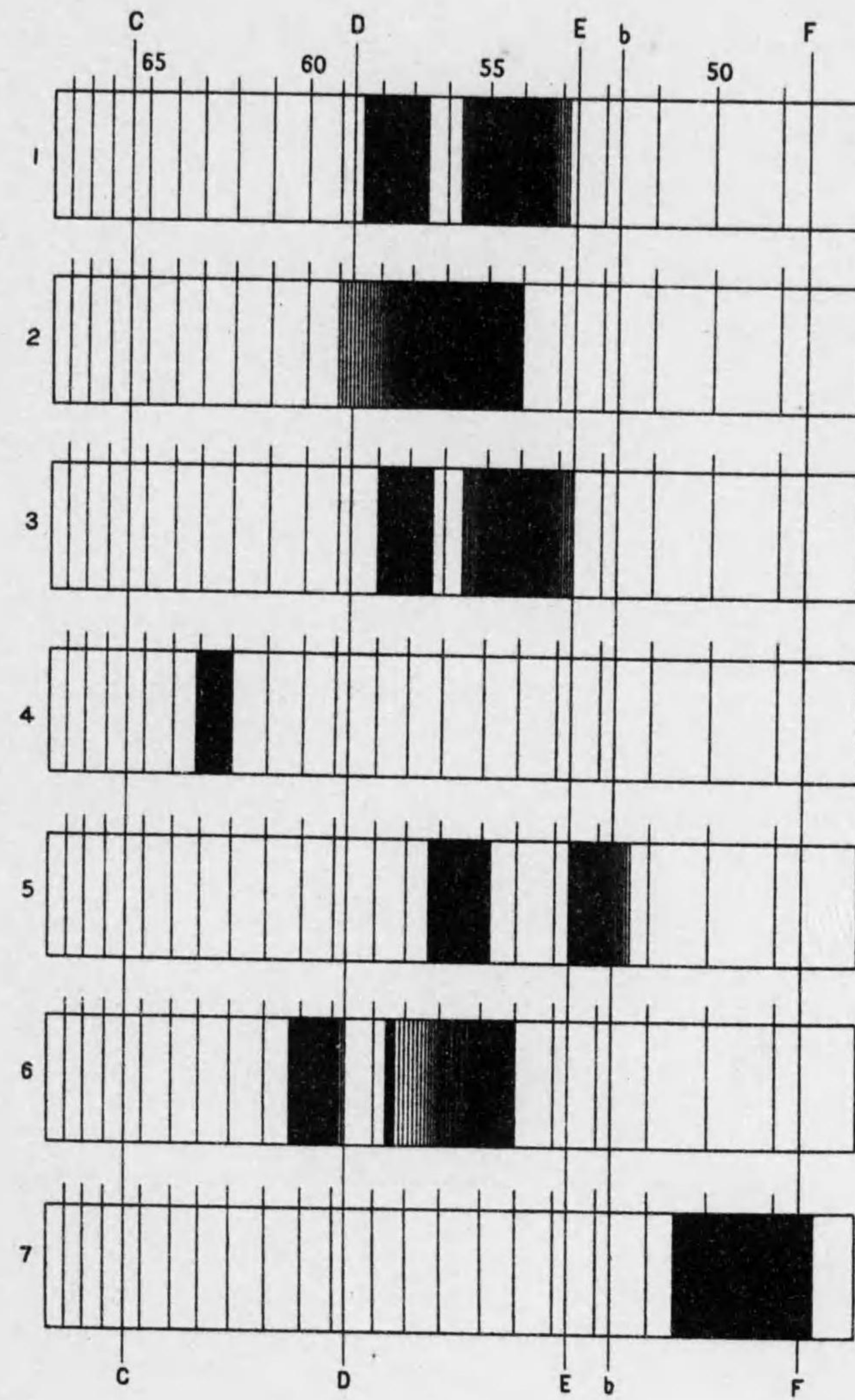
(重量%及び容量%)

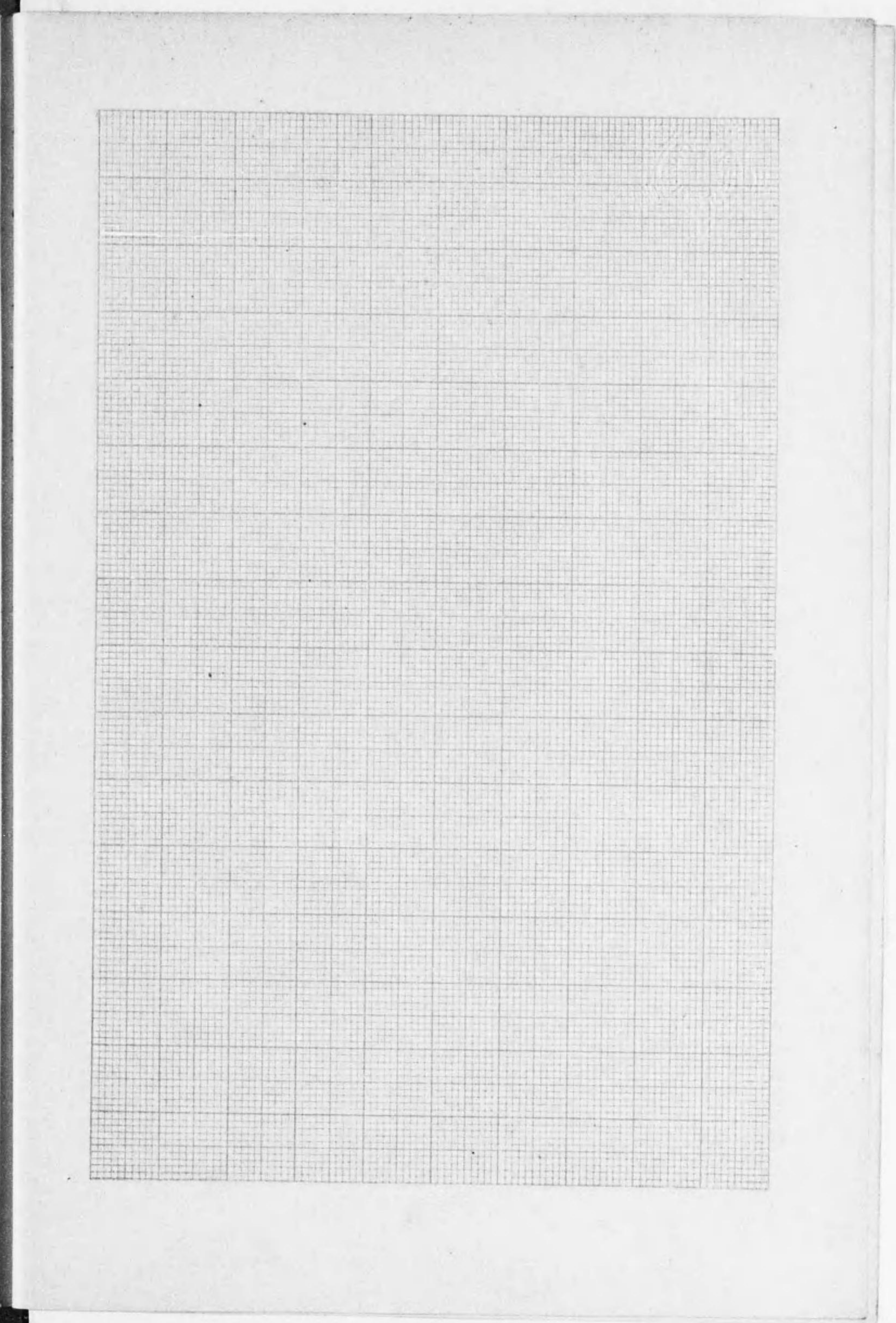
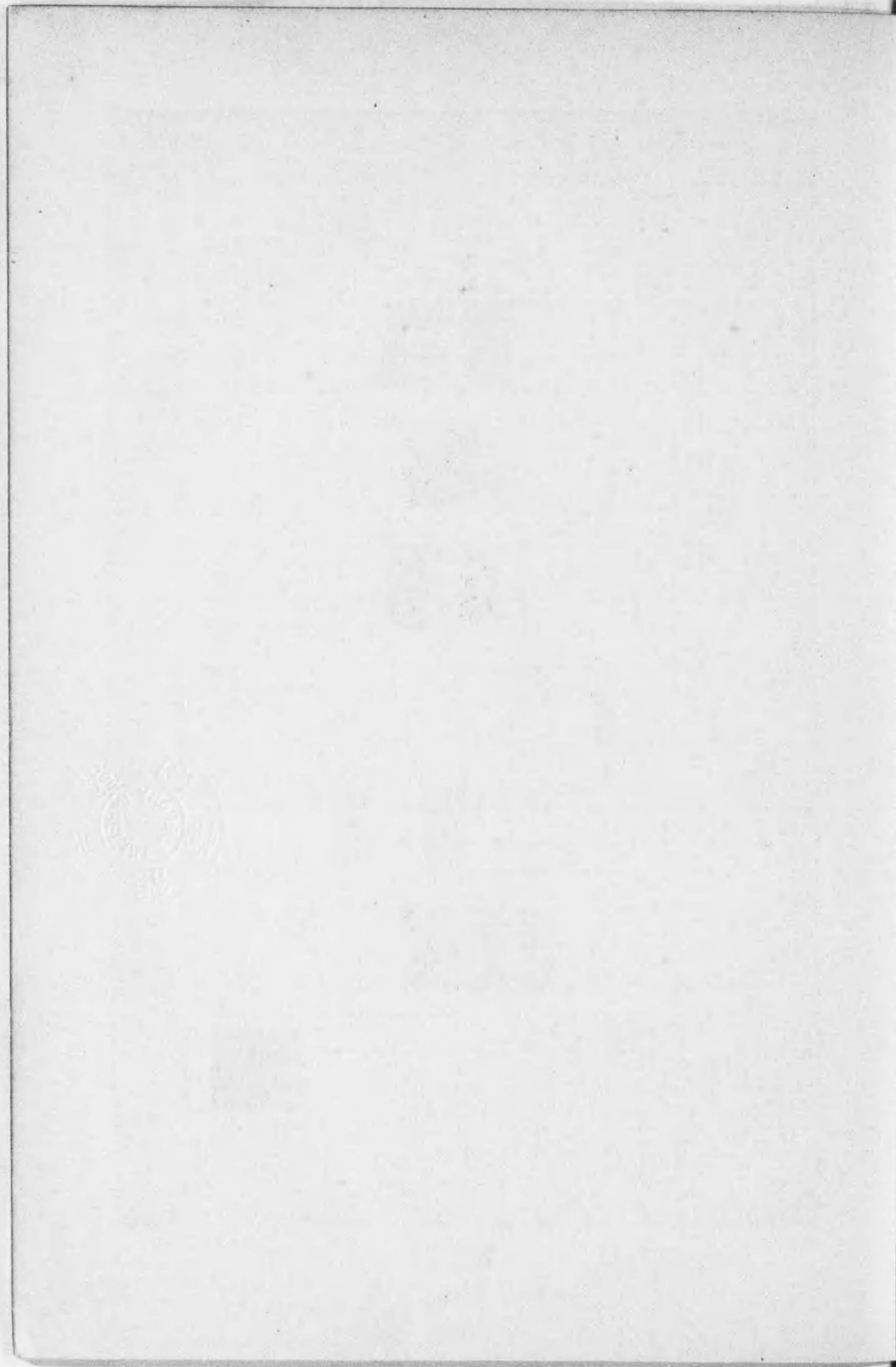
%	比 重		%	比 重		%	比 重	
	容量%時	重量%時		容量%時	重量%時		容量%時	重量%時
50	0.9344	0.9184	67	0.8974	0.8793	84	0.8525	0.8382
51	0.9325	0.9160	68	0.8949	0.8769	85	0.8496	0.8357
52	0.9305	0.9135	69	0.8925	0.8745	86	0.8465	0.8331
53	0.9285	0.9113	70	0.8900	0.8721	87	0.8435	0.8305
54	0.9264	0.9090	71	0.8876	0.8696	88	0.8404	0.8279
55	0.9244	0.9069	72	0.8850	0.8672	89	0.8372	0.8254
56	0.9222	0.9047	73	0.8825	0.8649	90	0.8339	0.8228
57	0.9201	0.9025	74	0.8799	0.8625	91	0.8306	0.8199
58	0.9180	0.9001	75	0.8773	0.8603	92	0.8272	0.8172
59	0.9158	0.8979	76	0.8747	0.8581	93	0.8236	0.8145
60	0.9136	0.8956	77	0.8721	0.8557	94	0.8199	0.8118
61	0.9113	0.8932	78	0.8694	0.8533	95	0.8161	0.8089
62	0.9091	0.8908	79	0.8667	0.8508	96	0.8121	0.8061
63	0.9068	0.8886	80	0.8639	0.8483	97	0.8079	0.8031
64	0.9044	0.8863	81	0.8611	0.8459	98	0.8035	0.8001
65	0.9021	0.8840	82	0.8583	0.8434	99	0.7989	0.7969
66	0.8997	0.8816	83	0.8554	0.8408	100	0.7939	0.7938

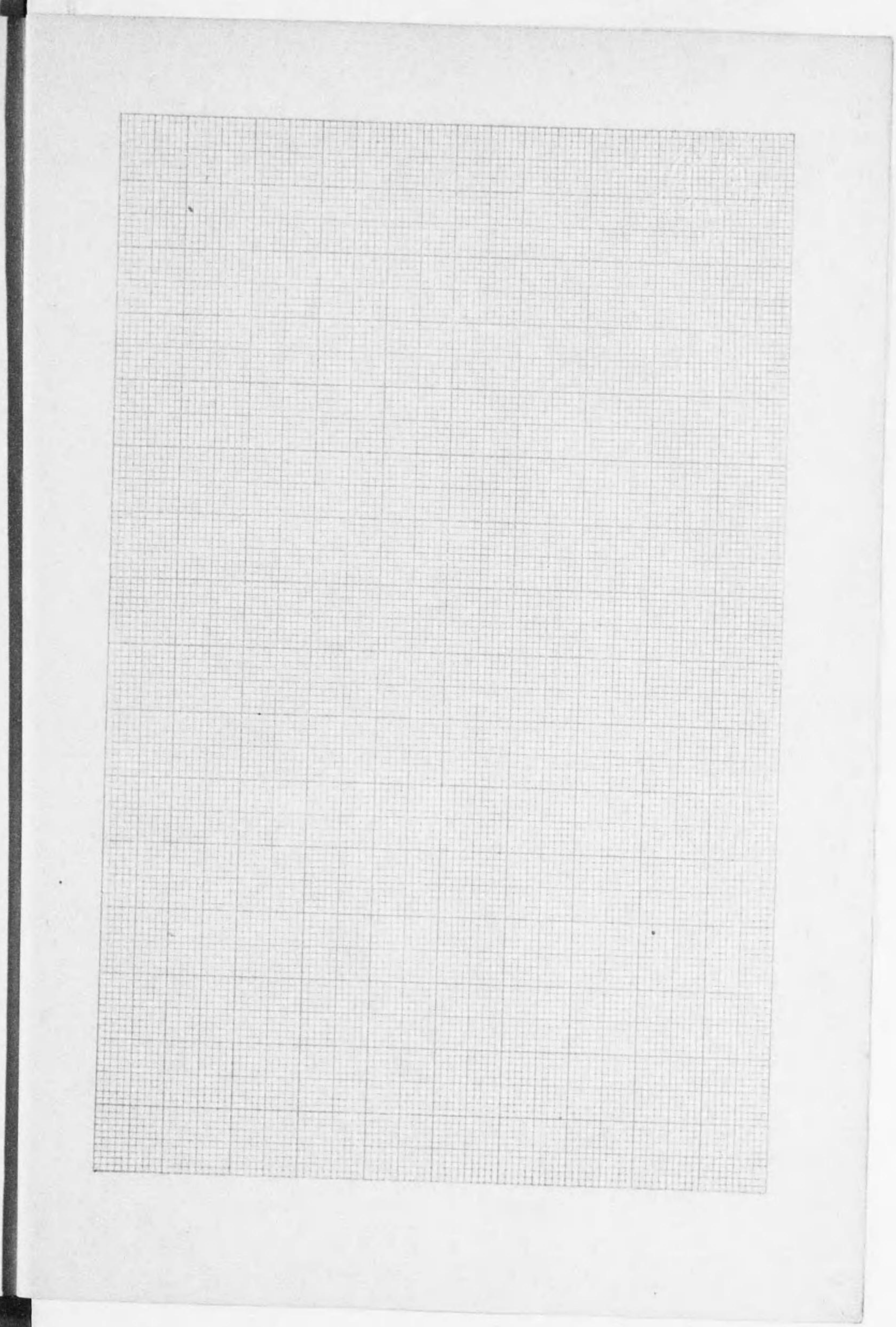
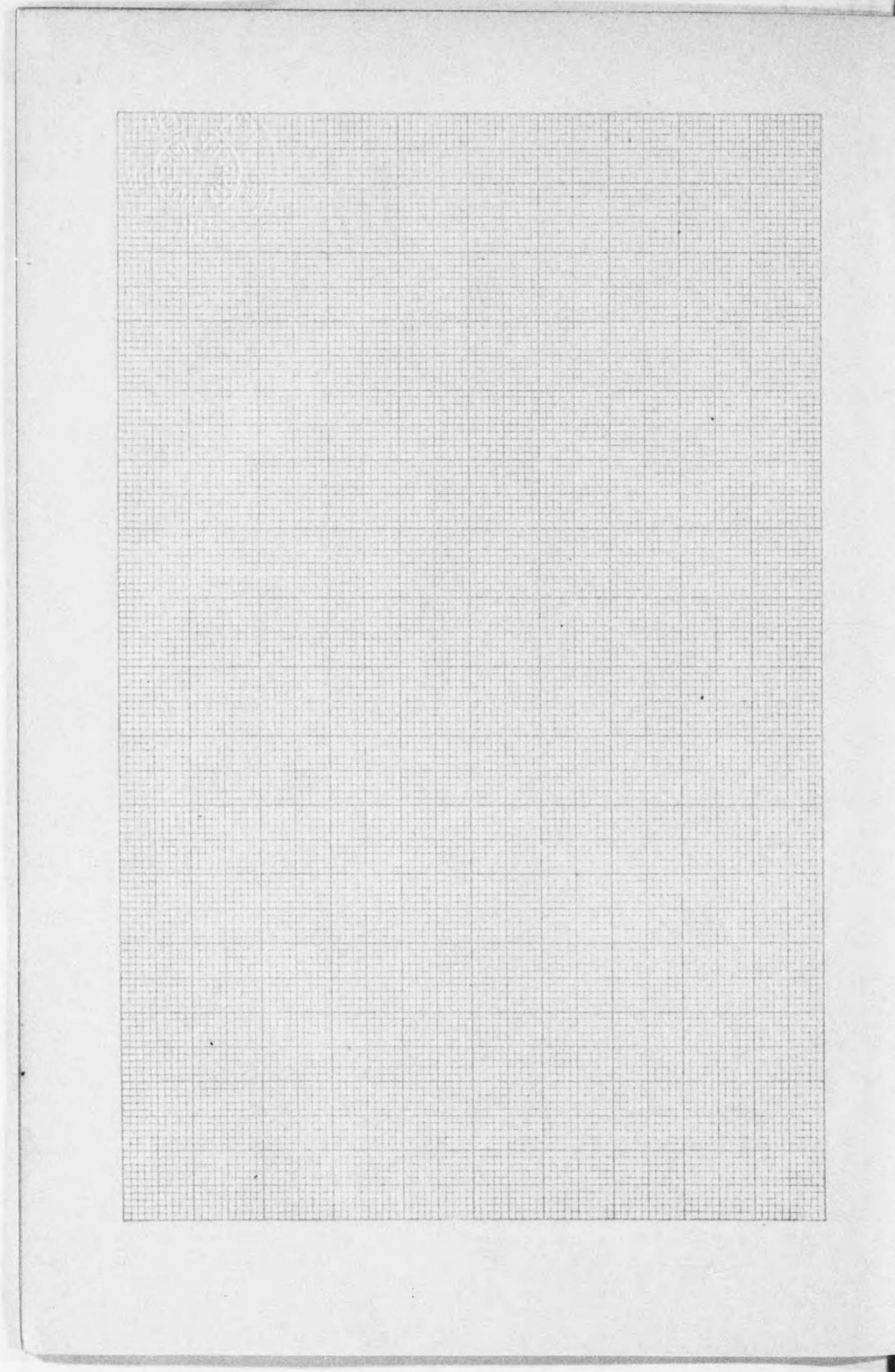
第 IV 表 水蒸氣壓(mmHg)

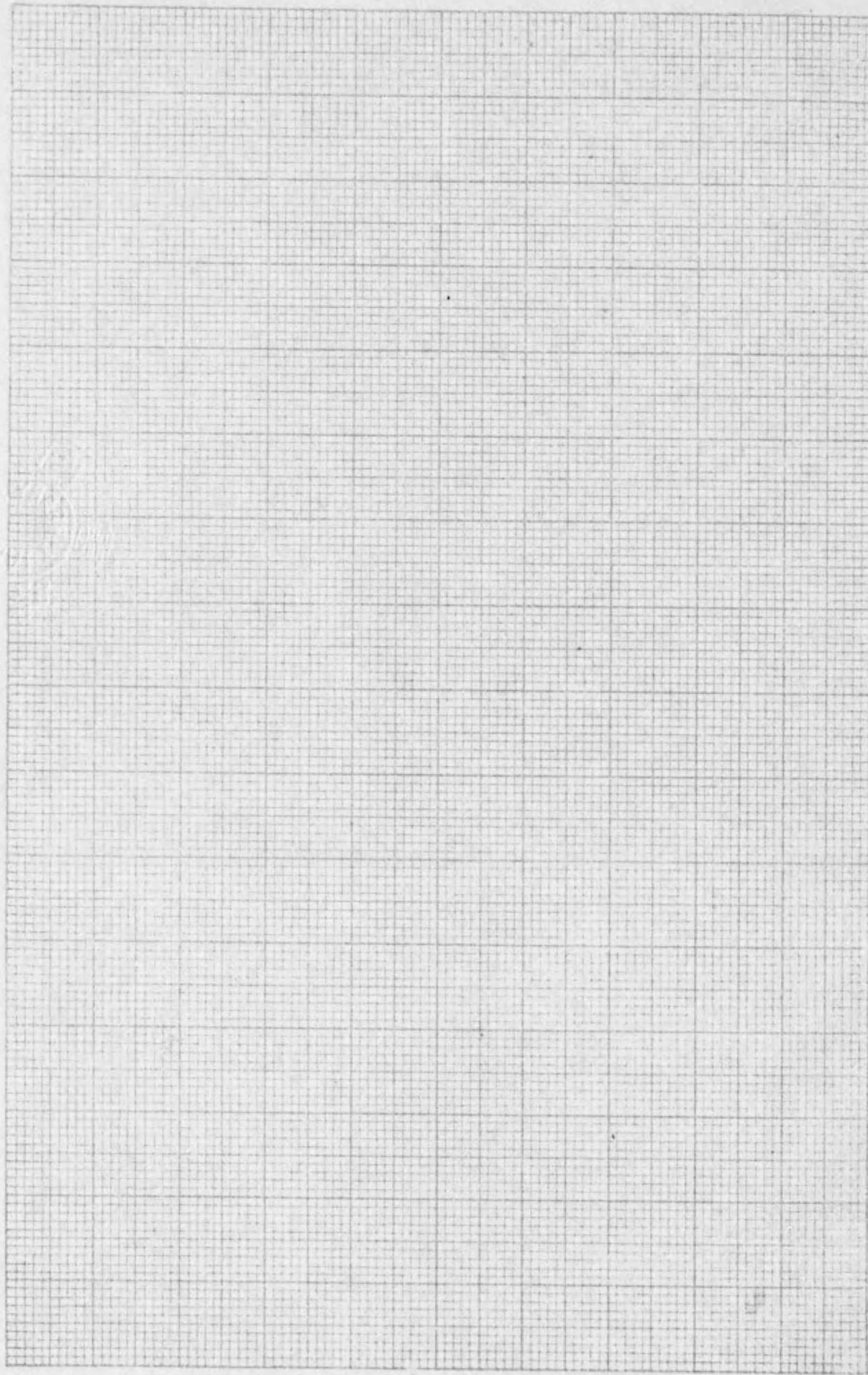
温度	0	2	4	6	8	温度	0	2	4	6	8
5	6.5	6.6	6.7	6.8	6.9	18	15.3	15.5	15.7	15.9	16.1
6	7.0	7.1	7.2	7.3	7.4	19	16.3	16.5	16.7	16.9	17.2
7	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	20	17.4	17.6	17.8	18.0	18.2
8	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	21	18.5	18.7	18.9	19.2	19.4
9	8.5	8.7	8.8	8.9	9.0	22	19.6	19.9	20.1	20.4	20.6
10	9.1	9.3	9.4	9.5	9.6	23	20.9	21.1	21.4	21.6	21.9
11	9.8	9.9	10.0	10.2	10.3	24	22.2	22.4	22.7	23.0	23.2
12	10.4	10.6	10.7	10.9	11.0	25	23.5	23.8	24.1	24.4	24.7
13	11.1	11.3	11.4	11.6	11.7	26	25.0	25.3	25.6	25.9	26.2
14	11.9	12.0	12.2	12.4	12.5	27	26.5	26.8	27.1	27.4	27.7
15	12.7	12.8	13.0	13.2	13.3	28	28.1	28.4	28.7	29.0	29.4
16	13.5	13.7	13.9	14.0	14.2	29	29.7	30.1	30.4	30.8	31.1
17	14.4	14.6	14.8	15.0	15.1	30	31.5	31.9	32.3	32.6	33.0

1. 酸化-Hemoglobin
2. 還元-Hemoglobin
3. 酸化炭素-Hemoglobin
4. Methemoglobin
5. Hemochromogen-油性溶液
6. Hematoporphyrin-酸性溶液
7. Urobilin









昭和 12 年 4 月 15 日 印刷

昭和 12 年 4 月 20 日 發行

不 許 復 製

實驗生化學第五版

正 價 金 4 圓

著 者 柿 內 三 郎  
發 行 者

東京市牛込區市谷加賀町 1 丁目 11 番地

印 刷 者 柴 山 則 常

東京市本郷區駒込林町 172 番地

印 刷 所 合 資 杏 林 會 社

東京市本郷區駒込林町 172 番地

發 行 所 克 誠 堂 書 店

東京市本郷區本富士町 2 番地

(電話小石川7767・振替東京27981番)

對 數

	對 數									比 例 部									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0000	0043	0086	0128	0170	0212	0253	0294	0334	0374	4	8	12	17	21	25	29	33	37
11	0414	0453	0492	0531	0569	0607	0645	0682	0719	0755	4	8	11	15	19	23	26	30	34
12	0792	0828	0864	0899	0934	0969	1004	1038	1072	1106	3	7	10	14	17	21	24	28	31
13	1139	1173	1206	1239	1271	1303	1335	1367	1399	1430	3	6	10	13	16	19	23	26	29
14	1461	1492	1523	1553	1584	1614	1644	1673	1703	1732	3	6	9	12	15	18	21	24	27
15	1761	1790	1818	1847	1875	1903	1931	1959	1987	2014	3	6	8	11	14	17	20	22	25
16	2041	2068	2095	2122	2148	2175	2201	2227	2253	2279	3	5	8	11	13	16	18	21	24
17	2304	2330	2355	2380	2405	2430	2455	2480	2504	2529	2	5	7	10	12	15	17	20	22
18	2553	2577	2601	2625	2648	2672	2695	2718	2742	2765	2	5	7	9	12	14	16	19	21
19	2788	2810	2833	2856	2878	2900	2923	2945	2967	2989	2	4	7	9	11	13	16	18	20
20	3010	3032	3054	3075	3096	3118	3139	3160	3181	3201	2	4	6	8	11	13	15	17	19
21	3222	3243	3263	3284	3304	3324	3345	3365	3385	3404	2	4	6	8	10	12	14	16	18
22	3424	3444	3464	3483	3502	3522	3541	3560	3579	3598	2	4	6	8	10	12	14	15	17
23	3617	3636	3655	3674	3692	3711	3729	3747	3766	3784	2	4	6	7	9	11	13	15	17
24	3802	3820	3838	3856	3874	3892	3909	3927	3945	3962	2	4	5	7	9	11	12	14	16
25	3970	3997	4014	4031	4048	4065	4082	4099	4116	4133	2	3	5	7	9	10	12	14	15
26	4150	4166	4183	4200	4216	4232	4249	4265	4281	4298	2	3	5	7	8	10	11	13	15
27	4314	4330	4346	4362	4378	4393	4409	4425	4440	4456	2	3	5	6	8	9	11	13	14
28	4472	4487	4502	4518	4533	4548	4564	4579	4594	4609	2	3	5	6	8	9	11	12	14
29	4624	4639	4654	4669	4683	4698	4713	4728	4742	4757	1	3	4	6	7	9	10	12	13
30	4771	4786	4800	4814	4829	4843	4857	4871	4886	4900	1	3	4	6	7	9	10	11	13
31	4914	4928	4942	4955	4969	4983	4997	5011	5024	5038	1	3	4	6	7	8	10	11	12
32	5051	5065	5079	5092	5105	5119	5132	5145	5159	5172	1	3	4	5	7	8	9	11	12
33	5185	5198	5211	5224	5237	5250	5263	5276	5289	5302	1	3	4	5	6	8	9	10	12
34	5315	5328	5340	5353	5366	5378	5391	5403	5416	5428	1	3	4	5	6	8	9	10	11
35	5441	5453	5465	5478	5490	5502	5514	5527	5539	5551	1	2	4	5	6	7	9	10	11
36	5563	5575	5587	5599	5611	5623	5635	5647	5658	5670	1	2	4	5	6	7	8	10	11
37	5682	5694	5705	5717	5729	5740	5752	5763	5775	5786	1	2	3	5	6	7	8	9	10
38	5798	5809	5821	5832	5843	5855	5866	5877	5888	5899	1	2	3	5	6	7	8	9	10
39	5911	5922	5933	5944	5955	5966	5977	5988	5999	6010	1	2	3	4	5	7	8	9	10
40	6021	6031	6042	6053	6064	6075	6085	6096	6107	6117	1	2	3	4	5	6	8	9	10
41	6128	6138	6149	6160	6170	6180	6191	6201	6212	6222	1	2	3	4	5	6	7	8	9
42	6232	6243	6253	6263	6274	6284	6294	6304	6314	6325	1	2	3	4	5	6	7	8	9
43	6335	6345	6355	6365	6375	6385	6395	6405	6415	6425	1	2	3	4	5	6	7	8	9
44	6435	6444	6454	6464	6474	6484	6493	6503	6513	6522	1	2	3	4	5	6	7	8	9
45	6532	6542	6551	6561	6571	6580	6590	6599	6609	6618	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46	6628	6637	6646	6656	6665	6675	6684	6693	6702	6712	1	2	3	4	5	6	7	7	8
47	6721	6730	6739	6749	6758	6767	6776	6785	6794	6803	1	2	3	4	5	5	6	7	8
48	6812	6821	6830	6839	6848	6857	6866	6875	6884	6893	1	2	3	4	4	5	6	7	8
49	6902	6911	6920	6928	6937	6946	6955	6964	6972	6981	1	2	3	4	4	5	6	7	8
50	6990	6998	7007	7016	7024	7033	7042	7050	7059	7067	1	2	3	3	4	5	6	7	8
51	7076	7084	7093	7101	7110	7118	7126	7135	7143	7152	1	2	3	3	4	5	6	7	8
52	7160	7168	7177	7185	7193	7202	7210	7218	7226	7235	1	2	2	3	4	5	6	7	7
53	7243	7251	7259	7267	7275	7284	7292	7300	7308	7316	1	2	2	3	4	5	6	6	7
54	7324	7332	7340	7348	7356	7364	7372	7380	7388	7396	1	2	2	3	4	5	6	6	7
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

對 數

	對 數									比 例 部									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55	7404	7412	7419	7427	7435	7443	7451	7459	7466	7474	1	2	2	3	4	5	5	6	7
56	7482	7490	7497	7505	7513	7520	7528	7536	7543	7551	1	2	2	3	4	5	5	6	7
57	7559	7566	7574	7582	7589	7597	7604	7612	7619	7627	1	2	2	3	4	5	5	6	7
58	7634	7642	7649	7657	7664	7672	7679	7686	7694	7701	1	1	2	3	4	4	5	6	7
59	7709	7716	7723	7731	7738	7745	7752	7760	7767	7774	1	1	2	3	4	4	5	6	7
60	7782	7789	7796	7803	7810	7818	7825	7832	7839	7846	1	1	2	3	4	4	5	6	6
61	7853	7860	7868	7875	7882	7889	7896	7903	7910	7917	1	1	2	3	4	4	5	6	6
62	7924	7931	7938	7945	7952	7959	7966	7973	7980	7987	1	1	2	3	3	4	5	6	6
63	7993	8000	8007	8014	8021	8028	8035	8041	8048	8055	1	1	2	3	3	4	5	5	6
64	8062	8069	8075	8082	8089	8096	8102	8109	8116	8122	1	1	2	3	3	4	5	5	6
65	8129	8136	8142	8149	8156	8162	8169	8176	8182	8189	1	1	2	3	3	4	5	5	6
66	8195	8202	8209	8215	8222	8228	8235	8241	8248	8254	1	1	2	3	3	4	5	5	6
67	8261	8267	8274	8280	8287	8293	8299	8306	8312	8319	1	1	2	3	3	4	5	5	6
68	8325	8331	8338	8344	8351	8357	8363	8370	8376	8382	1	1	2	3	3	4	4	5	6
69	8388	8395	8401	8407	8414	8420	8426	8432	8439	8445	1	1	2	2	3	4	4	5	6
70	8451	8457	8463	8470	8476	8482	8488	8494	8500	8506	1	1	2	2	3	4	4	5	6
71	8513	8519	8525	8531	8537	8543	8549	8555	8561	8567	1	1	2	2	3	4	4	5	5
72	8573	8579	8585	8591	8597	8603	8609	8615	8621	8627	1	1	2	2	3	4	4	5	5
73	8633	8639	8645	8651	8657	8663	8669	8675	8681	8686	1	1	2	2	3	4	4	5	5
74	8692	8698	8704	8710	8716	8722	8727	8733	8739	8745	1	1	2	2	3	4	4	5	5
75	8751	8756	8762	8768	8774	8779	8785	8791	8797	8802	1	1	2	2	3	3	4	5	5
76	8808	8814	8820	8825	8831	8837	8842	8848	8854	8859	1	1	2	2	3	3	4	5	5
77	8865	8871	8876	8882	8887	8893	8899	8904	8910	8915	1	1	2	2	3	3	4	4	5
78	8921	8927	8932	8938	8943	8949	8954	8960	8965	8971	1	1	2	2	3	3	4	4	5
79	8976	8982	8987	8993	8998	9004	9009	9015	9020	9025	1	1	2	2	3	3	4	4	5
80	9031	9036	9042	9047	9053	9058	9063	9069	9074	9079	1	1	2	2	3	3	4	4	5
81	9085	9090	9096	9101	9106	9112	9117	9122	9128	9133	1	1	2	2	3	3	4	4	5
82	9138	9143	9149	9154	9159	9165	9170	9175	9180	9186	1	1	2	2	3	3	4	4	5
83	9191	9196	9201	9206	9212	9217	9222	9227	9232	9238	1	1	2	2	3	3	4	4	5
84	9243	9248	9253	9258	9263	9269	9274	9279											

47

47-586二



1200501761641

終