

## 乳児の硫黄代謝に関する研究

## 第 1 編

乳汁、尿及び尿中の総硫黄定量法の考案  
並びに各種乳汁中の総硫黄量

岡山大学医学部小児科教室 (主任：浜本英次教授)

濱 田 義 文

〔昭和34年12月19日受稿〕

## 緒 言

1901年 Siven<sup>1)</sup>等は成人の窒素並びに硫黄代謝を並行的に分析し、窒素代謝のみを以つてしては蛋白代謝の眞の姿を把握する事はむつかしいと述べた。其の後 Blazsó<sup>2)</sup>、Ujsághy<sup>3)</sup>は硫黄代謝が蛋白代謝を規制するが如き事態の観察について報告した。私はこれ等の報告にならい、人工栄養児と天然栄養児との間における蛋白代謝の相違を硫黄代謝の面から解明せんとした。

硫黄代謝を研究するに当り第一に直面するのは乳汁、尿及び尿中の硫黄定量法である。所が従来の研究者の報ずる母乳中の硫黄量を逡覧するとその成績は著しく動揺しており 1.4 mg/dl の低値から 60 mg/dl の高値迄大なるひらきがある。かかる大なるひらきは硫黄の定量法に不備がある事を物語っている。従つて私はまづ第1編に於いてこれ等硫黄定量法を検討し、先人の定量法を改良して一定の成績を与えうる方法を案出し、之を以つて各種乳汁中の硫黄量を定量し報告する。第2編に於いてこれを用いた乳児の硫黄代謝の結果を報告する。

## 第1章 乳汁、尿及び尿中の総硫黄定量法

## 第1節 文献の考按

総硫黄の定量法については多数の報告がある。しかしながら吉川<sup>4)</sup>の言う如く、最大の困難は灰化法にあつて今日でも尚完全且簡單なる灰化法は確定されてない。従つて私は、ここに各種の灰化法を種々検討すると共に、最後に私の採用した灰化法に論及する。

灰化法は乾性灰化と湿性灰化とに二大別される。

前者は被検物に酸化剤を加え蒸発乾固する方法であり、後者は液状の儘で灰化を終えるものである。両灰化法は使用される試薬或いは装置の相違により次の如くに細分される。

## 1. 乾性灰化法

(1)  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、及び  $\text{KClO}_3$  を使用する方法  
代表的なものが Benedict<sup>5)</sup>の方法である。彼以来本法は専ら尿中総硫黄の定量に利用されている。

(2)  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  及び  $\text{NaCl}$  を使用する  
方法

Benedictの方法を Denis<sup>6)</sup>が改良したものであるが、彼も本法を尿中総硫黄の測定に利用した。Klepeter<sup>7)</sup>は本法を一部改良し、各種有機物中の硫黄定量法に使用した。

(3)  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{NaCl}$  及び  $\text{NH}_4\text{Cl}$  を使用する  
方法

Denis-Reed<sup>8)</sup>は本法により血清中の硫黄を測定した。

(4)  $\text{KNO}_3$  及び  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  を使用する方法

Lorant<sup>9)</sup>も本法を血清中の硫黄測定に利用した。

(5)  $\text{Na}_2\text{O}_2$  を使用する方法

Folin<sup>10)</sup>を始め Neumann-Meinertz<sup>11)</sup>、Pringsheim<sup>12)</sup>等の使用例がある。

上述の方法はいづれも灰化中に硫黄の損失をみる事が多いと言われている。これ等のうちで最もよいとされているのは  $\text{Na}_2\text{O}_2$  を使用する方法であるが、この欠点としては爆発の危険性を有する事である。又私は Edlbacher<sup>13)</sup>の記載に従い本法を試みたが、被検物中の硫黄含量が少ない時は、試薬中のそれが測定値の20%を占める事があつた。従つて本法は無撰択には使用できない事を知つた。

## 2. 湿性灰化法

(1) Carius 法 (封管法)<sup>(14)(15)</sup>

封管内で試料を燃焼灰化せしめる方法である。この際  $Ag^{16)}$ ,  $V_2O_5^{17)}$  或いは  $Mg^{18)}$  等の触媒を加えたり又は酸素気流を<sup>(19)(20)(21)</sup> 通じたりする。

本法は主として元素分析に用いられ、従つて正確なる値は得られるが、被検物の量は微量なる事を要し、且装置も複雑となる欠点を有する。尚本法に於いては、被検物は、灰化によつて酸化され硫酸となるが、Master 等<sup>(22)(23)</sup> は封管内に水素ガスを通じ被検物を還元し硫化水素となし、これをヨード滴定している。後者でも正確な値が得られるが矢張り上述の如き欠点を有している。

(2)  $HNO_3$  及び  $H_2O_2$  を使用する方法

Lang<sup>(24)</sup> 及び Morgulis & Hemphill<sup>(25)</sup> が使用した方法である。現在この灰化法は光電比色計による測定の際利用されている。私も本法による灰化並びに比色定量を試みたが、その回収率は50~75%であつた。

(3)  $HNO_3$ ,  $H_2O_2$ ,  $NaOH$  及び  $Br_2$  を使用する  
方法

Stockholm 及び Koch<sup>(26)</sup> が使用した方法である。本法は湿性灰化の代表的なものとして、一般有機物中の硫黄定量に古くから使用されている。私も本法を試みたが、操作に長時間を要し且回収率も70%前後であつた。

(4)  $HNO_3$  及び  $HClO_4$  を使用する方法

本法を初めて有機物中硫黄の定量に利用したのは Lamette 及び Kahane<sup>(27)</sup> であつた。本法は其の後酸化装置を連結するように改良せられ Bethge<sup>(28)</sup> にうけつがれたのである。Bethge の方法では被検物の重量は 9 mg から 5 g の間で且被検物中の硫黄含量が 0.01 % から 100 % 迄測定可能である。Master<sup>(27)</sup> も本法による灰化が Carius 法についてよいと述べている。

私は Bethge の方法に次の如き改良を加え満足すべき回収率を得る事に成功した。以下その測定法につきのべる。

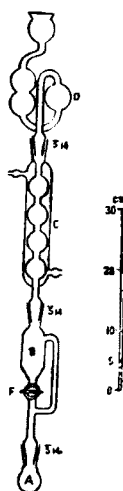
## 第 2 節 測定方法

酸混合物 (硝酸及び過塩素酸) によつて、被検物を酸化し、ついで還元剤により硫化水素となし、これをヨード滴定する方法である。

## 1. 装置 (第 1 図及び第 2 図)

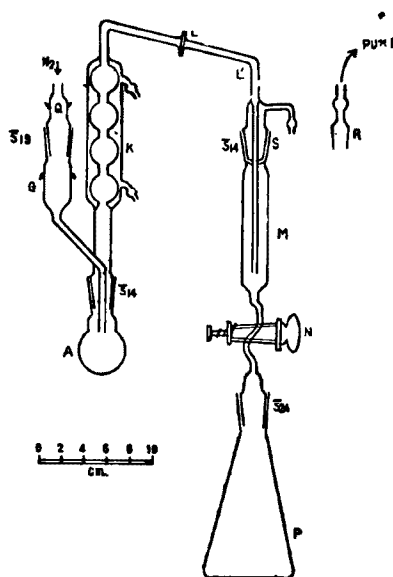
- 1) 反応フラスコ (A) ……内容約 50 cc
- 2) 酸化装置

第 1 図



- i) 還流受け (B)
  - ii) 還流凝結器 (C)
  - iii) ガス洗浄器 (D)
- 3) 還元装置 (K)
  - 4) 吸収管 (M)
  - 5) 滴定フラスコ (P)
  - 6) 球窩関節 (L)
  - 7) 連結管 (L')
  - 8) 活栓 (N) 及び (F)
  - 9) 口金 (R) 及び (Q)
  - 10) 通風筒 (G)

第 2 図



上記の器具はすべて堅牢な硬質ガラスで作られる。特に滴定フラスコ (P) は減圧に耐えられるようにガラス壁を厚くする。

## 2. 試 薬

- 1) 酸混合物  
過塩素酸 (比重1.69) 60 cc と濃硝酸 (比重1.40) 40 cc を混和する。
- 2) 臭化水素酸 (比重1.49)
- 3) 還元混合物  
沃化水素酸 (比重1.70) 160 cc, 次亜磷酸 (50%) 45 cc, 及び濃塩酸 (比重1.19) 160 cc を順次添加混

和する。この混合物に窒素ガスを通しながら1時間還流する。

#### 4) 苛性ソーダ (約3N)

苛性ソーダ約120gを秤量し1lのメスコルベン中にとり、水を加えて其の容積を1lとする。

#### 5) 磷酸 (約5N)

正磷酸 (比重1.74) 342ccに約100ccの水を混じついで冷却し、更に水を加えてその容積を1lとする。

#### 6) ヨード溶液 (1/100N)

市販のヨード末12.7gを秤量し、これをあらかじめ純ヨードカリ結晶20~25gを少量の水(約5cc)に溶解しておいた1lのメスコルベン中に投じ、ヨードが全く溶解した後水を加えて1lとする。これで約1/10Nのヨード液が得られる。用に臨みこれを10倍に稀釈して(ヨードカリを含む水で)調製し、力価既知の1/100Nのチオ硫酸ソーダで力価を決定する。

#### 7) チオ硫酸ソーダ液 (1/100N)

チオ硫酸ソーダ25gを水にとかし全量を1lとなすと約1/10Nのチオ硫酸ソーダ液が得られる。使用に臨みこれを10倍に稀釈し1/100Nのヨード酸カリ液で力価を決定する。

#### 8) 1/100N ヨード酸カリ液

予め正確に秤量した重量既知の秤量瓶中に純ヨード酸カリ(片山化学, 試薬特級品)3.567g直示天秤(最小感度0.05mg)にて秤量してとり、これを定量的に1lのメスコルベン中に溶しこみよく混和して全量を1lとする。かくして1/10Nヨード酸カリ液が得られる。

用に臨み100ccのメスコルベンに約80ccの水をとり之に1/10Nヨード酸カリ液10.0ccをピペットを以て正確に添加し、水を追加して劃線に迄達せしめる。

#### 9) 2%澱粉溶液

可溶性澱粉2gを20ccの水に投じ、これを沸騰する水60cc中に洗いこみ、2分間煮沸し、食塩20gを添加し、放冷水を加えて100ccとする。

10) 重クロム酸カリ(和光純薬工業株式会社, 試薬特級)

#### 11) バナジウム飽和溶液

バナジウム酸アンモン約0.3gを過塩素酸100ccに溶解して数日間放置する。その上清は即ちバナジウムの飽和溶液にしてその0.1cc中に0.15mgのバナジウムを含有する。

### 3. 操作法

1) 試料を秤量し(但し固形物ならば0.5~1g, 液体ならば5cc)反応フラスコ(A)中に採り、重クロム酸カリ20mgを加え、バナジウム飽和溶液1ccを追加する。

2) 活栓(F)を閉じ、還流受け(B)中にピペットをもつて酸混合物5ccを採る。

3) 反応フラスコ(A), 還流受け(B), 還流凝結器(C)及びガス洗浄器(D)を第1図の如くに連結する。

凝結器(C)の外筒に水道水を通じ、ガス洗浄器(D)に水を満たす。

4) 活栓(F)を開きあらかじめ還流受け(B)内にいれておいた酸混合物を反応フラスコ(A)内へ落下せしめる。ついでフラスコ(A)を金網上に徐々に加熱し、これを5分間継続する。

5) 活栓(F)を閉じ、漸次火力を強めながら加熱を継続する。

6) やがて反応フラスコ内容は沸騰し、酸混合物中の硝酸は蒸溜せられ還流受けに移行捕捉せられる。ついでフラスコ内に白煙が生じ更に少時間を経てフラスコ内容はオレンジ色に変化する。ここに於いて加熱をとどめる。

7) 装置を放冷した後活栓(F)を開き還流受けに貯溜している液をフラスコ内へ落下せしめる。

8) 加熱を再開し、フラスコ内容を沸騰せしめる。これを約1分間継続した後活栓(F)を閉じる。

9) フラスコ内容がオレンジ色に変化すれば加熱をやめる。

10) 放冷後反応フラスコ(A)を装置から抜きとる。

11) 反応フラスコ(A)中に臭化水素酸8ccを添加し、徐々に加熱する。ブromガスが逃げ去りフラスコ内容が淡黄色になる迄加熱を継続する。尚フラスコ内に窒素ガスを通ずれば、この反応は著しく促進される。

12) 滴定フラスコ(P)中に5Nの磷酸15ccを採る。

13) 活栓(N)を開放の儘吸引管(M)を適定フラスコ(P)の頸部に挿入する。

14) 口金(R)の一端を吸引管(M)の先端に接着し、(R)の他端を吸引ポンプに接続する。ついでポンプを発動せしめ、吸引管(M)及び適定フラスコ(P)内の空気を除去する。

15) 活栓(N)を閉じ、口金(R)を抜去した後、

吸引管 (M) 中に 3 N の苛性ソーダ 20 cc をいれる。

16) 次で反応フラスコ (A) を連結した通風筒 (G), 還元装置 (K), 球窩関節 (L) 及び連結管 L' を吸引管 (M) に連結する。

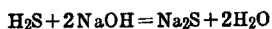
17) 通風筒 (G) から還元混合物 10 cc を流入する。口金 (Q) をはめる。

18) 還元装置 (K) の外筒に水道水を、口金 (Q) から窒素ガスを通しながら反応フラスコ (A) を加熱し 15 分間沸騰せしめる。

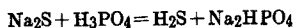
19) 活栓 (N) を徐々に開く。吸引管 (M) 内の液がすべて滴定フラスコ (P) 内に吸いこまれるや否や活栓 (N) を閉ぢる。

20) 球窩関節 (L) を離す。連結管 (L') を吸引管 (M) よりはずし 3.5 cc の水で吸引管 (M) の内壁を 3 回洗滌し、その都度上述の如く、洗滌液を滴定フラスコ (P) 内へ吸いこませる。

21) 1/100 N ヨード液を正確に 5 cc とり、これを吸引管 (M) 内に添加し、ついで活栓 (N) を開く。(滴定フラスコ (P) 内へ直接ヨード液を添加しないのは次の理由による。即ち窒素によりはこばれて吸引管 (M) に到つた硫化水素はここで苛性ソーダと反応して硫化ソーダーを生ずる。

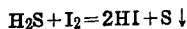


この硫化ソーダーは更に滴定フラスコ (P) 内に落下し磷酸と反応して硫化水素を生ずる。



この硫化水素の脱出を防ぐ為に滴定フラスコ (P) 内は減圧を維持しなければならないからである。ヨード液がすべて滴定フラスコ (P) 内へ吸いこまれるや否や活栓 (N) を閉ぢる。

22) 20 と同様の操作により吸引管 (M) の内壁を 3 回洗滌する。洗滌後滴定フラスコ (P) を一分間激しく振盪する。(この操作により滴定フラスコ (P) 内に生じている硫化水素は完全にヨードと反応する。



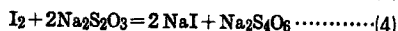
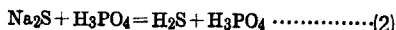
滴定フラスコ (P) の内容が黄色に変化する迄この操作を反覆する。

23) 活栓 (N) をひらき滴定フラスコ (P) 内を常圧にかえした後吸引管 (M) を抜去する。この際吸引管 (M) の滴定フラスコ (P) 内に挿入されていた部分は噴水瓶からの水をもつて滴定フラスコ (P) 内へ洗いこまれる。

24) 析出したヨードを 1/100 N チオ硫酸ソーダ

液をもつて滴定する。淡黄色になつた後、始めて 2 % の澱粉溶液数滴を添加し発現する青色が全く無色となる迄滴定する。

#### 4. 計算法



(3) の反応に基きヨード二原子 ( $2 \times 126.92 \text{ g}$ ) は硫黄一原子 ( $32.066 \text{ g}$ ) を遊離する。

今若し

ヨード液の消費量  $\dots\dots\dots a \text{ cc}$

ヨード液の規定数  $\dots\dots\dots n$

チオ硫酸ソーダ液の消費量  $\dots\dots\dots b \text{ cc}$

チオ硫酸ソーダ液の規定数  $\dots\dots\dots m$

被検物中の硫黄量  $\dots\dots\dots x \text{ mg}$

とすると

$$2 \times 126.92 : 32.066 = 126.92 (an - bm) : x$$

$$x = \frac{16.03}{32.06} \times 126.92 (an - bm)$$

$$= \frac{2 \times 126.92}{32.06} \times 16.03$$

$$\therefore x = 16.03 (an - bm)$$

### 第 3 節 測定成績

#### 1. 硫黄標準液の調製

硫酸カリ 174.258 g 中には硫黄 32.066 g を含む。従つて硫酸カリ 2.1741 g 中には硫黄 0.400 g を含有する。

予め正確に秤量し重量既知の秤量瓶内に結晶性純硫酸カリ (片山化学, 試薬特級, 最純試薬) 2.1741 g をとりこれを定量的に 1 l のメスコルペン中に溶しこみ、よく混和して全量を 1 l とする。この溶液 1 cc 中には 0.400 mg の硫黄を含有する。

#### 2. 実施及び測定成績

硫黄標準液 3 cc 及び 6 cc を正確にピペットで反応フラスコ中にとり前述の方法 (但し 13 以下) に従つて硫黄量を測定した。その成績は第 1 表の如くであつて平均回収率 99.9% 標準偏差 0.19 であつた。

即ち硫黄標準液中の硫黄は本定量法により正確に定量し得る。

#### 2 メチオン及びチスチン硫黄の測定成績

##### 1) 被検材料

測定に供せられる L-メチオン及び L-チスチンは片山化学製造の特級試薬である。分析報告書によればこのメチオン及びチスチンの硫黄含有量はそれぞれ 21.3~21.6% 及び 26.5~26.8% である。

第 1 表 硫黄標準液測定成績

被検物 cc	ヨード液 消費量 (a) cc	ヨード液 規定数 (n)	チオ硫酸 ソーダ液 消費量 (b) cc	チオ硫酸 ソーダ液 規定数 (m)	硫黄 定量値 (x) mg	理論 硫黄量 mg	回収率 %	標準偏差 σ
3	10.0	0.01×1.02	2.41	0.01×1.05	1,197	1,200	99.7	
3	10.0	0.01×1.02	2.59	0.01×1.05	1,199	1,200	99.9	
6	15.0	0.01×1.02	0.26	0.01×1.05	2,405	2,400	100.2	
6	15.0	0.01×1.02	0.30	0.01×1.05	2,400	2,400	100.0	
平均							99.9	0.19

2) 実施及び成績

メチオニンをとりこれを直示天秤(最小感度 0.05 mg)にて正確に 10 mg 秤量する。これを反応フラスコ中にとり前述の方法に従い硫黄量を測定した。同様にしてメチオニン 20 mg チスチン 10mg

及びメチオニン、チスチン各 5 mg 宛の混合物中の硫黄量を測定した。その成績は第 2 表の如くであり平均回収率 96.0% 標準偏差 0.834 であつた。

即ちメチオニン及びチスチン中の硫黄は本定量法により正確に定量し得る。

第 2 表 メチオニン及びチスチン中の硫黄量測定成績

被検物 mg	ヨード液 消費量 (a) cc	ヨード液 規定数 (n)	チオ硫酸 ソーダ液 消費量 (b) cc	チオ硫酸 ソーダ液 規定数 (m)	硫黄 定量値 (x) mg	理論* 硫黄量 mg	回収率 %	標準偏差 σ
メチオニン 10	15	0.01×1.01	2.13	0.01×1.05	2.07	2.15	96.2	
メチオニン 10	15	0.01×1.01	2.38	0.01×1.05	2.02	2.15	93.9	
メチオニン 10	15	0.01×1.01	2.21	0.01×1.04	2.06	2.15	95.8	
メチオニン 20	30	0.01×1.01	4.37	0.01×1.04	4.13	4.30	96.0	
メチオニン 20	30	0.01×1.00	3.96	0.01×1.04	4.15	4.30	96.5	
チスチン 10	20	0.01×1.00	3.71	0.01×1.04	2.58	2.67	96.7	
チスチン 10	20	0.01×1.00	3.87	0.01×1.04	2.55	2.67	95.6	
チスチン 10	20	0.01×1.00	3.70	0.01×1.04	2.59	2.67	97.1	
メチオニン 5 } チスチン 5 }	15	0.01×1.00	0.63	0.01×1.04	2.31	2.41	95.9	
メチオニン 5 } チスチン 5 }	15	0.01×1.00	0.45	0.01×1.04	2.33	2.41	96.6	
平均							96.0	0.834

\* メチオニン及びチスチンの硫黄含有量は夫々 21.5% 及び 26.7% とする。

3. 乳汁、尿及び尿への含硫アミノ酸添加回収実験成績

粉乳(原粉末及び稀釈粉乳汁)、母乳、市乳、尿及び尿にメチオニン或いはチスチンを 5 mg づつ添加し、これ等含硫アミノ酸の添加回収率をみた。その成績は第 3 表の如くであり平均回収率 95.4% 標準偏差 1.28 であつた。

この成績から私は本法が乳汁、尿及び尿中の総硫黄定量法としても十分使用し得るものである事を見た。

第 2 章 各種乳汁中の総硫黄量

1. 調製粉乳

各種調製粉乳(原粉末) 0.5 g をとり前述の方法で総硫黄含有量を測定した。これよりその粉乳を原乳濃度になるよう 18% に稀釈したものの総硫黄濃度が得られる。即ち第 4 表に示すように粉乳 A, B, C, D 及び E はそれぞれ 0.841, 0.859, 0.904, 0.967 及び 0.842 mg/0.5 g であつて、これを原乳濃度に稀釈した場合のそれは 30.3, 30.9, 32.6, 34.8 及び 30.3 mg/dl であつた。粉乳全体の平均

第 3 表 乳汁, 尿及び尿への硫アミノ酸添加回収実験成績

被 検 物	添加物 (すべて) (5mg)	被 検 物 の 硫黄定量値 (a) mg	(被検物+ 添加物) の硫黄定量 値(b) mg	添加物の硫 黄 定 量 値 (b-a) mg	添加物の* 理論硫黄 量 mg	回収率 %	標準偏差 σ
粉乳 (原粉末) 0.5g	チスチン	0.83	2.11	1.28	1,335	95.8	
粉乳 (原粉末) 0.5g	メチオニン	0.91	1.93	1.02	1,075	95.0	
粉乳 (粉乳汁) 5cc	チスチン	1.41	2.66	1.25	1,335	93.7	
粉乳 (粉乳汁) 5cc	メチオニン	1.04	2.07	1.03	1,075	95.8	
母 乳 5cc	チスチン	0.51	1.78	1.27	1,335	95.3	
母 乳 5cc	メチオニン	0.67	1.68	1.01	1,075	93.9	
市 乳 5cc	チスチン	1.42	2.70	1.28	1,335	96.0	
市 乳 5cc	メチオニン	1.55	2.56	1.01	1,075	93.9	
尿 5cc	メチオニン	1.20	2.21	1.01	1,075	93.9	
尿 5cc	メチオニン	0.92	1.95	1.03	1,075	95.8	
尿 5cc	チスチン	0.62	1.93	1.31	1,335	97.8	
尿 1g	メチオニン	0.65	1.67	1.02	1,075	95.4	
尿 1g	メチオニン	0.95	1.96	1.01	1,075	94.1	
尿 1g	チスチン	0.78	2.08	1.30	1,335	97.8	
平 均						95.4	1.28

\* メチオニン及びチスチンの硫黄含有量は夫々21.5%及び26.7%とする。

第 4 表 各種調製粉乳中の総硫黄量

粉 乳	原 粉 末			原 乳 濃 度 稀 釈 粉 乳 汁	
	被検量 g	硫黄定量 値 mg	硫黄平均 値 mg	硫黄濃度 mg/dl	硫黄平均 値 mg/dl
A	0.5	0.834	0.841	30.0	30.3
	0.5	0.839			
	0.5	0.849			
B	0.5	0.914	0.859	32.9	30.9
	0.5	0.837			
	0.5	0.827			
C	0.5	0.930	0.904	33.5	32.6
	0.5	0.893			
	0.5	0.891			
D	0.5	0.957	0.967	34.5	34.8
	0.5	0.976			
	0.5	0.970			
E	0.5	0.818	0.842	29.5	30.3
	0.5	0.808			
	0.5	0.899			
平均 値			0.883		31.8

値は 0.883 mg/0.5g 及び 31.8 mg/dl となった。

2. 母 乳

16例の母乳試料各 5cc より前述の方法で硫黄量

を測定した所, 第 5 表の如き成績を得た。即ち最低 9.7 mg/dl 最高 13.8 mg/dl で平均 11.7 mg/dl であった。

3. 市販乳

日を異にした 5 種の市販乳試料 5cc をとり,

第 5 表 母乳中の総硫黄量

試料番号	被 検 量 cc	硫黄定量値 mg	硫 黄 濃 度 mg/dl
1	5	0.67	13.4
2	5	0.485	9.7
3	5	0.69	13.8
4	5	0.51	10.2
5	5	0.545	10.9
6	5	0.54	10.8
7	5	0.56	11.2
8	5	0.61	12.4
9	5	0.55	11.0
10	5	0.525	10.5
11	5	0.52	10.4
12	5	0.66	13.2
13	5	0.63	12.6
14	5	0.615	12.3
15	5	0.58	11.6
16	5	0.65	13.0
平 均		0.585	11.7

第6表 市販乳中の総硫黄量

試料番号	被検量 cc	硫黄定量値 mg	硫黄濃度 mg/dl
1	5	1,425	28.5
2	5	1,55	31.0
3	5	1,41	29.8
4	5	1,575	31.5
5	5	1,565	31.3
平均		1,52	30.4

前述の方法で総硫黄量を測定した所、第6表の如き成績を得た。即ち最低 28.5 mg/dl 最高 31.5mg/dl で平均 30.4 mg/dl であった。

### 考 案

1956年 Bethge は、湿性灰化に硝酸及び過塩素酸を用いた方法により、生物学的或いは工業的生産物中から硫黄を定量せんとして平均99.6%なる回収率を持つた優秀な定量法を発表した。私は Bethge の湿性灰化法の優秀なる事に着目し、これを生体硫黄代謝の研究に利用せんとしまつ、乳汁中の硫黄定量に際してこれにメチオン或いはチステンを添加してその回収率を検した所、その回収率は僅かに75%にすぎなかつた。よつてこれを改良せん為実験を重ね、Smith<sup>20)</sup>の意見を採用して、遂に上述の如き好成绩を収める事ができたのである。

即ち、酸化完了の指示薬として重クロム酸カリを使用したはその理由は次の如くである。Bethge の原法によれば、試料の灰化は反応フラスコ内に過塩素酸の白煙が生ずる時をもつて酸化の完了としている。又 Smith は三価のクロムイオンの青緑色が酸化により重クロム酸イオンの橙色に変化するのを以つて酸化完了の指標とするようすすめている。私は、最初 Smith のすすめに従つた所、白煙出現時反応フラスコ内の液はまだ青緑色であり更に若干の間加熱を続けて後初めて内容が橙色に変わったのを見た。即ち、原法をもつても酸化は未だ完了してないと考えられる。そこで私は Smith の方法にない酸化触媒としてヴァナジン酸アンモンを添加使用したのである。Smith によれば、ヴァナジン酸アンモンの添加は反応時間を1/3以下に短縮し酸混合物に抵抗性を有する物質に対しても有効にこれを破壊する事が出来ると言う。

次に私は、酸混合物の配合比を硝酸 2、過塩素酸 3とした。原法ではこの比が逆になつてゐるが、

Smith は動物性蛋白質の酸化は過塩素酸を多く含ませた方が酸化時間が短いと述べているので之を引用したのである。

又原法では還元混合物の添加量を 7cc と規定しているが、私は酸混合物の遺残がある為この量では十分還元ができない事を知つたので、還元混合物の添加量を 10cc とした。又この混合物は新調後直ちに褐色のアンプルにいれ、窒素をみたして密封保存する事とした。若しこの還元が不十分な時は、還元混合物中のヨード水素酸が酸化せられてヨードを析出し、最後に行なわれるヨード滴定の値を著しく低下せしめる故、上記の増加処置は極めて重要な事と考えられる。

又一般に試料採取について、原法では測定に供される試料の量は最高 5g と指定されているが私の経験では 3g を超過すると成績が不正確になると思われた。酸混合物の量をこの儘にしておいて試料を増量すれば試料は炭化せられ遂には爆発する事がある。従つて試料を増加すれば酸混合物も増量せねばならず、ひいては臭化水素酸及び還元混合物をも亦増量せしめる必要が起つてくる。

又原法によれば試料が液体の際は、過酸化水素水を添加するようすすめているが、被検液量が 5cc 迄ならば添加の必要はなく且望ましくない。

次に私の成績による、各種乳汁中に含まれる総硫黄の量は、母乳平均 11.7 mg/dl、牛乳 30.4mg/dl 18%粉乳汁 31.8 mg/dl であった。これを従来の報告<sup>34)45)</sup>と(第7表)と比較すると、まず母乳では著しく低値を示す吉松、Jeans 及び Nelson の3者(平均 2.9 mg/dl)より著しく高く、Blazsó, Humpel 等及び Ujsághy の3者(平均 45 mg/dl)より低かつたが残りの8報告者はおおむね 8.8~17.4 mg/dl では私の成績に近かつた。

次に牛乳では私の結果は異常な低値を示す吉松の 10.2 mg/dl と異常な高値を示す Blazsó, Ujsághy の2者(平均 64 mg/dl)の報告の中間であり、其の他の報告者のそれぞれ 28.3~37.9 mg/dl とほぼ近かつた。

### 結 語

有機物中の総硫黄の定量には古来多数の方法が報ぜられている。しかもその成績には未だ満足すべきものがない。その際の最大の難点は灰化法の不十分な所にあつた。私は各種の灰化法を種々検討し Bethge の湿性灰化法を次の如く改良した。

第 7 表 各報告者による乳汁中総硫黄量

報 告 者	年 代	母 乳 mg/dl	牛 乳 mg/dl
吉 松	1926	1.4	10.2
Steffen	1931	8.8	30.5
Walsch u. Klepetar	1932		31.9
Blazsó	1938	48	48
Hummel & Macy	1939	27	
Iob	1939	10.4	29
Ujsághy	1941	50~60	50~60
Beath	1941	9.1	28.3
Jeana	1942	3.6	31
Macy & Lawrence	1945	14	33.9
Macy	1949	14 (5~30)	
Albanese	1951	17.4	28.3
Brock	1954		37.9
Spector	1956	14 (5~30)	30 (24~44)
Nelson	1959	3.5~3.7	30~32
著 者	1958	11.7	30.4(粉乳汁31.8)

- 1) 酸化触媒としてヴァナジン酸アンモンを添加し
- 2) 酸化完了の指示薬として重クロム酸カリを使用し、
- 3) 酸混合物の比を過塩素酸 3 硝酸 2 の割合とし
- 4) 還元混合物は新調後直ちにアンブルにいれ窒素をみたくて密封保存し、還元混合物の添加量を増量した。

上記の改良によつて添加硫黄の回収率を95.4%迄上げる事が出来、本法が乳汁、尿及び尿中総硫黄の定量法として十分使用すべきものである事を立証した。

## 文

- 1) Siven, V. O.: Arch. Physiol. 11, 308, 1901.
- 2) Blazsó, S.: Ann. Paediat. 152, 303, 1938~9.
- 3) Ujsághy, P.: Mschr. Kinderhk. 87, 108, 1941.
- 4) 吉川春寿: 臨床医化学 (実験篇), 311, 協同医書出版社, 昭30.
- 5) Benedict, S. R.: J. Biol. Chem. 6, 363, 1909.
- 6) Denis, W.: J. Biol. Chem. 8, 402, 1910.
- 7) Waelsch, H., und Klepetar, G.: Z. physiol. Chem. 211, 47, 1932.
- 8) Denis, W. and Reed, L.: J. Biol. Chem.

この方法によつて各種乳汁中の総硫黄量を測定した所、母乳、市販乳及び原乳濃度に稀釈した粉乳汁の総硫黄含有量はそれぞれ平均 11.7, 30.4 及び 31.8 mg/dl であつた。

本論文の要旨は昭和34年 4 月 6 日第62回日本小児科学会総会にて発表した。

稿を終るにあたり終始懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師浜本英次教授に深謝致しますと共に、本実験に有益なる御助言と多大の御援助を賜つた古谷旭前講師、馬場巽博士にお礼を申し上げます。

## 献

- 71, 191, 1926.
- 9) Lorant, S.: Biochem. Ztschr. 289, 425, 1937.
- 10) Folin, O.: J. Biol. Chem. 1, 131, 1905~6.
- 11) Neumann, A. und Meinertz, J.: Ztschr. physiol. Chem. 43, 37, 1904~5.
- 12) Pringsheim, H. H.: Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 4267, 1908.
- 13) Edlbacher, S.: Hoppe-Seyler-Thierfeldersche physiologisch und pathologisch-chemische Analyse, 9. Aufgabe, Berlin, 669, 1924.
- 14) 坂本秀策等: 化学の領域 (増刊号), 19, 167,



- 昭30.
- 15) 田中善正等：薬学雑誌, 75, 653, 昭30.
  - 16) Veérea, M.: *Microchim. Acta* 88, 1955.
  - 17) Hudy, J. A., et al.: *Anal. Chem.* 27, 802, 1955.
  - 18) Schöniger, W.: *Microchim. Acta* 74, 1954.
  - 19) Kuck, J. A., et al. *Microchim. Acta* 201, 1954.
  - 20) Pontet, M., et al.: *Chim. anal* 36, 98, 1954.
  - 21) Mikl, O. and Pech, J.: *Chem. Listy* 47, 904, 1953. 16~21に Chemical Abstract から引用.
  - 22) Masters, M.: *Biochem. J.* 33, 1313, 1939.
  - 23) ter Meulen: *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 41, 112, 1922. 22から引用.
  - 24) Lang, K.: *Biochem. Ztschr.* 213, 469, 1929.
  - 25) Morgulis, S. and Hemphill, H.: *J. Biol. Chem.* 96, 573, 1932.
  - 26) Stockholm, M. and Koch, F. C.: *J. Am. Chem. Soc.* 45, 1953, 1923.
  - 27) Lamette, L., Boinot, G. and Kahane, F.: *Compt. rend. soc. biol.* 96, 1211, 1927.
  - 28) Bethge, P. O.: *Anal. Chem.* 28, 119, 1956.
  - 29) Smith, G. F.: *Anal. Chim. Acta* 8, 397, 1953.
  - 30) Hawk, P. B., et al.: *Practical Physiological Chemistry*, 13th Ed., New York, 643, 1954.
  - 31) 藤井暢三：生化学実験法, 168, 南山堂, 昭11.
  - 32) 須藤憲三：医化学的微量測定法, 47, 南江堂, 昭6.
  - 33) 高津忠夫：小児疾患の臨床検査, 109, 医学書院, 昭34.
  - 34) Yoshimatsu, S.: *Tohoku J. Exp. Med.* 7, 533, 1926.
  - 35) Steffen, F., et al.: *Schweiz. med. Wchnschr.* 61, 1114, 1931.
  - 36) Hummel, F. C. and Macy, I. G.: *Am. J. Dis. Child.* 58, 753, 1939.
  - 37) Iob, V. and Swanson, W. W.: *Am. J. Dis. Child.* 58, 37, 1939.
  - 38) Beath, E. F., et al.: *J. Pediat.* 19, 190, 1941.
  - 39) Jeans, P. S.: *J. amar. med. Assoc.* 120, 913, 1942.
  - 40) Nelson, W. E.: *Textbook of Pediatrics*, 7th Ed. London, 121, 1959.
  - 41) Macy, I. G. and Lawrence J. M., et al.: *Am. J. Dis. Child.* 70, 135, 1945.
  - 42) Macy, I. G.: *Am. J. Dis. Child.* 78, 589, 1949.
  - 43) Albanese, A. A.: *Pediatrics* 8, 455, 1951.
  - 44) Brock, J.: *Biologische Daten für den Kinderarzt*, 2. Aufgabe, Berlin, Göttingen, Heidelberg, Bd. 1, S. 447, 1954.
  - 45) Spector: *Handbook of Biological Data*, 1956. 中山健太郎：新しい乳幼児栄養の実際, 127, 医学書院, 昭33から引用.

## Studies on the Sulfur Metabolism in Infants

## Part I. Some Suggestion for the Quantative Analysis of Total Sulfur in Milk, Faces and Urine and the Total Sulfur Contents in Various Milk

By

Gibun Hamada

Department of Pediatrics Okayama University Medical School  
(Director: Prof. Eiji Hamamoto)

There are numerous articles concerning the estimation of total sulfur in organic substances and yet the results obtained hitherto are not by any means quite satisfactory. The greatest difficulty encountered in the estimation of sulfur seems to lie in the insufficient ashing of the substance. Therefore, the author studied various ashing methods and finally modified Bethge's wet ashing in the following manner:

1. Ammoniated vanadium ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) is added as an oxidizing catalyst.
2. As an indicator of the complete oxidation potassium chromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) is used.
3. The ratio of acid mixture is set in the proportion of three parts perchloric acid to two parts nitric acid.
4. The reduction mixture is placed into an ampule filled with nitrogen immediately after it is prepared and is sealed tightly, and the quantity of the mixture to be added is increased.

By the modified method mentioned above it has been possible to raise the recovery rate of sulfur added as much as 95.4 per cent, proving that this method is sufficiently useful for the estimation of the total sulfur in milk, urine and faces.

In the estimations of total sulfur of various milk such as breast milk, milk on the market and 18% solution of regulated powdered milk the average contents of total sulfur have been found to be 11.7 mg and 31.8 mg per dl respectively.

---