

炭水化合物の代謝に関する研究：第一報 砂糖の微量定量法の比較

三山, 良輔
九州帝國大學農學部生物化學教室

<https://doi.org/10.15017/20772>

出版情報：九州帝國大學農學部學藝雜誌. 3 (2), pp.122-131, 1928-12. 九州帝國大學農學部
バージョン：
権利関係：



炭水化合物の代謝に関する研究

第一報 砂糖の微量定量法の比較¹⁾

三 山 良 輔

(昭和三年五月三十一日受領)

1. 緒 論

生物體內に於ける又は生物體が行ふ炭水化合物の代謝を研究せんとするに當り往々供資品の微量を以て之を行ふべき必要に相遇するを以て各種の砂糖微量定量法を比較し其の準據すべきものを選定するは炭水化合物研究の第一歩なる可きを感じ此の研究に着手したり。

先づ之を文献に徴するに一般の砂糖定量法は其の性質上三種類に大別し得

- 1 アルカリ性溶液中の還元力を利用する方法。
- 2 光學的に旋光力を測定する方法。
- 3 酵母の醗酵に依る方法。

以上の砂糖微量定量法の内第二の方法は進歩の道程にあれど尙正確なる結果は期待し得ず。

第三の方法は第一の方法を結合せしめて行はるれば先づ第一の方法に就きて行ひたり。

A 還元法に関する研究。

葡萄糖の定量はアルカリ性溶液に於ける葡萄糖の還元力を測定するものにて還元力は被還元物質に依りて決定せらるも被還元物質は Cuprous Salt, Picrate, Potassium Ferri cyanide, Indigo Tetra sulphonic acid, dinitro salicic acide 等の溶液なり。

葡萄糖は還元物質なるも還元物質は必ずしも葡萄糖ならず、されば直接に測定の困難なる葡萄糖の還元力を検出し之を以て供試液中の還元物質を葡萄糖とする事は一つの便法にして必ずしも葡萄糖のみより成るとは云ひ難い夫れ故多くの因子にて限定し成丈葡萄糖に近き値を求むるか或は他の混合物の影響を零に近づくる如く多くの定量法は設定せらるるも未だ充分に目的は達せられず。

余輩の實驗に用ひたる方法は次の如し

BENEDICT の方於 (1)

SHAFFER-HARTMANN の方法 24)

1) 九州帝國大學農學部生物化學教室邦文報告第 30 號

FOLIN & WU の方法 (8)	HAGEDORN-JENSEN の方法 12)
FOLIN の方法 (10)	BANG-HOLBELL の方法 (14)

還元法に關する研究を見る。

a) 結果の修正補正に就きて：— ROTHBERG & EVANS (23) 氏は比色法に於て色の濃度到大なる差あれば誤差大なるを認め刻度砂糖管を取り稀譯によりて此の缺點を補ふ事とせり STONER 氏は比色法に簡單なる修正法を出し OSCAR & KARR (22) 氏は Folin & Wu 方法の修正を圖並に式に依り出す如くせり。

b) 活動量に關するもの：— CALVERT (5) 氏は FOLIN & WU の方法は酸化物質減ぜば結果は減するならんと云ひ正確なる結果を得るには酸化物の多量を要せんと DUGGAN & SCOTT (7) 兩氏はアルカリ銅溶液の濃度にて結果は増減すとなしたり。

c) 滴定法にて銅と沃素の平衡：— SHAFFER HARTMANN (24) 氏は暗室内にて銅と沃素の平衡表を作り DUGGAN & SCOTT (7) 兩氏も SHAFFER HARTMANN 法に就き日光光線の下にて計り沃素と $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ との平衡を研究せり HAGEDORN (12) 氏は沃素と $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ との平衡を研究せり。

d) 各試薬の酸度に就きて：— BENEDICT (2) 氏に依れば血糖測定には水酸化物の代りに炭酸鹽を使用するを可なりと云へり FOLIN & WU (8) 兩氏は Folin の血漏液が最も普通に用ひらるるは Congo red に弱酸性なる爲なりとなし FOLIN (10) 氏は Folin & Wu の方法に一二滴の枸橼酸曹達 (20 %) を Buffer として加ふれば結果は減少す之よりアルカリの極限值を求めて Folin の方法を得たり即ち此の方法は炭酸鹽の代りに重炭酸鹽を使用せり BENEDICT 氏は酒石酸鹽が枸橼酸鹽より葡萄糖限定に效あり & HOLDEN (15) 氏に依ると還元は水素 ion 濃度の差に依りて著しく變ると同氏は HAGEDORN 法と WOOD & OST 法とを比較してアルカリ性大なればアミノ酸の分解にて生ずる還元物の成生か又は此の混合影響の爲大なる結果を與へんと云へり FOLIN (8) 氏は血漏液を phenol phthalen にて中性になる如く十分の一規定アルカリ溶液にて中和すべしと云へり。

MICHAEL-SOMOGYI (18) 氏は液の PH にて銅の還元量は著しく變るも實際葡萄糖が銅を還元する時の PH は計る事困難なり之加熱によりて砂糖の分解に依りて酸を形成し指藥よりは炭酸瓦斯の發生あればなり従つて血漏液の PH も重大なり phenal red 中性に苛性曹達にて中和す可しとなしたり。

e) 血液中の砂糖以外の還元物質に就き：— SCHUMM 氏は BANG の方法に僅かな殘存還元

を發見し Bang 氏も之を認めたり WISHERT MACLEAD 兩氏は葡萄糖定量の結果は不還元物質の濃度にて變すされば不還元物質多き資料は定量のみにては眞の葡萄糖の値を與ゆる事困難なりと云へり TAYLOR (25) 氏に依ると Creatinin や尿酸が FOLIN の方法や McELLOY の直接法に作用す故に葡萄糖のみの標準液を用ふるも血液や尿を試料とせる砂糖の定量の困難なる事を述べたり NEUBERG (20) 氏は還元性なる Acetaldehyd の動物組織中に蓄積するを亞硫酸固定法にて計れり DUGGAN & SCOTT (7) 兩氏は葡萄糖以外の假想的物質の還元は考ゆるに及ばざるも BENEDICT の方法を病的の血液に用ひたる結果は信ぜられずと云へり MICHAEL SOMOGYI (18) 氏に依ると葡萄糖鹽類の混合溶液にて鹽類は還元に大なる影響を及ぼすと HOLDEN (15) 氏は WOOD & OST 法と HAGEDORN 法にて尿素アミノ酸に就き還元に影響ありと BENEDICT (3) 氏も FOLIN & SVEDBERG (11) 兩氏も SJOLLEMA 氏も炭水化物ならざる還元物質を報告せり尙 BENEDICT 氏 (3) は葡萄糖ならざる炭水化合物 (還元性) の存在するを血液中より出したり又 FOLIN & SVEDBERG 兩氏は尙 COPPER COMPLEX を作り銅を還元せしめ易くする物質の存在に起因する誤差を報告せり BENEDICT (4) 氏は不純物に依る還元銅の狀態の差より生ずる誤差を指摘せり。

1) 各方法の比較に就き

DE WASEDOW (6) 氏は BENEDICT 法は MAC LEANS 法より血球中の不明な物質の爲に 30~50 % 高き葡萄糖の値を示すと FOLIN & WU 兩氏は FOLIN & WU 法は BENEDICT 法より低き値を示すと EGE 氏は BANG 法並びに HAGEDORN-JENSEN 法も普通の人の血液には残存還元は起らず此の兩者の結果は略一致すと報告せり HÖST HATELHOL (17) 兩氏は各方法を比較して次の順に低き結果を示すと云へり。

BENEDICT > FOLIN & WU > HAGEDORN > BANG

DUGGAN & SCOTT 兩氏に依ると FOLIN & WU 法と HAGEDORN 法は適當の濃度の純葡萄糖液の定量に正密に一致するとし尙 BENEDICT 法に於て葡萄糖や picric acid の濃度の増加と共に高き結果を與へ之は病的の血液に著しとなし SHAFFER HARTMANN 法にては 100 c.c. 中 25m. gr. 以上の葡萄糖にて信頼すべき結果を與ゆと述べたり。

II 純葡萄糖に就き各方法の比較

葡萄糖は Merk 製品を二回再結晶せしめ充分乾燥せしめ溶融點の一致せしものを使用せり。濃度を異にせる純葡萄糖溶液を種々の方法にて定量せし結果は次の如し。

A) BENEDICT の方法

Conc. of glucose used m.gr/100 cc. 50 6) 70 80 90 100 110 120 130 140 15) 160 170 180

Conc. of glucose determined

m.gr./100 cc. 44.1 56.0 66.3 77.5 88.7 100 110.7 122.1 133.3 145.7 155.1 167.7 178.2 186.8

Errors m.gr./100 cc. 5.9 4.0 3.7 2.5 1.3 0 0.7 2.1 3.7 5.7 5.1 7.7 8.2 6.8

此の結果は略 DUGGNA 及び SCOTT の結果と一致す。

B FOLIN & WU の方法

Conc. of glucose used, m.gr./100 cc. 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150

Conc. of glucose determined

m.gr./100 cc. 46.3 56.5 64.3 78.4 88.8 100 112.3 122.7 135.1 144.9 156.9

Errors m.gr./100 cc. 3.7 3.5 6.7 1.6 1.2 0 2.3 2.7 5.1 4.9 6.9

此の結果は大體 OSCUR & KARR の認めたるものに一致す。

C) FOLIN の方法

Conc. of glucose used m.gr./100 cc. 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150

Conc. of glucose determined

m.gr./100 cc. 45.8 56.1 68.4 78.2 88.9 100 111.3 122.6 133.4 144 155.2

Errors m.gr./100 cc. 4.2 3.9 1.6 1.8 1.1 0 1.3 2.6 3.4 4 5.2

此の結果は Folin & Wu の方法と傾向を等しくする。

D) HAGEDORN-JENSEN の方法

Conc. of glucose used

m.gr./100 cc. 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160

Conc. of glucose determined

m.gr./100 cc. 13 22 32 44 51 63 72 81 90 100 111 121 129 138 148 154

Errors m.gr./100 cc. 3 2 2 4 1 3 2 1 0 0 1 1 1 2 2 6

E) SHAFFER-HARTMANN の方法

Conc. of glucose used m.gr./100 cc. 20 40 60 80 100 120 140 160

Conc. of glucose determined m.gr./100 cc. 28.0 44.1 63.7 80.3 101.3 122.1 139.2 161.7

Errors m.gr./100 cc. 8.0 4.1 3.7 0.3 1.3 2.1 0.8 1.7

DUGGAN & SCOTT 兩氏は 20m.gr./100 cc. 以下にて 定量し難き事を述べたるも上の結果は既に 20m.gr./100 cc. 附近にて困難なるが如し。

F) BANG-HÜLBELL の方法

葡萄糖量を異にせる供試品を以て 滴定せる結果を示せば次の如し。

Quantity of glucose used

m.gr. 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10 0.12 0.14 0.16 0.18 0.20 0.24 0.28

Quantity of glucose determined

m.gr. 0.017 0.040 0.057 0.077 0.095 0.116 0.133 0.153 0.171 0.188 0.252 0.290

Error m.gr. 0.003 0.000 0.003 0.003 0.005 0.004 0.007 0.037 0.009 0.012 0.018 0.010

以上の實驗の結果に依れば

- a) 何れの方法も標準濃度附近にては正密なる結果を與ふ
 b) 處要資料の最小なるは Bang 法にて最大なるは Benedict 法なり。
 c) 一般に此色法は操作簡單にして滴定法は複雑なり。

III 混合溶液中に於ける各方法の比較

血液の處理は BANG, BENEDICT, 及び HAGEDORN の各法に於ては夫れ失れ BANG, BENEDICT, HAGEDORN の各法に従ひ他の方法の場合には Folin の方法を採用して血漏液を作り之を定量に用ひたり同一の兎より時を異にして四回採取した血液を各回各種の方法に依り定量したる結果を 100 cc. 中砂糖含有量にて示せば次の如し 但し BANG の方法に於て血液の比重は 1.056 として計算したり。

	BANG	SHAFFER- HARTMANN	HAGEDORN	BENEDICT	FOLIN-WU	FOLIN
第一回	82	81	83	91	86	81
第二回	85	83	86	101	108	83
第三回	73	80	87	94	87	80
第四回	82	83	86	94	88	83
計	322	327	340	380	369	327
平均	80.5	82	85	95	92	82

此結果によれば BENEDICT>FOLIN Wu>HAGEDORN>FOLIN=SHAFFER HARTMANN>BANG の順に小さき値を與ふ之により單に結果の大小は比較し得るも此の理由につきては尙不明なれば以下の實驗を行へり。

B) 鹽類又はアミノ酸の存在が葡萄糖價に與へる影響

供試品中に他の混合物ある時葡萄糖の還元力に如何なる影響を及ぼすかを實驗せり。

a) アミノ酸溶液中に於ける各方法の比較

曩に奥田片井兩氏 (21) は Cystein 及 Cystin が糖定量法に影響ある事を實驗したるを以て余輩は Cystin を用ひ更に各種の方法によりて果して然るや否やを實驗したり次表の數字は 100 cc. 中の m.gr. なり。

Sample	Solution	Concentration of glucose determined				
		FOLIN Wu	BENEDICT	HAGEDORN	SHAFFER HARTMANN	BANG
90	10	95	97	96	107	78
80	20	83	92	86	103	83
70	30	76	86	81	100	88
60	40	69	79	78	96	92

50	50	59	73	76	88	96
40	60	49	69	73	86	100
30	70	46	62	69	86	105
20	80	58	64	65	84	110
10	90	63	69	61	82	114
0	100	73	70	56	75	118

Cystin は何れの方法に依りても還元力あり最も還元力少なるは HAGEDORN 法にして BANG 法に於ては葡萄糖より還元力大なり SHAFFER HARTMANN 法も可なり大なる結果を與ふ。

之は Cystin の分解に依るか否かは疑はしきも之の分解生産物と思はるる硫化物(硫化曹達)に就きては次の實驗を行へり。

b) 鹽類溶液中に於ける各方法の比較

i) 硫化曹達到就きて

葡萄糖中に硫化曹達を加へて各方法にて定量せし結果次の如く數字は 100 cc. 中の m.gr. なり第三項は此の硫黄が全く Cystin より來たるものと假定し此の Cystin の分解の濃度として計算したり。

Sample Solution			Sugar determined				
glucose conc.	Sodium Sulfide Conc.	Corresponding cystin conc.	BENEDICT	FOLIN WU	HAGEDORN	BANG	SHAFFER HARTMANN
100	2.7	10	98.5	108.7	94	86	95
100	5.3	20	98.5	109.9	95	84	99
100	8.0	30	98.5	111.7	90	81	96
100	10.6	40	98.0	113.0	90	80	94
100	13.3	50	100.2	114.9	92	82	94
100	16.0	60	101.0	117.6	95	81	93
100	18.6	70	98.0	119.0	94	80	104
100	21.3	80	99.0	120.5	97	85	104
100	24.0	90	101.5	122.7	97	85	100
100	26.7	100	102.5	125.1	98	86	104

以上の事實より BENEDICT 法に於ては殆んど影響なしと云ひ得可く一般に硫化曹達の影響大ならず。

唯 FOLIN WU 法と BANG 法に可成り影響あり。

ii) 磷酸曹達到就きて

葡萄糖 100 m. gr. に磷酸曹達 (NaH_2PO_4) を加へて定量したり數字は 100 cc. 中の m.gr. にて表す。

Sample Solution		glucose determined					
glucose conc.	NaH_2PO_4 Conc.	FOLIN & WU	FOLIN	BENEDICT	BANG	SHAFFER HARTMANN	HAGEDORN
100	10	104.6	101.0	96.2	99	98.1	100
100	20	101.4	97.9	90.2	98.2	99.2	102.2
100	50	97.9	92.5	86.2	97.3	101.4	103.6
100	100	96.2	86.2	83.4	97.1	108.0	106.6

以上の結果より Benedict 法は可成り過少の價を與ふ其他何れの方法も多少の影響あり。

總 括

1) BENEDICT, FOLIN-WU, SHAFFER-HARTMANN, BANG 及び HAGEDORN の各方法を用ゐて純葡萄糖溶液、血液、及人工混合溶液に於て葡萄糖を定量したり。

2 純葡萄糖溶液に於ける實驗に依れば何れの方法も標準濃度の砂糖を含有する場合には正確なる價を與ふるも標準濃度以外に於ては何れも多少の誤差は免れず但し HAGEDORN-JENSEN 法は最も誤差少なるが如し。

3) 所要供試料の最少なるは BANG 法にして最大なるは BENEDICT 法なり。

4) 一般に比色法は操作簡單にして滴定法は複雑なり。

5) 血液に於て行ひたる定量結果は BANG 法は最小にして BENEDICT 法は最大なりき其の順位は

$$\text{BANG} < \text{SHAFFER-HARTMANN} = \text{FOLIN} < \text{HAGEDORN} < \text{FOLIN-WU} < \text{BENEDICT}$$

6) Cystin の添加に依りて何れの方法も影響を被る其の影響の頗る大なるは BANG 法なり。

7) 硫化曹達の添加は FOLIN-WU の方法に過大なる結果を生じ BANG の方法には過少なる結果を與ふ他の方法には影響殆んどなし。

8) 磷酸曹達の添加は BENEDICT 法に過少なる結果を與へ他の方法には多少の影響あり。

9) HAGEDORN-JENSEN の方法は Cystin 及鹽類の影響を被る事比較的少に最良法と考ふる事を得べし。

(昭和三年五月三十一日。生物化學教室)

文 献

1. BENEDICT. S. R., J. Biol. Chem., 1918, XXXIV, 203.
2. " J. Biol. Chem., 1925, LXIV, 207.
3. " J. Biol. Chem., 1926 LXVIII 759.
4. " J. Biol. Chem., 1928 LXXXV 33.
5. CALVERT. E.G.B. Biochem. J., 1923~1924 XUII 117.
6. DEWASSELOW Biochem. J., 1919 XIII 148.
7. DUGGAN. W. F., & SCOTT. E. L., J. Biol. Chem. 1926 LXVII 287.
8. FOLIN. O. & WU. H., J. Biol. Chem., 1919 XXXVIII 38.
9. FOLIN. O. & BERGLAND. H., J. Biol. Chem., 1922 LI 209.
10. FOLIN. O., J. Biol. Chem., 1926 LXUII 357.
11. FOLIN. O. & SVEDBERG. A., J. Biol. Chem., 1926 LXX 405.
12. HAGEDORN-JENSEN., Biochem. Z., 1923 CXXXV 46.
- " Biochem. Z., 1923 CXXXVII 92.
13. HARNED., J. Biol. Chem., 1925 LXV 555.
14. HOLBELL SVENAGE., Biochem. Z., 1921 LXIII 200.
15. HOLDEN. Biochem. J., 1926 XX 263.
16. HÖST. H. F., J. Biol. Chem., 1919 XXXVIII 17.
17. HÖST. H.F., & HATLEHOLE. R., J. Biol. Chem., 1920 XLII 347.
18. MICHAEL. SOMOGY., J. Biol. Chem., 1926 LXX 599.
19. " J. Biol. Chem., 1927 LXXXV 23.
20. NEUBERG C., Ber. Chem. ges., 1922 IV B 3624.
21. 奥田及片井 本誌本號
22. OSCAR. B. L. & KARR. W.G. J. Biol. Chem., 1924 LXIII 319.
23. ROTHERBERG. V.E., & EVAUS F.A., J. Biol. Chem., 1923~24 LXIII 435.
24. SHAFFER. R.A., & HVRTMAN. A.F., J. Biol. Chem., 1920~21 XLV 335.
25. TUYLOR. W. W., Biochem. J., 1924 XVIII 1232.
26. WINTER & SMITH. Proc. Roy. Soc. London., 1924 B 97.

THE STUDY OF CARBOHYDRATE METABOLISM.

I. ON THE COMPARISON OF THE MICRO ANALYTICAL METHODS OF GLUCOSE

(Résumé)

Ryosuke MIYAMA

I thought it is of the first importance to the reserch of carbohydrate metabolism to select a standard micro analytical method of glucose, since it is frequently needed, in the case of biological study, to perform the experiments with a small quantity of sample. From this view point the experiments were carried out and the results may be summarised as follows :—

1) Glucose was determined in a pure glucose solution, blood, and artificial mixed solutions by the methods of Benedict, Folin-Wu, Folin, Hagedorn, Shaffer-Hartmann, and Bang, among which the former three are colorimetric methods and the latter three titration methods.

2) In the case of pure glucose solution, it was found that all the methods afford correct results at their standard concentration, but they show more or less errors when the concentration is deviated from the standard. Among the methods examined, Hagedorn's method showed the smallest amount of error.

3) Benedict's method requires the largest quantity of sample for determination and Bang's method the smallest.

4) The treatment of the colorimetric methods is generally simple but that of the titration methods more complex.

5) When blood was used as a sample, Bang's method afforded the smallest result of sugar and Benedict method the lafgest, the order being as follows :—

Benedict > Folin-Wu > Hagedorn > Folin > Shaffer-Hartmann > Bang

6) The results obtained in the mixed solutions were as follows :—

a) Every method is effected by the addition of cystine in the samples, the effect being the largest in Bang's method.

b) The addition of sodium sulfide gives too high results in Folin-Wu's

method but too low results in Bang's method. Other methods are little effected.

c) The addition of sodium phosphate gives too low results in Benedict's method but shows little influence upon the other methods examined.

7) From the results of experiments I came to the conclusion that Hagedorn's method is the most reliable.
