612. 466. 64

インヂカン定量に関する実験的研究

第　二　編

尿インヂカン定量に関する実験的研究

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木　潔教授）

副手　進　東　　勉

〔昭和31年3月15日受稿〕

内　容　目　次

第一章　緒　　言
第二章　基礎実験並びに成績
　第一項　Tiの固有色を対象とする濃度測定方法
　第二項　Tiの対発烟塩酸呈色反応を対象とする濃度測定方法
第三章　実験方法の概要
　第一項　被検尿
　第二項　定量法
　　A　定量術式
　　(1)　第1定量術式
　　(2)　第2定量術式
　　(3)　第3定量術式
　　B　脱水「ク」浸中のTiの定量原理
　　(1)　第1定量原理
　　(2)　第2定量原理
　　C　測定方法
　　(1)　Stufenphotometrie
　　(2)　比色測定法
　　D　定量値算出方法
　第三項　V　量
　第四項　「ク」浸層の容量
　第五項　洗液分離量
第四章　実験並びに実験成績
　実験1　定量値に及ぼす反応時間の影響並びに術式，原理，測定方法による定量値誤差に就いて
　　実験方法
　　実験成績
　実験2　遠藤氏規準液の評価に就いて
　　実験方法
　　実験成績
　実験3　各種酸化剤の評価に就いて
　　実験方法
　　実験成績
　実験4　被検尿中醋酸並びに三塩化醋酸濃度の定量値に及ぼす影響に就いて
　　A　原理(1)によるTi値比較実験
　　実験方法
　　実験成績
　　B　原理(1)及び原理(2)によるTi値比較実験
　　実験方法
　　実験成績
　実験5　三塩化醋酸含有尿に於ける定量値とクロヽフォルム浸水洗の影響に就いて
　　実験方法
　　実験成績
　実験6　尿清澄剤使用による定量値低下に就いて
　　実験方法
　　実験成績
　実験7　インヂカン微量定量法の創案並びに正常尿インヂカン値に就いて
　　1　私が創案したインヂカン微量定量法
　　2　正常尿インヂカン値

第五章 総括並びに考按
1 定量値に及ぼす反応時間の影響及び三種定量術式の評価に就いて
2 遠藤氏規準液の評価に就いて
3 各種酸化剤の評価に就いて
4 醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於ける定量値変動に就いて
5 尿清澄剤による定量値低下に就いて
6 原理(1)及び原理(2)に於ける定量値間の誤差に就いて
7 正常尿インヂカン値より見たる各種インヂカン定量法の評価に就いて
第六章 結 論
文 献

第一章 緒 言

Jaffé[1]による最初の尿インヂカン定量法の発見以来, Salkowski[2], Obermayer[3], Wang[4)5)], Bouma[6], Ellinger[7], Imabuchi[8], Strauss[9], Maillard[10], Oerum[11], Autenriet-Funk[12], Stanford[13], Fischer-Huppmann[14], Jolles[15], Heilmeyer[16], Baar[17], Eick[18], Broeckmeyer[19], 竹内[20], 遠藤[21], 石神[22], 上田[23], 公文[24)25)], Sharlit[26], Zacherl[27], Rose-Exton[28], Böhm-Grüner[29], Schlierbach[30], Eucker[31], Böhm[32]等により, 各種の定量原理, 定量術式及び測定方法に基いて実験的正確度に於いては満足するに足る多数の尿インヂカン定量法が創案されている. 然し乍ら此等の定量法中, 従来最も適用されたる代表的定量法によつて測定し報告された正常尿インヂカン値に関する諸家業績を集録するに, 第1表の如く其の成績には実に甚だしい相違がある事が指摘される. 各種尿インヂカン定量法の実験的正確度と実測値との間に見られる此の著しい矛盾の諸原因を究明し以つて正確なる尿インヂカンの正常値を決定する事はインヂカンの生化学的並びに臨床的意義の真相

第1表 諸家の測定せる正常尿インヂカン値

測定者	濃度, mg%	1日排泄量, mg	定量法	定量原理
Jaffé [1]	/	4.5～19.5	Jaffé, gravimet.	Indigo
Wang [33]	/	4.3～ 5.3	Wang, titr.	
Jolles [15]	/	8.4～18.6	Ellinger, titr.	
Jolles [15]	/	8.1～19.4	Imabuchi, titr.	
Strauss [9]	/	2.0～ 4.0	Obermayer, color.	
永山 [34]	/	1.3～26.0	Obermayer. color.	
竹内 [20]	/	3.0～27.0	竹内, color.	
須藤 [35]	/	痕跡～22.0	竹内, color.	
Böhm u. Grüner [29]	0.46～5.0	/	Zacherl, stufenphot.	
Maillard [36]	/	0.9～37.6	Maillard, titr.	Indigorot
Oerum [11]	0.93～1.43	/	Bouma, color.	
Jolles [15]	2.0	9.5～21.0	Jolles, color.	Thymolindogenid
Heilmeyer [16]	/	10.0～26.0	Jolles, spectralphot.	
上田 [23]	/	4.0～20.0	上田, 限界反応	
井上 [38]	1.3 ～4.3	13.7～27.2	上田, 限界反応	
Olivet [37]	/	1.0～40.0	Jolles, color.	
Schlierbach [30]	/	従来の成績の2倍～3倍	Schlierbach, spectrophot.	
Sharlit [26]	/	39.0～148.0	Sharlit, color.	
Böhm u. Grüner [29]	3.46～13.4	/	Böhm u. Grüner, stufenphot.	Hexylresorcinol-indogenid

を把握する上に最も重要なる意義を有する点に注目せる私は，Jolles's 反応[39][15]及び Jolles・竹内・反応[40]の呈色本態を明らかにする事に成功したるに端を発し，此の両反応を中心に，尿インヂカン定量史上，常に論争の焦点となつた定量値の増強又は低下の諸原因に関する諸家業績を系統的に究明し，以つて尿インヂカンの絶対量を正確に定量し得る微量定量法を創案すべく企図したのであるが，略々其の目的を達し得たるを以つて成績の大要を報告せんとす．

第二章　基礎実験並びに成績

クロヽフォルム溶液（以下「ク」溶液と略す）に於ける Thymolindogenid（Ti と略す）の濃度測定方法に就いて検索し，Stufenphotometrie 及び比色法による検量曲線及び定型的 Farbkurve を測定した．前者では Pulfrich's Stufenphotometer を使用して 10mm 液層で透過率（D％）を，後者では Hellig's Keil を使用して製出 Ti の 5mg％「ク」溶液及び 0.5mg％青藍等価遠藤氏規準液を規準液として読み（mm）を測定した．

Ti は私が製出し又は合成した赤色プリズム晶を使用し，尚お Ti の対発烟塩酸呈色反応を検索するに際しては１滴が夫々 0.005cc 及び 0.01cc に相当する毛細管ピペットを作つて発烟塩酸及び無水アルコールの所要量を測定した．

第一項　Ti の固有色を対象とする濃度測定方法

Ti の「ク」溶液に於ける固有の色調は赤褐色乃至赤橙色で，密閉遮光して保存する時は其の色調は２ケ月後に於いても不変であり，其の定型的 Ftarbkurve は第１図の如し．

種々なる既知濃度の Ti「ク」溶液に就いて S 47及び S 50を使用して測定した透過率は第２表，吸光度曲線は第３図の如く，Lambert-Beer の法則に従い Ti の濃度 C（mg％）は次式で算出される．

1　S 47 を使用する場合

$$C = E \times 6.38 \quad (\text{製出 Ti})$$

$$C = E \times 6.84 \quad (\text{合成 Ti})$$

2　S 50 を使用する場合

$$C = E \times 6.78 \quad (\text{製出 Ti})$$

$$C = E \times 7.46 \quad (\text{合成 Ti})$$

種々なる既知濃度の製出 Ti の「ク」溶液に就いて測定した比色検量曲線は第５図の如し．

第二項　Ti の対発烟塩酸呈色反応を対象とする濃度測定方法

遠藤氏法[21]に於ける脱水クロヽフォルム浸（以下脱水「ク」浸と略す）の呈色条件を Ti「ク」溶液に就いて Stufenphotometrie により追試したるに，5mg％及び 2.5mg％ Ti「ク」溶液 2cc をして測定に適する均一透明且つ最強の紫青色着色状態とするには，発烟塩酸１滴（0.01cc）及び溷濁除去に要する無水アルコールの最小必需量は 20 滴（0.1cc）を要し．其の色調は調製後５分間以内は不変なるも，以後徐々に褪色する事を知つた．更に人尿に遠藤氏法を適用して得られる脱水「ク」浸 2cc に就いて敍上の呈色条件を検したるに，発烟塩酸１滴（0.01cc）に対し無水アルコール26～28滴（0.13～0.14cc）を要し且つ紫色色調の時間的褪色の事実を認めた．

然して人尿に適用されるべき呈色条件（発烟塩酸１滴，無水アルコール28滴）に於ける Ti「ク」溶液の紫青色色調は，其の色調が最強を示す呈色条件（発烟塩酸１滴，無水アルコール20滴）に比し其の色調濃度に於いて約４％の減少を見るも，極めて鮮明且つ濃厚で測定に適し其の定型的 Farbkurve は第２図の如し．

種々なる既知濃度の Ti「ク」溶液 2cc に就いて，発烟塩酸１滴及び無水アルコール28滴なる呈色条件で，調製後直ちに S 57及び S 53 を使用して測定した透過率は第２表，吸光度曲線は第４図の如く，Lambert-Beer の法則に従い Ti の濃度 C（mg％）は次式で算出される．

1　S 57 を使用する場合

$$C = E \times 2.48 \quad (\text{製出 Ti})$$

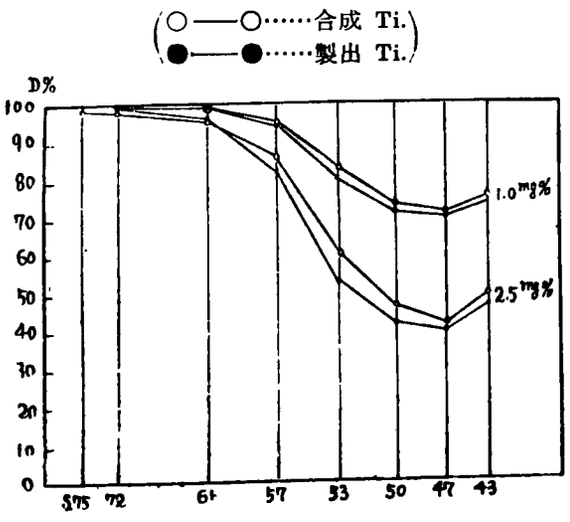
$$C = E \times 2.36 \quad (\text{合成 Ti})$$

2　S 53 を使用する場合

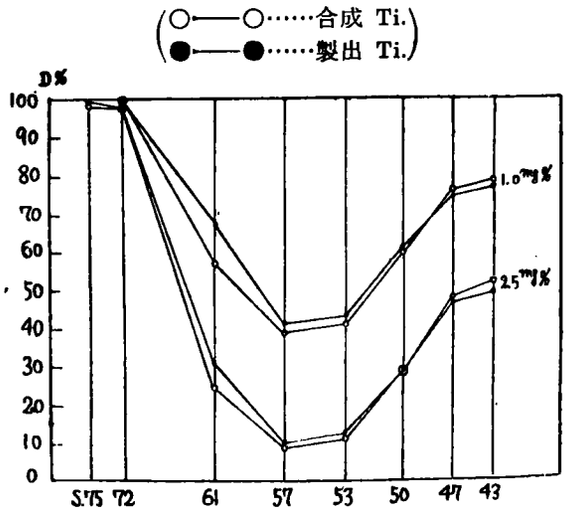
第2表 透過率測定成績 (製出=製出 Ti. 合成=合成 Ti.)

Ti. 濃度 (mg%)	透過率 (D%, 10mm 液層) 原理 1 S. 47 製出	原理 1 S. 47 合成	原理 1 S. 50 製出	原理 1 S. 50 合成	原理 2 S. 57 製出	原理 2 S. 57 合成	原理 2 S. 53 製出	原理 2 S. 53 合成
5.0	16.8	19.4	19.0	21.5	1.1	0.9	1.6	1.5
4.5	20.5	22.5	22.0	25.0	1.7	1.3	2.2	2.1
4.0	24.5	26.5	26.2	29.5	2.6	2.2	3.5	3.4
3.5	29.0	31.0	30.5	34.0	4.2	3.6	5.8	5.5
3.0	34.8	36.0	36.0	40.0	6.0	5.5	8.2	7.8
2.5	40.0	43.0	42.0	46.0	10.0	8.8	12.0	11.0
2.25	44.0	45.5	46.5	48.5	12.3	10.6	14.5	13.5
2.0	48.0	50.5	50.2	53.5	16.0	13.8	18.0	17.5
1.75	53.5	55.0	55.0	57.3	19.3	18.0	21.8	20.4
1.5	58.0	60.4	60.0	63.0	24.5	23.0	27.0	26.5
1.25	63.2	66.0	65.0	68.5	30.0	29.0	32.0	31.0
1.0	69.5	70.5	71.0	73.0	39.0	37.6	42.0	41.2
0.75	76.5	78.0	77.5	80.0	49.5	48.0	52.5	51.5
0.5	83.0	85.0	84.5	86.0	61.5	60.5	63.5	63.0
0.25	91.0	93.0	92.5	93.0	79.0	80.0	80.5	81.0
0.125	95.0	96.0	96.0	96.5	88.5	90.0	89.0	91.0
0.05	98.0～100	98.0	98.0	98.0	96.0	97.0	97.0	96.0
0.025	98.0～100	100	98.0～100	98.0～100	98.0	98.0	98.0	98.0
対照	98.0～100	100	98.0～100	99.0～100	98.0～100	99.0～100	100	100

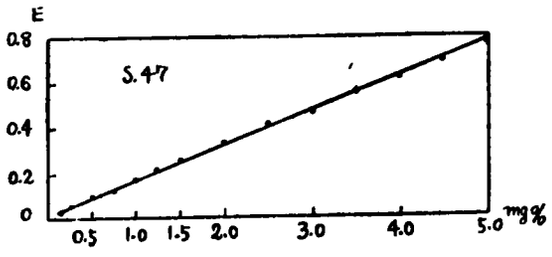
第1図 Ti.「ク」溶液の定型的 Farbkurve (原理 (1))



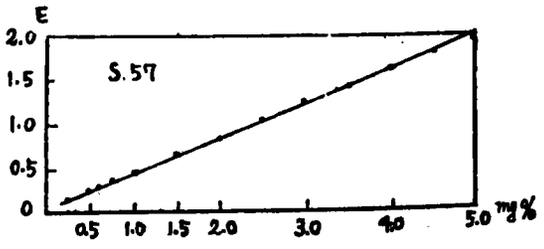
第2図 Ti.「ク」溶液の定型的 Farbkurve (原理 (2))



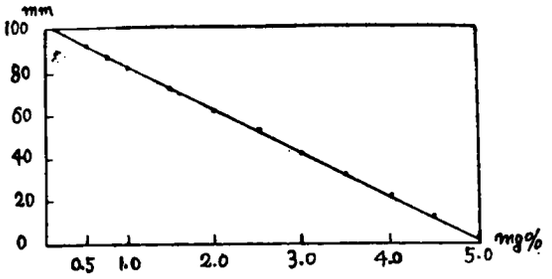
第3図 吸光度曲線 (原理 (1))



第4図 吸光度曲線 (原理 (2))



第5図　比色検量曲線（規準液＝5mg％ Ti.「ク」溶液）



$C = E \times 2.71$（製出 Ti）

$C = E \times 2.60$（合成 Ti）

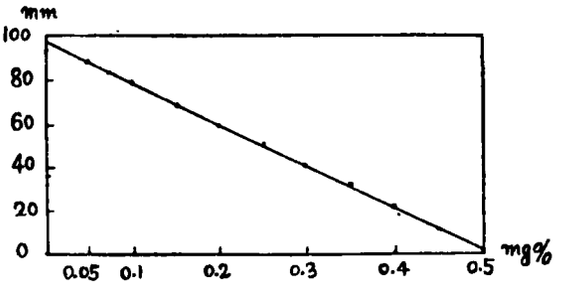
種々なる既知濃度の遠藤氏規準液に就いて測定した比色検量曲線は第6図の如し.

第三章　実験方法の概要

第一項　被検尿

インドール負荷家兎24時間尿及び健康人尿

第6図　比色検量曲線（規準液＝0.5mg％ 青藍等価遠藤氏液）



を使用した. 前者ではインドール 20～40 mg を純胡麻油 4cc に溶解して成熟家兎背部皮下に注射し其の24時間尿を飼料及び糞塊の混入せざる様に注意して蓄尿した. 実験に使用した被検尿は第3表の如し.

第二項　定量法

A　定量術式

Jolles 氏法[15] 及び遠藤氏法[21] の原理及び

第3表　被　検　尿

実験番号	被検尿 番号	種類	総量 cc	色調	性	比重	家兎 性	体重 kg	インドール負荷量 mg
1	No. 1	インドール負荷家兎24時間尿	309	淡黄褐	A	1.017	♀	2.36	40
3	No. 2	健康人早朝尿	224	〃	S	1.024	／	／	／
4 A	No. 3	インドール負荷家兎24時間尿	225	〃	A	1.017	♀	2.65	40
4 B	No. 4	健康人24時間尿	2230	淡黄	S	1.014	／	／	／
5	No. 5	インドール負荷家兎24時間尿	276	黄褐	A	1.015	♂	2.40	40
6	No. 6	健康人24時間尿	1520	淡黄	S	1.017	／	／	／
	No. 7	健康人24時間尿	2030	〃	S	1.014	／	／	／
7		健康人24時間尿							

術式を比較検討し, 次の三種の定量術式を試案して, 尿インヂカンを Ti に誘導した後, 之れを Ti の固有色（赤褐色）として抽出した脱水「ク」浸を作つた.

(1)　第1定量術式（術式(1)と略す）

遠藤氏法に於ける異常なるクロヽフォルムの注加順序を正規化し且つ反応時間を2時間に改め, 次の如く実施した.

濾尿 1ccを試験管に採り, 醋酸2滴, 水4ccを加えて5倍稀釈となし, 5％チモールアルコール 0.5cc, 竹内氏試薬 0.2cc を加えて軽振盪し, 発烟塩酸 5cc を注加して室温に2時間反応せしめたる後, クロヽフォルム 3cc を加えて管口を密栓し, 上下に50回強振盪して色素を抽出す. 試験管を静置して「ク」浸を完全に分離せしめ（第1回抽出), 母液を吸引除去して他の試験管に移し第2回色素抽出を行う. 「ク」浸は水 5cc で2回水洗したる後, n/50 次亜硫酸ソーダ液をビウレットから滴下しつつ, 1％澱粉液2滴を加えて強振盪し, 「ク」浸中の沃度を完全に中和す　次亜硫酸ソーダ液を吸引除去した後, 更に水 3cc で4回反覆して「ク」浸を水洗し, 最終回洗液を可及的完全に吸引除去したる後, 無水硫酸ソーダ2g を投じて「ク」浸を脱水す. 赤褐色透明な

脱水「ク」浸を 10cc 有栓メスチリンデルに移し，管内に残留する色素は更に少量のクロヽフォルムを加えて全部之れを抽出し，全脱水「ク」浸を合して一定量（6～8 cc）とす.

(2) 第2定量術式（術式(2)と略す).

術式(1)と異なる点は，クロヽフォルムの注加順序にして遠藤氏法に準拠せり．即ちクロヽフォルムは予め発烟塩酸注加前に入れる事とした.

(3) 第3定量術式（術式(3)と略す).

術式(1)と異なる点な酸化剤にして，Jolles 氏法に準拠して次の如く実施した.

濾尿 1cc に醋酸2滴，水 4cc を加えて5倍稀釈となし，5％チモールアルコール 0.5ccを加えて軽振盪し，0.5％ Obermayer's 試薬 5cc を加えて室温に2時間反応せしめたる後，術式(1)に準じて色素の第1回及び第2回抽出を行う．母液と完全に分離せしめた「ク」浸は水 5cc で2回水洗したる後，更に水 3cc で4回水洗し，以後術式(1)と同様にして赤褐色透明なる脱水「ク」浸を合して一定量（6～8 cc）とした.

B 脱水「ク」浸中の Ti の定量原理

基礎実験成績に基いて次の二つの定量原理を同時に採用した.

(1) 第1定量原理（原理 (1) と略す）

Ti の固有色（赤褐色）を対象とする方法であり，脱水「ク」浸の赤褐色色調を其の儘，Ti の固有色と見なして定量した.

(2) 第2定量原理（原理 (2) と略す).

Ti の対発烟塩酸呈色反応（紫青色）を対象とする方法で，脱水「ク」浸 2cc に発烟塩酸1滴（0.01 cc）及び無水アルコール26～28滴（0.13～0.14 cc）を加えて混液をして均一透明且つ最強の紫青色となした直後の色調を対象として定量した.

C 測定方法

(1) Stufenphotometrie

Pulfrich's Stufenphotometer を使用し，10mm 液層で原理(1)にはS 47を，原理(2)にはS 57を適用して透過率（D％）を測定すると共に必要に応じて Farbkurve を測定した.

(2) 比色測定法

Hellig's Keil を使用し原理(1)には製出 Ti の 5mg％「ク」溶液を，原理(2)には 0.5 mg％青藍等価遠藤氏規準液を使用して読み（mm）を測定した.

D 定量値算出方法

実験成績に於ける尿インヂカン値（mg％）は凡て Ti 値（製出 Ti mg％）として算出した.

透過率（D％）及び読み（mm）からする Ti値は何れも基礎実験成績に於ける検量曲線を利用した，

(1) $C_8H_6NO_4SK + H_2O \rightarrow C_8H_7NO + KHSO_4$
Indikan　　Indoxyl

(2) $C_8H_7NO + C_{10}H_{14}O + O_2 \rightarrow C_{18}H_{17}NO_2 + 2H_2O$
Indoxyl　Thymol　　Thymolindogenid

(3) $C_8H_7NO + C_8H_7NO + O_2 \rightarrow C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2H_2O$
Indoxyl　Indoxyl　　Indigo

以上の反応式から下式が成立する.

(1) インヂカン値＝ Ti値×0.9

(2) Ti 値＝青藍値×2.13

第三項 V量

V量とは，理論上赤褐色であるべき脱水「ク」浸中に混色として出現する紫色色調の濃度の意味であり，便宜上私は之を Ti 濃度（mg％）として表現した．即ちV量の測定は脱水「ク」浸の原理(1)にS 57を適用して透過率を測定し，此の透過率に相当する Ti 濃度を原理(2)，S 57に適用されるべき検量曲線から算出した.

第四項 「ク」浸層の容量

第1回色素抽出時，母液と完全に分離沈降せしめたる「ク」浸層の容量にして，其の測定は予め「ク」浸層の高さを測定して置き，実験終了後，内容を清洗乾燥せる同一試験管に，測定したる「ク」浸層の高さに相当する水量をビウレットから注下して測定した.

第五項 洗液分離量

「ク」浸の第1回及び第2回水洗液を可及的完全に吸引して其の容量を測定した.

第四章　実験並びに実験成績

実験 1. 定量値に及ぼす反応時間の影響並びに術式，原理，測定方法による定量値誤差に就いて

実　験　方　法

被検尿 No. 1 を使用し，術式(1)，術式(2)，術式(3)に於ける反応時間 2 時間を夫々次の如く短縮した．即ち第 1 回色素抽出を発煙塩酸注加後，直ちに（直後）又は 5 分，10分，30分，60分及び 120 分後に実施した．実験例は各反応時間に就き 2 例宛とし，其の半数例に於いて第 2 回色素抽出を行い，脱水「ク」浸の総量は 7cc（第 1 回抽出時）及び 4cc（第 2 回抽出時）とし，原理(1)及び原理(2)に基いて Stufenphotometrie 及び比色法によりインヂカン値を測定すると共に，原理(1)及び原理(2)に於ける Farbkurve を測定した．

実　験　成　績

成績は第 4 表，第 7 図，第 8 図，第 9 図に示す如し．

(1) 定量値と反応時間の関係

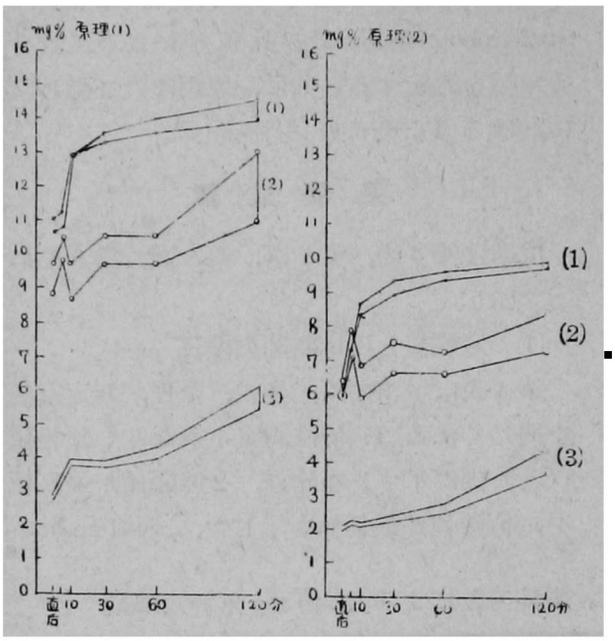
第 4 表に示す如く，術式，原理，測定方法を同じくする Ti 値は測定不適なりし比色値（(　) 内に示す）を除き，2 時間値が最高値を，直後値が最低値を示した．Stufenphoto-

第 4 表　種々なる反応時間，術式，原理，測定方法による Ti. 値 mg %測定成績

定量術式	反応時間(分)	試験番号	第一回抽出 脱水「ク」浸色調	第一回抽出 Stufenphot. 原理(1)(S. 47)	第一回抽出 Stufenphot. 原理(2)(S. 57)	第一回抽出 比色法 原理(1)(製出色素規準液)	第一回抽出 比色法 原理(2)(遠藤氏規準液)	第二回抽出 Stufenphot. 原理(1)(S. 47)	第二回抽出 Stufenphot. 原理(2)(S. 57)
1	直後	No. 1	赤褐紫	10.74	5.99	比色不能	1.72	0.70	0.38
		2	〃	11.11	5.99	〃	1.73	/	/
	5	3	〃	10.92	7.32	〃	1.88	1.05	0.40
		4	〃	11.29	7.31	〃	2.00	/	/
	10	5	赤褐微紫	12.97	8.70	(15.93～14.38)	2.20	0.95	0.38
		6	〃	12.95	8.44	(15.12～13.58)	2.47	/	/
	30	7	赤褐	13.68	9.06	16.09～15.01	2.75	0.90	0.28
		8	〃	13.48	9.41	15.30～14.60	2.63	/	/
	60	9	〃	13.65	9.41	15.63～14.91	2.71	0.75	0.25
		10	〃	14.09	9.67	16.03～15.65	2.76	/	/
	120	11	〃	14.88	9.80	16.73～16.38	2.84	0.75	0.20
		12	〃	14.09	9.98	16.38～16.03	2.80	/	/
2	直後	No. 1	赤褐紫	9.80	6.34	比色不能	1.54	0.95	0.33
		2	〃	8.93	5.99	〃	1.43	/	/
	5	3	〃	9.98	7.13	〃	1.96	0.95	0.30
		4	〃	10.59	7.92	〃	2.27	/	/
	10	5	〃	9.80	6.87	〃	1.85	1.00	0.28
		6	〃	8.79	5.90	〃	1.57	/	/
	30	7	〃	9.80	6.69	〃	1.77	0.85	0.20
		8	〃	10.53	7.52	〃	1.98	/	/
	60	9	赤褐微紫	9.98	6.96	(12.60～10.89)	1.96	0.80	0.20
		10	〃	10.56	7.22	10.69～10.33	2.03	/	/
	120	11	赤褐	11.11	7.39	11.90～11.55	2.24	0.80	0.25
		12	〃	13.13	8.44	14.91～14.21	2.55	/	/
3	直後	No. 1	淡青	2.89	1.93	比色不能	0.39	0.65	0.20
		2	〃	2.80	2.10	〃	0.34	/	/
	5	3	淡紫青	3.55	2.17	〃	0.39	0.50	0.18
		4	〃	3.59	2.19	〃	0.51	/	/
	10	5	〃	3.82	2.13	〃	0.51	0.70	0.20
		6	淡紫褐	3.94	2.14	〃	0.59	/	/
	30	7	淡黄褐	3.76	2.23	(4.13～3.50)	0.59	0.50	0.15
		8	〃	3.94	2.36	(4.76～3.19)	0.51	/	/
	60	9	淡赤褐	4.05	2.52	3.74～3.60	0.69	0.70	0.18
		10	〃	4.38	2.76	3.96～3.64	0.79	/	/
	120	11	〃	5.58	3.69	5.87～5.54	1.02	0.75	0.20
		12	〃	6.21	4.46	7.07～6.93	1.34	/	/

第7図　定量値上昇曲線

(( ) 内の数字は術式の種類を示す)



第5表　平均2時間値百分比（%）

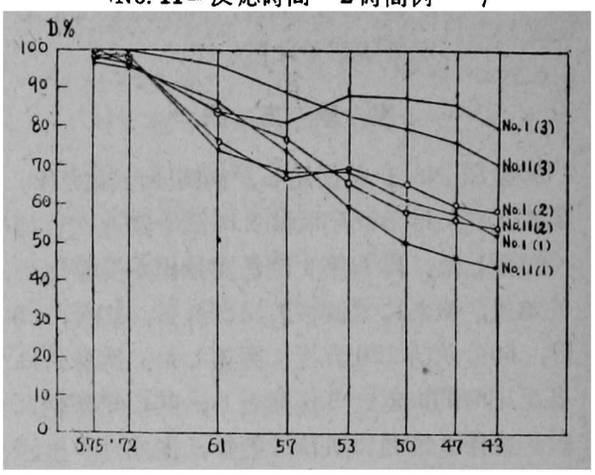
表番号	定量術式	第一回抽出 Stufenphot. 原理(I) S. 47	原理(2) S. 57	比色法 原理(1) 製出色素規準液	原理(2) 遠藤氏規準液
No. 1	1	100.0	100.0	100.0～100.0	100.0
	2	83.6	80.1	81.0～ 79.5	85.1
	3	40.7	41.3	39.1～ 38.5	41.8
No. 2	1	100.0	68.3	114.3～111.9	19.5
	2	100.0	65.3	110.6～106.3	19.8
	3	100.0	69.2	109.7～105.8	20.0
No. 3	1	146.5	100.0	167.4～163.9	28.5
	2	153.0	100.0	169.3～162.6	30.3
	3	144.0	100.0	158.6～152.6	28.9

metrie による Ti 値（Stufo. 値と略す）に就いて見るに術式(1)，術式(2)，術式(3)の2時間値は夫々平均14.49mg%，12.12mg%，5.90mg%（以上原理(1)）又は9.89mg%，7.92mg%，4.08mg%（以上原理(2)）であり，原理，測定方法を同じくする2時間値は術式(1)に於いて全成績中の最高値を示した．

第7図に示す如く，反応時間の延長に伴うTi値上昇曲線は術式に夫々特有であり，術式(3)では極めて徐々に，術式(2)では不規則に，術式(1)では反応時間10分迄は急昇するが30分以後は極めて徐々に上昇し2時間で最高に達す．

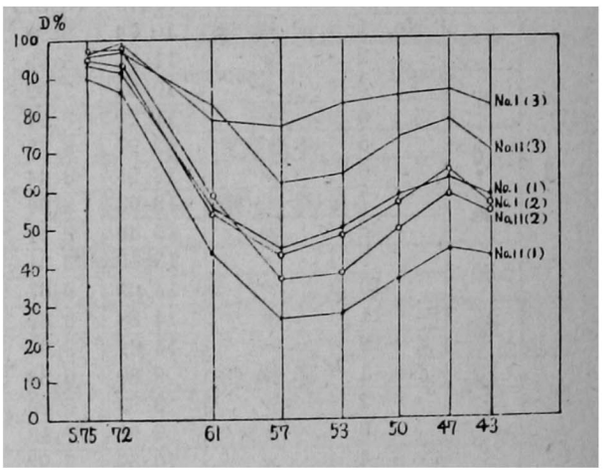
第8図　Farbkurve（原理(1)）

(( ) 内数字は術式の種類を示す．
No. 1＝反応時間　直後例
No. 11＝反応時間　2時間例)



第9図　Farbkurve（原理(2)）

(( ) 内数字は術式の種類を示す．
No. 1＝反応時間　直後例
No. 11＝反応時間　2時間例)



反応時間の短縮に伴うTi値低下率をStufo. 値に就いて求めると，最高値を示す2時間値と1時間値との誤差は，後者に於いて夫々平均 −4.3～−3.5%（術式(1)），−15.3～−10.2%（術式(2)），−35.3～−28.5%（術式(3)）となり，術式(1)に於いて最小で術式(3)に於いて最大であり又原理(1)による Ti 値低下率が原理(2)に比して大である．

(2)　定量値と術式の関係

第4表に示す如く，反応時間，原理，測定方法を夫々同じくする Ti 値は，術式(1)に於いて最高値を，術式(3)に於いて最低値を示す．

術式(1)の2時間値に対する術式2及び術式(3)の2時間値の百分比を求めると第5表No.1に示す如く夫々平均 79.5～81.5％（術式(2)）及び 38.5～41.8％（術式(3)）となり，術式(2)及び術式(3)による Ti 値低下率は夫々－20.5～－18.5％及び－61.5～－58.2％となる．

(3) 定量値と原理との関係

第4表に示す如く，術式，反応時間，測定方法を同じくする Ti 値は原理(1)に比し原理(2)に於いて常に低値を示す．術式(1)，術式(2)，術式(3)の2時間値に就いて原理(1)又は原理(2)による Stufo・値に対する其の他の Ti 値の百分比を求めると第5表 No. 2 及び No. 3 の成績となり，原理(2)の Stufo・値は原理(1)の Stufo・値の 65.3 ～69.2％に過ぎず，原理(2)に於ける Ti 値低下率は－34.7～－30.8％となる．

(4) 定量値と測定方法の関係

Stufo. 値に対する比色値の百分比を第5表 No. 2 及び No. 3 の成績から術式(1)，術式(2)，術式(3)の2時間値に就いて求めると 105.8 ～114.3％（原理(1)）及び 28.5～30.3％（原理(2)）となり，原理(1)では比色値は Stufo. 値に比し平均約10％の高値を示すに過ぎないが，原理(2)では比色値は著しい低値を示し，其の低下率は－71.5～－69.7％に達する事となる．

(5) Farbkurve

各術式に於ける代表例（実験番号 No. 1 及び No. 11）の原理(1)及び原理(2)に於ける Farbkurve は第8図，第9図に見る如く，原理(1)に於ける No. 1 が最も不定型的で S 57 附近で著明に吸光す．各術式共，原理(1)に於ける No. 11 は Ti の定型的 Farbkurve に近似するが，S 43で最もよく吸光す．原理(2)に於ける Farbkurve は何れも Ti の対発烟塩酸呈色反応に於ける定型的曲線に近似する．

(6)脱水「ク」浸の色調

第4表に示す如く，脱水「ク」浸の色調は反応時間及び術式を異にする事により著しい変化があり，理論上赤褐色となるべき脱水「ク」浸の色調は反応時間を10分以内に短縮すると，反応時間の短縮に伴い青色乃至紫色色調が混色として濃厚に出現し，各術式とも原理(1)による比色は遂に不可能となる．就中術式(2)では反応時間を1時間とするも尚お紫色色調が出現するが術式(1)及び術式(3)では反応時間1時間以上では脱水「ク」浸の色調は何れも Ti の固有色に類似の色調となる．

実験 2. 遠藤氏規準液の評価に就いて

実 験 方 法

種々なる既知濃度度の遠藤氏規準液[21]に就いて 10mm 液層で定型的 Farbkurve 及び比吸光係数を測定し，其の成績を Ti「ク」溶液の原理(2)による定型的 Farbkurve 及び比吸光係数と比較して遠藤氏規準液の色調及び力価を検定した．

実 験 成 績

成績は第10図，第6表，第11図の如し．

(1) 定型的 Farbkurve

第10図に示す如く，遠藤氏規準液並びに Ti「ク」溶液の原理(2)に於ける色調の定型的 Farbkurve は相互に甚だ近似する．但し前者は S 53で，後者は S 57で最もよく吸光する点が稍々異なる．

(2) 比吸光係数

第6表の透過率測定成績から遠藤氏規準液の吸光度曲線を求めると第11図に示す如く，遠藤氏規準液の濃度 C（mmg ％青藍）は Lambert-Beer の法則に従い次式で算出される．

$$C = E \times 0.34 \ (S\,53)$$

$$C = E \times 0.36 \ (S\,57)$$

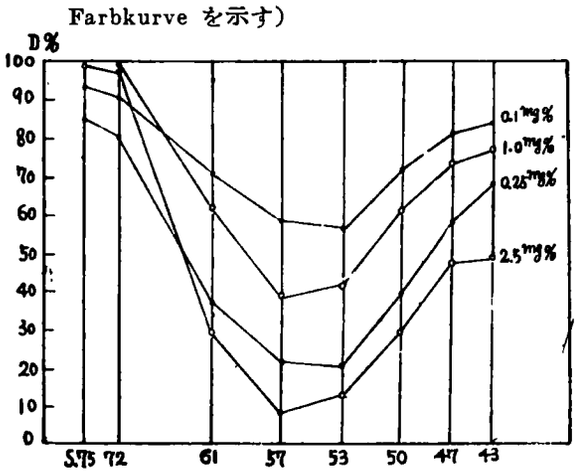
即ち遠藤氏規準液の比吸光係数は青藍濃度に於いては0.34（S 53）及び0.36（S 57）となる故に，之れに2.13を乗じて Ti 濃度に換算すると，其の比吸光係数は夫々 0.724（S 53）及び 0.776（S 57）となり，之れを Ti「ク」溶液の原理(2)に於ける比吸光係数（第2章，第2項参照）に対比すると S 53では 1：3.73（製出 Ti）及び 1：3.57（合成 Ti），S 57 で

は 1：3.19（製出 Ti）及び 1：3.08（合成 Ti）となり前者は後者の約 1/3（S 53）及び 1/3.6（S 57）となる.

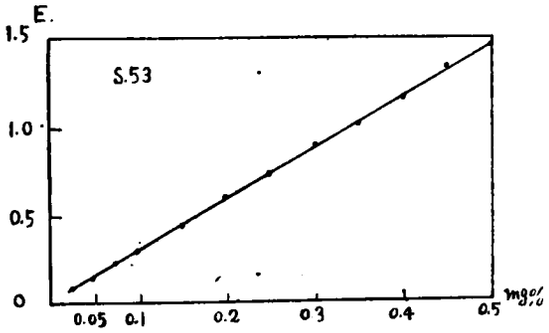
第 6 表 透過率測定成績（遠藤氏規準液）

濃度 mg% Indigo	透過率 D% S. 57	透過率 D% S. 53
0.5	4.3	3.2
0.45	5.8	4.8
0.4	8.0	7.2
0.35	10.8	9.3
0.3	14.0	12.5
0.25	20.0	18.0
0.2	27.5	26.0
0.15	38.0	36.0
0.1	51.0	49.5
0.075	61.5	59.0
0.05	72.5	70.0
0.025	85.0	83.0
0.0125	92.0	90.0
0.005	97.0	96.0
対照	100.0	100.0

第10図 遠藤氏規準液の Farbkurve：（○—○は Ti「ク」溶液の原理(2)の Farbkurve を示す）



第11図 遠藤氏液の吸光度曲線



実験 3. 各種酸化剤の評価に就いて

実 験 方 法

10 種類の酸化剤即ち竹内氏試薬，0.5％ Obermayer's 試薬，5～10％塩素酸カリ液，10％硫酸銅液，4％クロールカルク水，1～5％過硫酸アンモン液，3％過酸化水素水，及び 2％亜硝酸ソーダ液のチモール・インドオキシル縮合剤としての優劣を評価せんとして被検尿 No. 2 を使用し，竹内氏試薬は術式 (1)，Obermayer's 試薬は術式(3)により，其他の酸化剤は術式(1)の竹内氏試薬に代るに各種酸化剤の 0.2cc を加え，従つて「ク」浸中の沃度の中和を省略せる術式(1)によりて得たる第 1 回色素抽出脱水「ク」浸 6cc に就いて，原理(1)及び原理(2)による Farbkurve 及び Stufo• 値を測定した．試験例は各種酸化剤に就き 2 例宛とし，竹内氏試薬及び亜硝酸ソーダに対する対照例は尿に代るに蒸溜水を使用せり．

実 験 成 績

成績は第 7 表，第 12 図，第 13図，第 14図，第15図の如し．

(1) Ti値

原理(1)による最高値は 2％亜硝酸ソーダによる 30.23mg％で，次で竹内氏試薬による 20.40mg％，5％塩素酸カリ液による 11.40 mg％，0.5％ Obermayer's 試薬による9.08mg％の順となり，10％硫酸銅液による 5.93mg％が最低値を示した．

原理 (2) による最高値は竹内氏試薬による 11.59mg％ で，10.09mg％（2％亜硝酸ソーダ液），5.89mg％（0.5％ Obermayer's 試薬）の順となり，1.54mg％（5％塩素酸カリ液）が最低値を示した．

対照例に於いては竹内氏試薬では色素形成は認めず，2％亜硝酸ソーダ液では黄赤色の色素形成があり，之を Ti と仮定して 17.68 mg％（原理(1)）及び3.34mg％（原理(2)）を測定し得た．

原理(1)及び原理(2)による Ti 値の不一致は，何れの酸化剤によるも常見され且つ原理(2)に

於いて低値を示すが，其の Ti 値低下率は酸化剤の種類によりて異なる．

第7表から酸化剤別に夫々原理(1)及び原理(2)に於ける平均 Ti 値を求め，竹内氏試薬による平均 Ti 値に対する其他の酸化剤による平均 Ti 値の百分比並びに各種酸化剤に於ける原理(1)の平均 Ti 値に対する原理(2)の平均 Ti 値の百分比を算出すると第8表の成績となる．

(2) Farbkurve

原理(1)による Farbkurve は第12図，第13図の如く，塩素酸カリを使用した No.5, No.7 及び亜硝酸ソーダを使用した No. 17，対照例 No. 21 に於いて非定型的である．其他の酸化剤による場合は何れも概ね Ti の定型的 Farbkurve に近似するが S 43で最もよく吸光する点が異なる．

原理(2)による Farbkurve は第14図，第15図の如く，5％塩素酸カリを使用した No. 5, 亜硝酸ソーダを使用した No. 17 及び対照例 No. 21 に於いて非定型的である他は概ねTiの原理(2)に於ける定型的 Farbkurve に近似する．

第　7　表

各種酸化剤による Ti. 値 mg％測定成績

酸化剤	試験番号	定量原理 (1) S. 47	定量原理 (2) S. 57
竹内氏試薬	No. 1	20.40	11.59
	2	19.88	11.36
0.5% Obermeyer 氏試薬	3	8.77	5.38
	4	9.08	5.89
5％塩素酸カリ	5	10.13	1.73
	6	11.40	1.54
1％塩素酸カリ	7	7.65	3.23
	8	7.20	2.96
10％硫酸銅	9	5.93	3.38
	10	5.78	3.45
4％クロールカルク	11	6.23	3.30
	12	6.45	3.56
5％過硫酸アンモン	13	8.63	5.06
	14	8.69	4.95
1％過硫酸アンモン	15	8.40	4.88
	16	7.20	4.28
2％亜硝酸ソーダ	17	28.73	9.64
	18	30.23	10.09
3％過酸化水素	19	6.68	3.38
	20	6.60	3.30
対照(亜硝酸ソーダ)	21	17.18	2.14
	22	14.85	3.34
対照(竹内氏試薬)	23	0	0
	24	0	0

第　8　表

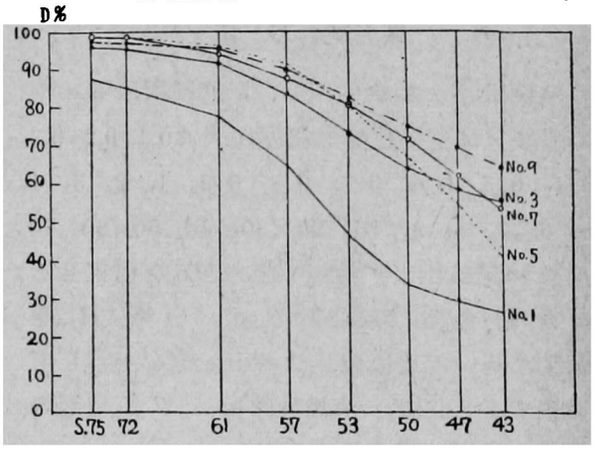
各種酸化剤による平均 Ti. 値百分比（％）

酸化剤	竹内氏試薬による Ti. 値を基準とす 原理(1) S. 47	竹内氏試薬による Ti. 値を基準とす 原理(2) S. 57	原理(1)による Ti. 値を基準とす 原理(1) S. 47	原理(1)による Ti. 値を基準とす 原理(2) S. 57
竹内氏試薬	100.0	100.0	100.0	57.0
0.5% Obermeyer 氏試薬	44.3	49.0	100.0	63.0
5％塩素酸カリ	53.5	14.2	100.0	15.2
1％塩素酸カリ	37.0	27.0	100.0	42.0
10％硫酸銅	29.0	30.0	100.0	56.6
4％クロールカルク	31.4	30.0	100.0	54.1
5％過硫酸アンモン	43.0	43.5	100.0	59.0
1％過硫酸アンモン	38.7	40.0	100.0	58.7
2％亜硝酸ソーダ	146.4	86.0	100.0	33.5
3％過酸化水素	33.0	21.0	100.0	50.0

第　12　図

各種酸化剤に於ける Farbkurve（原理(1)）

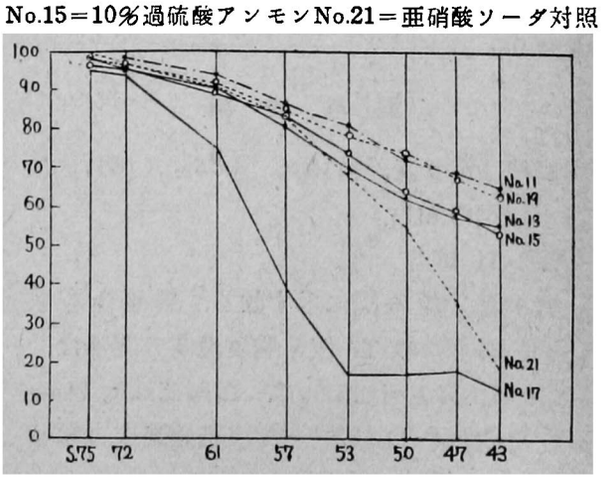
（No. 1＝竹内氏試薬　No. 7＝1％塩素酸カリ
No. 3＝Obermeyer's 試薬　No. 9＝10％硫酸銅
No. 5＝5％塩素酸カリ）



第　13　図

各種酸化剤に於ける Farbkurve（原理(1)）

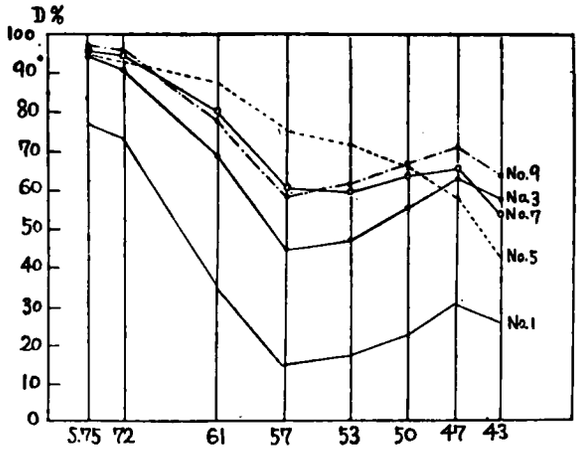
No.11＝4％クロールカルク　No.17＝2％亜硝酸ソーダ
No.13＝5％過硫酸アンモン　No.19＝3％過酸化水素
No.15＝10％過硫酸アンモン No.21＝亜硝酸ソーダ対照



第 14 図

各種酸化剤に於ける Farbkurve (原理(2))

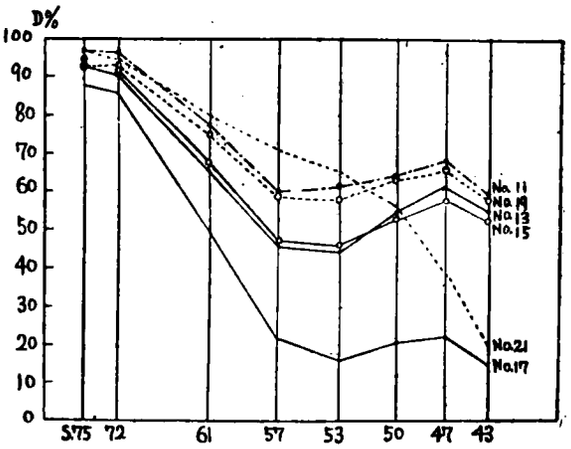
(No. 1＝竹内氏試薬　No. 7＝1%塩素酸カリ
No. 3＝Obermeyer's 試薬 No. 9＝10%硫酸銅
No. 5＝5%塩素酸カリ)



第 15 図

各種酸化剤に於ける Farbkurve (原理(2))

No.11＝4%クロールカルク　No.17＝2%亜硝酸ソーダ
No.13＝5%過硫酸アンモン　No.19＝3%過酸化水素
No.15＝1%過硫酸アンモン　No.21＝亜硝酸ソーダ対照



実験 4. 被検尿中醋酸並びに三塩化醋酸濃度の定量値に及ぼす影響に就いて.

A　原理(1)による Ti 値比較実験

実 験 方 法

被検尿 No. 3 を使用し，5 倍稀釈尿 5cc 中の醋酸又は三塩化醋酸濃度が夫々0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 及び 80%に相当する如く濾尿 1cc を稀釈せる対照例を含む試験例27例に就いて，術式(1), 原理(1)に基いて比色値及び Stufo. 値を測定して比較すると共に，洗液分離量，「ク」浸層の容量，及び V 量を測定した.

Farbkurve は代表例（0.5 %及び 80%の酸含有例）に就いて測定し，脱水「ク」浸総量は 7cc（第 1 回抽出）及び 4cc（第 2 回抽出）とせり.

実 験 成 績

成績は第 9 表，第10表，第16図，第17図及び第18図の如し.

(1) Ti 値

第 9 表，第 16 図に示す如く，醋酸含有尿（尿$_1$と略す）の Ti 値と醋酸濃度の関係は，Stufo. 値（第 1 回抽出）では10%迄は約 14mg %で大差なく，10%以上では醋酸濃度の増加と共に Ti 値は低下し80%で最低値を示す. 比色値に於いても同様であるが比色値は Stuto. 値に比し約 5 %の増強を示す（但し醋酸濃度20%迄）. 然し乍ら尿$_1$の Stufo. 値（第 1 回抽出＋第 2 回抽出）は0.2～5%間で高値を示して大差なく，1 %で最高値 17.28mg %を示す.

三塩化醋酸含有尿（尿$_3$と略す）の Ti 値と三塩化醋酸濃度の関係は，Stufo. 値（第 1 回抽出）では 1 %迄は三塩化醋酸濃度の増加と共に急激に増大し，1 %以上は除々に増大の傾向を示すが 1 ～10 %間で 19～20mg %の高値を示して大差なく，20～80%間で稍々低値を示した. 比色値は 10 %迄は Stufo. 値と同様の関係を示すが，10 %以上では脱水「ク」浸の色調は比色に適せず40%以上では全く比色不能となつた. 然して比色値は Stufo. 値に比し約10%の増強を示す（尿中三塩化醋酸濃度10%迄）.

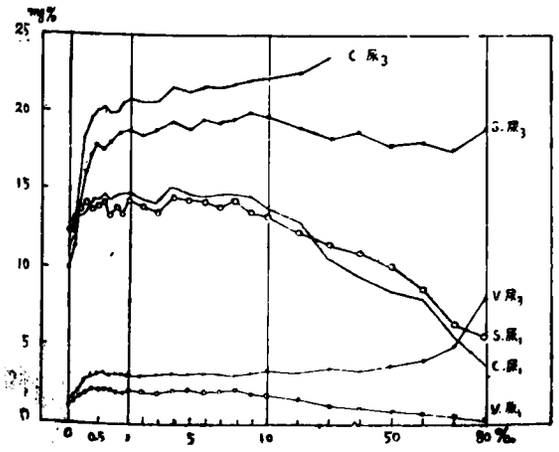
尿$_3$の Stufo. 値（第 1 回抽出＋第 2 回抽出）は 1～10 %間で何れも約 21mg %の高値を示して大差なく，9 %で最高値 21.64mg %を示した.

尿$_1$及び尿$_3$に於ける平均 Ti 値（1～10 %間）の百分比を求めると尿$_3$に於いて＋36.3%（Stufo. 値，第 1 回抽出）及び ＋46.5 %（比

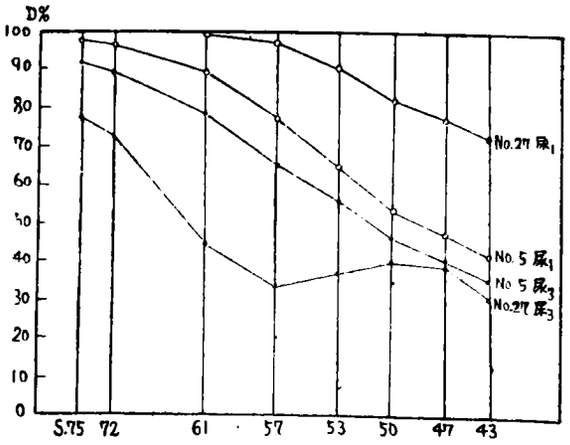
第9表　醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於けるTi.値及びV.量測定成績

試験番号	酸含有量%	醋酸含有尿						三塩化醋酸含有尿					
		稀釈尿(性)	Stufenphot Ti.値 mg% 原理(1) S.47		Stufenphot V-量 mg% (S.57)		比色法 Ti.値mg% 原理(1)	稀釈尿(性)	Stufenphot Ti.値 mg% 原理(1) S.47		Stufenphot V-量 mg% (S.57)		比色法 Ti.値mg% 原理(1)
			抽出Ⅰ	抽出Ⅱ	抽出Ⅰ	抽出Ⅱ	抽出Ⅰ		抽出Ⅰ	抽出Ⅱ	抽出Ⅰ	抽出Ⅱ	抽出Ⅰ
対照	—	A	12.51	2.15	1.79	0.20	12.92	A	10.06	1.15	1.49	0	11.20
No. 1	0.1	S	13.30	2.20	1.93	0.25	13.41	N	11.64	0.60	1.62	0	12.25
2	0.2	〃	13.91	2.35	2.23	0.25	13.58	S	14.09	0.75	2.01	0	14.91
3	0.3	〃	14.09	2.65	2.14	0.30	13.93	〃	16.36	1.00	2.76	0	18.48
4	0.4	〃	13.91	2.51	2.32	0.28	14.77	〃	17.42	1.20	2.89	0	19.94
5	0.5	〃	14.09	2.75	2.14	0.33	14.60	〃	18.07	1.80	2.33	0.10	20.44
6	0.6	〃	14.09	2.95	2.23	0.35	14.91	〃	17.85	2.05	3.06	0.18	19.60
7	0.7	〃	13.65	2.90	2.23	0.35	14.60	〃	18.11	1.79	3.19	0	19.88
8	0.8	〃	13.91	2.95	1.97	0.38	14.91	〃	17.33	1.85	3.15	0.20	20.09
9	0.9	〃	13.65	2.90	2.01	0.33	14.91	〃	18.99	1.85	3.06	0.15	20.65
10	1.0	〃	14.53	2.75	2.14	0.35	14.91	〃	18.99	1.80	3.06	0.10	21.00
11	2.0	〃	14.09	3.00	2.10	0.38	14.60	〃	18.46	1.65	3.19	0	20.65
12	3.0	〃	13.65	2.80	1.79	0.30	14.21	〃	18.99	1.70	3.24	0	20.79
13	4.0	〃	14.70	1.65	2.23	0.15	15.30	〃	19.51	1.70	3.45	0.10	22.00
14	5.0	〃	14.70	1.55	2.23	0.10	14.91	〃	18.99	2.15	3.24	0	21.35
15	6.0	〃	14.26	1.45	2.14	0.10	14.60	〃	19.51	2.00	3.33	0.20	(21.70)
16	7.0	〃	14.09	1.70	2.01	0.15	14.91	〃	19.25	1.45	3.33	0.15	(21.70)
17	8.0	〃	14.47	1.20	2.26	0.13	14.41	〃	19.51	1.60	3.24	0.18	(21.70)
18	9.0	〃	13.65	1.35	1.93	0.10	14.91	〃	20.04	1.60	3.37	0	(22.05)
19	10.0	〃	13.48	1.65	1.88	0.15	13.93	〃	19.78	1.08	3.59	0.13	(22.05)
20	20.0	〃	12.34	2.00	1.66	0.18	13.09	〃	18.72	0.95	3.46	0	(22.40)
21	30.0	〃	11.64	1.60	1.14	0.20	10.36	〃	18.11	1.05	3.64	0	(23.08)
22	40.0	〃	11.11	2.25	1.01	0.30	9.17	〃	18.72	1.05	3.64	0	比色不能
23	50.0	〃	10.24	2.80	0.79	0.40	8.54	〃	18.46	1.35	3.85	0.20	〃
24	60.0	〃	8.93	3.10	0.70	0.40	8.05	〃	17.85	1.74	4.33	0.20	〃
25	70.0	〃	6.48	2.45	0.61	0.35	5.71	〃	17.33	2.00	5.08	0.25	〃
26	80.0	〃	4.90	2.25	0.22	0.28	3.78	〃	18.46	2.25	8.01	0.40	〃

第16図
醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於けるTi.値mg%比較成績（第1回抽出，原理(1)）
（C＝比色値，S＝Stufo.値，V＝V.量
尿1＝醋酸含有尿，尿3＝三塩化醋酸含有尿）



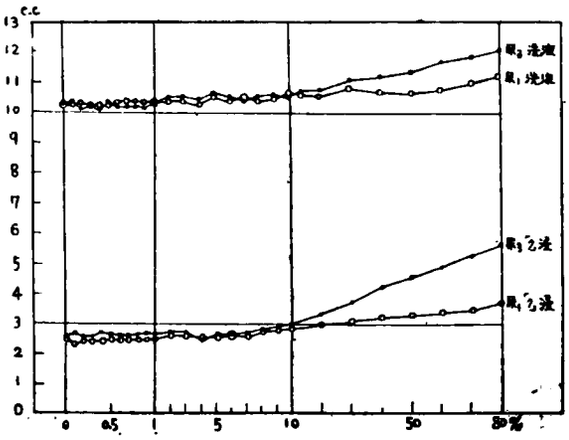
第17図　Farbkurve（原理(1)）
（尿1＝醋酸含有尿
尿3＝三塩化錯酸含有尿
No. 5＝5%濃度含有例
No. 27＝80%濃度含有例）



第 18 図

分離洗液量及び「ク」浸層容量の増量曲線

(尿3＝三塩化醋酸含有尿
尿1＝醋酸含有尿)



色値，第1回抽出）の増強となり，最高 Stufo. 値（第1回抽出＋第2回抽出）の百分比は尿3に於いて ＋25.2％の増強となる.

(2) 脱水「ク」浸の色調と Farbkurve

第10表に示す如く，尿1に於ける脱水「ク」浸の色調は赤褐色～黄赤色で全例を通じ Ti の固有色と同類色となるも，尿3では三塩化醋酸濃度5％迄は赤褐色なるも，三塩化醋酸濃度の増加と共に暗赤褐色となり20％以上では紫色色調が混色として出現し80％に於ける脱水「ク」浸の紫色色調は最も濃厚であり，紫色色調の出現する脱水「ク」浸では特殊のエステル様芳香を認める. Farbkurve は第17図に示す如く，尿1では何れも概ね Ti の定型的 Farbkurve に近似するもS 43で最もよく吸光する点が稍々異り，尿3では0.5％三塩化醋酸含有例 No. 5 は概ね定型的となるが，80％三塩化醋酸含有例 No. 27 では著しく非定型的でS 57附近で著明に吸光した.

(3) V量

第9表，第16図に示す如く，尿3に於けるV量は被検尿中三塩化醋酸濃度の増加と共に増量し80％で最高値 8.41mg％（第1回抽出＋第2回抽出）を示し 1～10％間の平均 V 量 3.5mg％の約 2.4 倍に相当す. 尿1に於けるV量は脱水「ク」浸に紫色色調の出現を認めざるにより之を真のV量とは認め得ない.

第 10 表

醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於ける酸含有量と脱水「ク」浸の色調，「ク」浸層の容量及び分離洗液量の関係

脱水「ク」浸の色調＝第1回抽出時
「ク」浸層の容量＝第1回抽出時
分離洗液量＝第1回及び第2回分離洗液の総計
尿1＝醋酸含有尿，　尿3＝三塩化醋酸含有尿

試験番号	酸含有量 %	脱水「ク」浸の色調		「ク」浸層の容量(cc)		分離洗液量(cc)	
		尿1	尿3	尿1	尿3	尿1	尿3
対照	0	赤黄褐	赤黄褐	2.45	2.50	10.30	10.30
No. 1	0.1	〃	〃	2.35	2.35	〃	10.35
2	0.2	〃	〃	2.40	2.50	10.35	10.15
3	0.3	〃	赤褐	〃	〃	10.30	10.30
4	0.4	〃	〃	〃	2.65	〃	10.20
5	0.5	〃	〃	2.45	2.60	〃	10.35
6	0.6	〃	〃	〃	〃	10.45	〃
7	0.7	〃	〃	〃	〃	〃	10.30
8	0.8	〃	〃	2.40	2.55	10.40	10.40
9	0.9	〃	〃	2.45	2.70	〃	10.35
10	1.0	〃	〃	〃	2.60	〃	10.40
11	2.0	〃	〃	2.60	2.70	〃	10.60
12	3.0	〃	〃	〃	〃	〃	10.55
13	4.0	〃	〃	2.55	2.50	10.30	10.50
14	5.0	〃	暗赤褐	2.50	2.60	10.55	10.60
15	6.0	〃	〃	2.60	2.65	10.40	10.50
16	7.0	〃	〃	2.50	2.60	10.55	〃
17	8.0	〃	〃	2.70	2.80	10.40	10.55
18	9.0	〃	〃	〃	〃	10.50	〃
19	10.0	〃	〃	2.80	2.95	10.65	10.60
20	20.0	〃	暗赤褐微紫	3.00	3.25	10.55	10.75
21	30.0	〃	〃	3.10	3.65	10.75	11.15
22	40.0	〃	暗赤褐紫	3.20	4.20	10.70	11.20
23	50.0	淡黄赤	〃	〃	4.50	〃	11.40
24	60.0	〃	〃	3.30	4.80	10.80	11.65
25	70.0	〃	〃	3.40	5.20	11.00	11.75
26	80.0	〃	暗紫赤	3.60	5.50	11.20	12.10

(4) 「ク」浸層の容量及び洗液分離量.

第10表，第18図に示す如く，「ク」浸層の容量は被検尿中醋酸又は三塩化醋酸濃度5％附近以上から醋酸又は三塩化醋酸濃度の増加と共に著明に増量し，80％に於いて最大量を示し 0.5％附近の「ク」浸層の容量に比し約 3cc（尿3）及び 1.2cc（尿1）の増量を認める.

洗液分離量（第1回洗液＋第2回洗液）の増量も概ね被検尿中醋酸又は三塩化醋酸濃度の増加と共に増量し，80%で最大量を示し理論値量10ccに比し約2cc（尿$_3$）及び1cc（尿$_1$）の増量を認める．

B. 原理(1)及び原理(2)によるTi値比較実験

実 験 方 法

被検尿 No. 4 を使用し，5倍稀釈尿5cc中の醋酸濃度が夫々0.5, 1, 5, 10, 20, 40及び80%に相当する如く濾尿1ccを稀釈せる対照例を含む試験例8例に就いて術式(1), 原理(1)及び原理(2)に基いて Stufo. 値を測定して比較した．色素抽出は第1回のみとし，脱水「ク」浸は6ccとした．

実 験 成 績

実験成績成績は第11表，第19図に示す如く，原理(1)による Ti 値は尿$_1$では0.5～10%間で最高値（約6mg%）を，尿$_3$では10～40%間で最高値（約10.3mg%）を示し尿$_3$の最高 Ti 値は尿$_1$の其れに比し約70%の増強を示す．

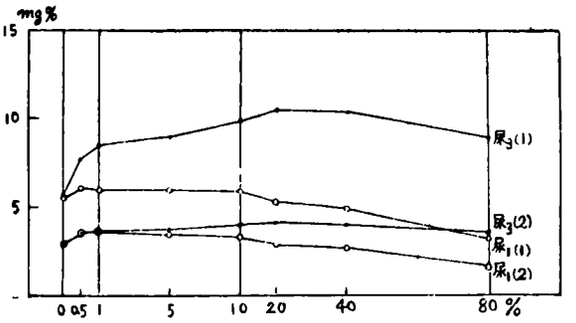
原理(2)による Ti 値は尿$_1$では0.5～5%間で最高値（約3.5mg%）を示し，尿$_3$では10～40%間で最高値（約4mg%）を示すも1～80%間で大差を認めない．

第11表 醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於けるTi. 値比較測定成績
尿$_1$＝醋酸含有尿
尿$_3$＝三塩化醋酸含有尿

試験番号	酸含有量(%)	Ti. 値 (mg%) 原理(1) S. 47 尿$_1$	原理(1) S. 47 尿$_3$	原理(2) S. 57 尿$_1$	原理(2) S. 57 尿$_3$
対照	0	5.55	5.63	2.96	3.00
No, 1	0.5	6.08	7.80	3.49	3.38
2	1.0	6.00	8.18	3.60	3.56
3	5.0	6.00	8.78	3.40	3.71
4	10.0	5.93	9.98	3.38	4.00
5	20.0	5.33	10.43	2.89	4.08
6	40.0	4.95	10.43	2.78	4.00
7	80.0	3.35	8.90	1.73	3.45

尿$_1$及び尿$_3$の最高Ti値を比較するに，尿$_3$に於いて約10%（原理(2)）及び約70%（原理(1)）の増強となる．尿$_1$及び尿$_3$に於ける原理(1)のTi 値は原理(2)の其れに比し常に高値を示し，原理(1)の Ti 値に対する原理(2)の Ti 値低下率を最高 Ti 値に就いて求めると −60%（尿$_3$）及び −42%（尿$_1$）となる．

第 19 図
醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於けるTi. 値mg%比較成績（第1回抽出, 原理(1)), 原理(2)).
（尿$_1$＝醋酸含有尿，尿$_3$＝三塩化醋酸含有尿，（ ）内の数字は原理の種類を示す）



実験 5. 三塩化醋酸含有尿に於ける定量値とクロヽフォルム浸水洗の影響に就いて

実 験 方 法

被検尿 No. 5 を使用し，5倍稀釈尿5cc中の三塩化醋酸濃度が夫々0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70及び80%に相当する如く濾尿1cc を稀釈せる対照例を含む試験例12例に就いて，術式(1)及び術式(3)により先づ水洗2回の第1回色素抽出脱水「ク」浸6ccを作り（A浸と略す），其の3ccに就いて原理(1)及び原理(2)に基いて Stufo. 値及びV量を測定すると共に，残余のA浸3ccを水3ccで3回反覆水洗した後，無水硫酸ソーダ 1g を加えた脱水「ク」浸を作り其の全量を4ccとし（B浸と略す），A浸に於けると同様の測定をし其の成績を比較した．但し原理(1)にはS 47及びS 50を，原理(2)にはS 57及びS 53を使用し，Farbkurve は三塩化醋酸濃度0.5%及び80%の代表例に就いてのみ測定し，術式(1)によるA浸は「ク」浸中の沃度中和前後に各

1回宛「ク」浸を水洗して之を作つた.

実 験 成 績

成績は第12表, 第20図, 第21図, 第22図, 第23図に示す如し.

(1) Ti 値と「ク」浸水洗の関係

第12表, 第20図, 第21図に示す如く, Ti 値は「ク」浸を反覆水洗する事により著しく低下し, 其の低下率は尿中三塩化醋酸濃度の増大するに伴い益々大となる. 第12表からA浸の Ti 値に対するB浸の Ti 値低下率を0.5%, 10%及び80%三塩化醋酸含有例に就いて求めると, 術式(1)では夫々−15%, −25.8%及び −37.2%(原理(1)・S47) 又は −11%, −11.4%及び−38.3%(原理(2)・S57) となり, 術式(3)では夫々−1.3%, −15.7%及び−41.9%(原理(1)・S47) 又は+1%, +1.5%及び−48.3%(原理(2)・S57) となる. 然して此の Ti 値低下率は原理(1)にS50を, 原理(2)にS53を夫々適用した Ti 値に就いて算出すると其の低下率は更に大となり術式(1)では夫々−14.6%, −25.2%及び −55.7%(原理(1). S50) 又は −7.8%, −10.9%及び−45.1%(原理(2). S53), 術式(3)では夫々−10.5%, −26.9%及び−55.8%(原理(1). S50) 又は +9.5%, −7.1%及び−54.7%(原理(2). S53) となる.

(2) Ti 値と尿中三塩化醋酸濃度(%)の関係.

a. A浸の場合

術式(1)では20%濃度以上(原理(1)) 及び30%濃度以上(原理(2)) 又術式(3)では5%濃度以上(原理(1)) 及び10%濃度以上(原理(2)) の三塩化醋酸含有例に於いては何れも三塩化醋酸濃度の増加と共に Ti 値は著しく増大し, 80%濃度に於いて最高値を示す. 10%濃度に於ける Ti 値に対する80%濃度に於ける Ti 値の増大は術式(1)では約1.4倍(原理(1). S47) 又は1.7倍(原理(2)・S57), 術式(3)では約4倍(原理(1)・S47) 又は6.3倍(原理(2). S57) に相当す.

b. B浸の場合

術式(1)では尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴う Ti 値の増大は原理(1)に於いて僅かに其の傾向を認めるが原理(2)では0.5〜80%濃度間で Ti 値に大差を認めず. 術式(3)では原理(1)及び原理(2)による Ti 値は共に10%濃度以上に於いて三塩化醋酸濃度の増加と共に増大し80%濃度に於ける Ti 値は10%濃度に於ける Ti 値の約2.6倍(原理(1)・S47) 又は約3.2倍(原理(2)・S57) に相当す.

(3) Ti 値と術式の関係

第12表, 第20図, 第21図に示す如く, 術式(1)と術式(3)の Ti 値を比較するに, 三塩化醋酸濃度及び原理を同じくする Ti 値は術式(3)に於いて著しく低値を示し, 其の Ti 値低下率は0.5〜10%濃度間で最も大きく, 10%濃度以上では三塩化醋酸濃度の増加と共に減少す.

B浸に於いて術式(1)の Ti 値に対する術式(3)の Ti 値低下率を夫々0.5%, 10%及び80%濃度に於ける Ti 値に就いて算出すると原理(1)・S47では−71.0%, −62.6%及び−18.5%となり, 原理(2)・S57では−75.7%, −70.7%及び−19.3%となる. 然して0.5〜10%間に於ける平均 Ti 値は術式(3)では術式(1)の約1/3.5に過ぎない.

(4) V量

第12表, 第20図, 第21図に示す如く, A浸のV量は5%濃度以上では三塩化醋酸濃度の増加と共に著明に(術式(1)) 又は極めて著明に(術式(3)) に増量し80%濃度で最高値を示し10%濃度に於けるV量の約3倍(術式(1)) 又は6.6倍(術式(3)) に相当す. V量は「ク」浸を水洗すると減少し, A浸のV量に対するB浸のV量の低下率を10%及び80%濃度に於けるV量に就いて算出すると夫々−27.9%及び −66.0%(術式(1)) 又は −20.0%及び−53.9%(術式(3)) となる.

B浸に於けるV量は術式(1)では尿中三塩化醋酸濃度10%以上の試験例で軽度の増量を示すが, 術式(3)では著明に増量し, 80%濃度に於けるV量は10%濃度に於けるV量の約1.4倍(術式(1)) なるに対し約3.9倍(術式(3))

となる.

(5) Farbkurve

原理(1)による Farbkurve は第22図, 第23図の如く, A浸の Farbkurve は試験例 No. 1 が両術式とも Ti の定型的 Farbkurve に稍々類似するが, 試験例 No. 11 は甚だしく非定型的で S 53 で最も強く吸光し脱水「ク」浸の色調が紫赤色なる事を示す. B浸の Farbkurve は両術式とも試験例 No. 1 が概ね定型的曲線に類似するが, 試験例No. 11では尚お非定型的で S 53～S 61 間で強く吸光し其の色調は赤褐色と紫色の混色なる事を示している.

実験 6. 尿清澄剤使用による定量値低下に就いて

実 験 方 法

人尿を使用し, 原尿及び原尿 50cc に 1/10 容量及び 1/20 容量の 20%醋酸鉛又は 20%塩基性醋酸鉛を加えて濾過したる清澄濾尿の各 1cc に就いて術式(1), 原理(1)及び原理(2)により Stufo・値並びに Farbkurve を測定すると共に, 各種清澄剤使用による沈澱中のインヂカンを定量せんとして, 沈澱に一定の処理を加えたる抽出液 5cc に就いて同様の測定をした.

第 12 表　三塩化醋酸含有尿に於ける Ti. 値と脱水「ク」浸水洗の影響並びに術式, 原理, 三塩化醋酸含有量及び V. 量との関係

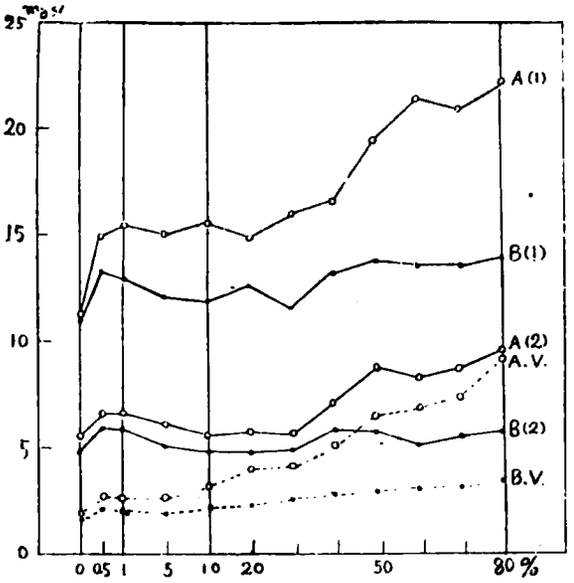
(A＝2回水洗脱水「ク」浸　B＝5回水洗脱水「ク」浸)

定量術式	試験番号	酸含有量(%)	稀釈尿(性)	Ti. 値 (mg%) 原理 (1) S. 47 A	S. 47 B	S. 50 A	S. 50 B	原理 (2) S. 57 A	S. 57 B	S. 53 A	S. 53 B	V. 量(mg%) S. 57 A	S. 57 B
1	対照	0	A	11.55	11.20	10.88	9.50	5.59	4.50	6.26	4.80	1.98	1.70
	No. 1	0.5	S	15.08	13.50	13.58	11.60	6.68	5.95	6.86	6.40	2.63	2.20
	2	1.0	〃	15.53	12.70	13.58	11.30	6.86	5.80	6.98	6.30	2.59	2.05
	3	5.0	〃	15.08	11.70	13.20	10.10	6.04	4.95	6.34	5.15	2.74	1.90
	4	10.0	〃	15.53	11.50	13.43	10.50	5.58	4.95	5.74	5.15	3.19	2.30
	5	20.0	〃	15.08	12.70	14.03	10.90	5.89	4.65	5.93	5.05	3.98	2.40
	6	30.0	〃	16.05	11.50	15.45	10.90	5.89	4.95	6.19	5.15	5.14	2.55
	7	40.0	〃	16.73	13.30	16.58	12.60	7.24	5.80	7.84	5.75	6.19	2.85
	8	50.0	〃	19.58	13.90	22.28	12.40	8.78	5.85	9.60	6.10	7.54	2.90
	9	60.0	〃	21.68	13.70	24.30	12.80	8.18	5.40	9.90	5.95	7.84	3.15
	10	70.0	〃	21.00	13.90	26.93	12.80	8.78	5.65	10.88	6.05	8.40	3.25
	11	80.0	〃	22.28	14.10	28.65	13.00	9.64	5.95	11.85	6.50	9.34	3.28
3	対照	0	A	3.60	3.10	3.45	3.00	1.39	1.47	1.43	1.65	0.60	0.40
	No. 1	0.5	S	3.75	3.70	3.83	3.40	1.46	1.45	1.46	1.60	0.68	0.50
	2	1.0	〃	3.60	3.30	3.75	3.20	1.43	1.50	1.61	1.55	0.71	0.40
	3	5.0	〃	3.75	3.38	3.60	2.68	1.28	1.25	1.43	1.45	0.71	0.46
	4	10.0	〃	5.10	4.30	4.65	3.40	1.43	1.45	1.54	1.43	1.13	0.90
	5	20.0	〃	7.43	5.30	6.83	4.60	2.40	1.47	2.18	1.55	1.73	1.07
	6	30.0	〃	8.78	6.50	8.93	6.50	3.23	2.20	3.34	2.20	3.11	1.30
	7	40.0	〃	11.55	8.00	12.63	7.10	4.61	3.20	5.10	3.40	4.39	1.70
	8	50.0	〃	13.43	9.40	15.45	9.00	4.99	3.60	6.00	4.10	5.06	2.30
	9	60.0	〃	16.95	9.77	20.10	9.24	6.11	3.99	7.05	4.36	5.66	2.57
	10	70.0	〃	19.28	11.20	24.60	10.60	7.65	4.45	10.05	4.80	6.68	2.95
	11	80.0	〃	19.78	11.50	25.55	11.30	9.28	4.80	12.08	5.60	7.48	3.45

第 20 図

三塩化醋酸含有尿に於けるTi. 値 mg %
と「ク」浸水洗による影響（術式(1)）

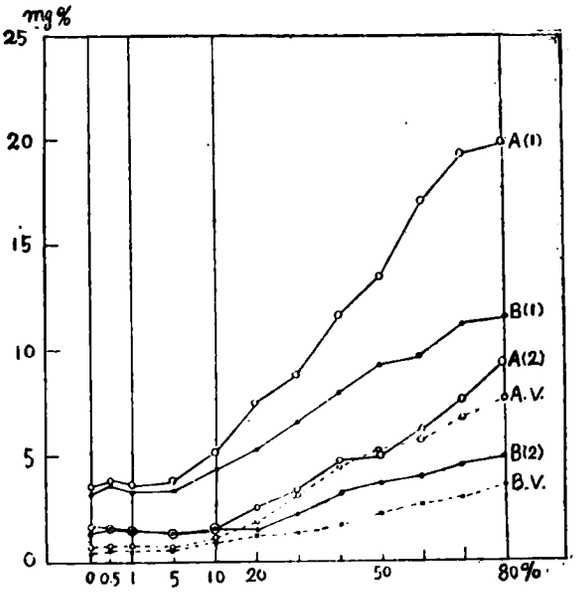
A＝2回水洗脱水「ク」浸　V＝V. 量
B＝5回水洗脱水「ク」浸
(1)＝原理(1)，(2)＝原理(2)



第 21 図

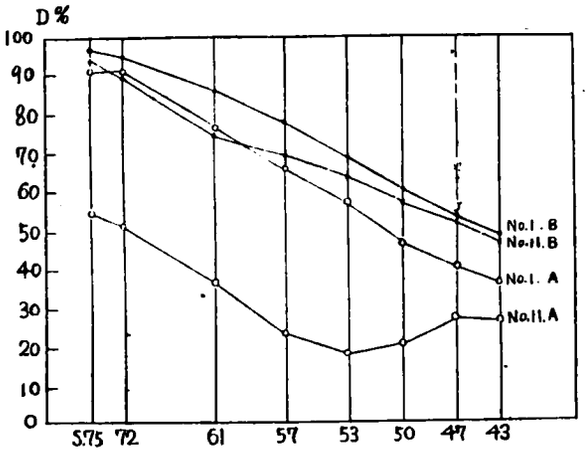
三塩化醋酸含有尿に於けるTi. 値 mg %
と「ク」浸水洗による影響（術式(3)）

A＝2回水洗脱水「ク」浸　V＝V. 量
B＝5回水洗脱水「ク」浸
(1)＝原理(1)，(2)＝原理(2)



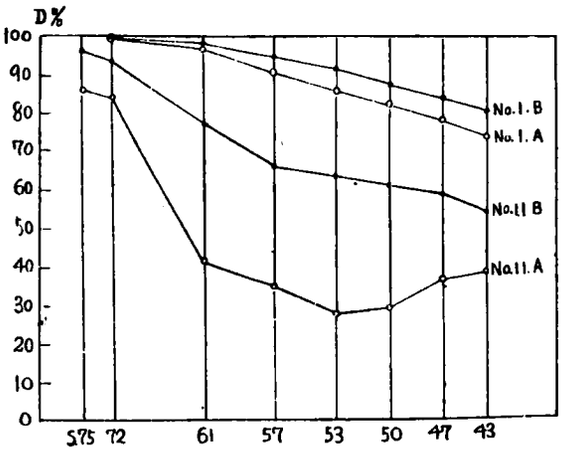
第22図　Farbkurve（術式(1)），原理(1)）

A＝2回水洗脱水「ク」浸
B＝5回水洗脱水「ク」浸
No. 1＝0.5%濃度含有例
No. 11＝80 %濃度含有例



第23図　Farbkurve（術式(3)），原理(1)）

A＝2回水洗脱水「ク」浸
B＝5回水洗脱水「ク」浸
No. 1＝0.5%濃度含有例
No. 11＝80 %濃度含有例



(1) 1/20 容量の清澄剤使用の場合

被検尿 No. 6 を使用す．清澄濾尿は全量を 52cc とし，試験例は各 3 例宛，色素抽出は 2 回，脱水「ク」浸の総量は 8cc とした．沈澱処理は水浴上で 90 %アルコール 20cc を加えて抽出し，アルコール濾液を乾固した残渣を水 10cc に加温溶解し其の 5cc に就いて敍上の測定をした．

(2) 1/10 容量の清澄剤使用の場合

被検尿 No. 7 を使用す．清澄濾尿は全量を 55cc とし試験例は各 2 例宛，色素抽出は 2 回，脱水「ク」浸の総量は 6cc とした．沈澱処理は 0.5 %醋酸で反覆抽出したる濾液 30cc 中，其の 5cc に就いて敍上の測定をした．

実 験 成 績

成績は第13表，第24図，第25図，第26図の

如し．第13表から原尿に於ける平均 Ti 値に対する醋酸鉛又は塩基性醋酸鉛清澄によるTi値低下率を補正平均 Ti 値に就いて算出すると共に，尿清澄に伴う Ti 値の平均低下量に対する沈澱中の Ti 値の発見率を原尿 100cc に換算して算出すると第14表の成績となる．

(1) 清澄剤使用による Ti 値低下

1/20 容量の清澄剤使用では Ti 値低下率は −8.0〜−10.4%(原理(1)) 及び −4.5〜−6.3%(原理(2)) となり，1/10 容量の清澄剤使用では −31.4〜−36.4% (原理(1)) 及び −15.4〜−26.0% (原理(2)) となる．

Ti 値低下率は原理(2)に比し原理(1)に於いて高く又塩基性醋酸鉛清澄に比し醋酸鉛清澄に於いて高率を示す．然して 1/10 容量の清澄剤使用による Ti 値低下率は 1/20 容量の清澄剤使用時の約 3.5 倍に相当する．

(2) 沈澱中のインヂカン発見率

第14表から沈澱中の Ti 値発見率は，1/20 容量の清澄剤使用では 42.1〜43.2 % (原理(1)) 及び 83.3〜94.1 % (原理(2)) となり，1/10容量の清澄剤使用では56.2〜59.5% (原理(1)) 及び 59.6〜101.8 % (原理(2)) となり，原理(2)による発見率は原理(1)による発見率の

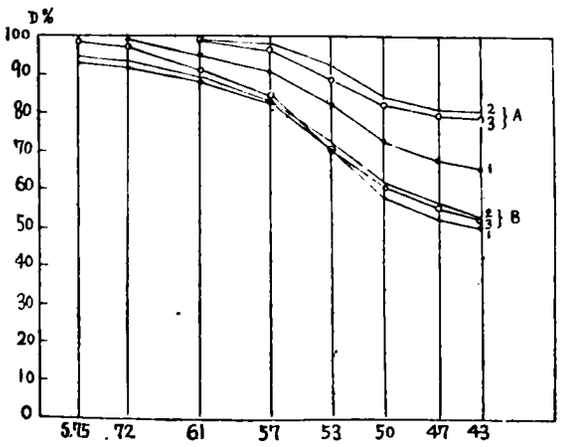
第13表　尿清澄法による Ti. 値低下と沈澱中の Ti. 値発見量測定成績

(( ) 内は補正平均 Ti. 値を示す)

被検尿	尿清澄法	試験番号	被検尿 Ti. 値 mg% 原理(1) S. 47	被検尿 Ti. 値 mg% 原理(2) S. 57	平均 Ti. 値 mg% 原理(1) S. 47	平均 Ti. 値 mg% 原理(2) S. 57	沈澱 沈澱処理	沈澱 Ti. 値 mg pro 50cc 原理(1) S. 47	沈澱 Ti. 値 mg pro 50cc 原理(2) S. 57
原尿	/	No. 1	7.05	3.83	7.14	3.81	/	/	/
		2	7.21	3.88					
		3	7.15	3.73					
清澄尿	20 %醋酸鉛 1/20 容量	No. 1	6.05	3.58	6.15 (6.40)	3.43 (3.57)	90% アルコール	0.16	0.10
		2	6.15	3.28					
		3	6.25	3.43					
	20 %塩基性醋酸鉛 1/20 容量	No. 1	6.15	3.43	6.32 (6.57)	3.50 (3.64)	〃	0.12	0.08
		2	6.25	3.48					
		3	6.55	3.58					
原尿	/	No. 1	6.07	3.49	5.97	3.58	/	/	/
		2	5.87	3.66					
清澄尿	20 %醋酸鉛 1/10 容量	No. 1	3.53	2.36	3.46 (3.80)	2.40 (2.64)	0.5 % 醋酸	0.61	0.28
		2	3.38	2.44					
	20 %塩基性醋酸鉛 1/10 容量	No. 1	3.75	2.74	3.72 (4.09)	2.72 (3.01)	〃	0.56	0.29
		2	3.68	2.74					

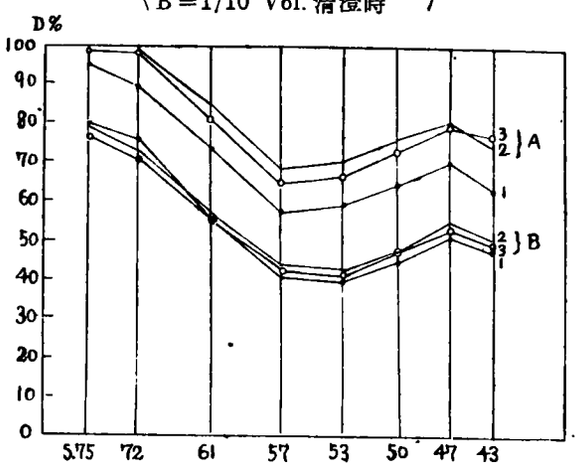
第24図　Farbkurve (原理(1))

(1 = 原尿
2 = 醋酸鉛清澄尿
3 = 塩基性醋酸鉛清澄尿
A = 1/20 Vol. 清澄時
B = 1/10 Vol. 清澄時)

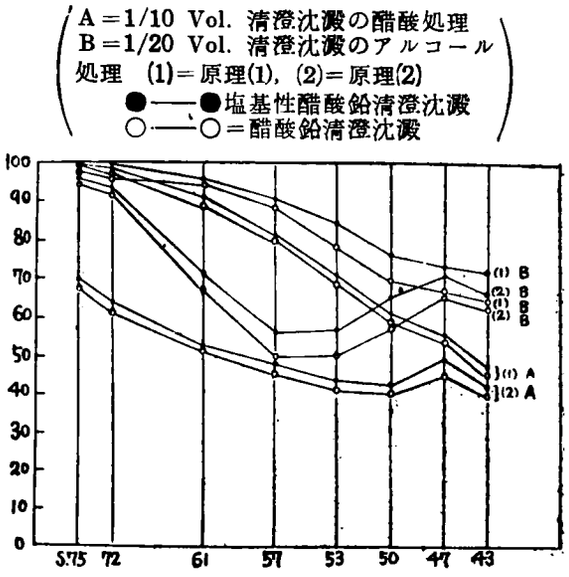


第25図　Farbkurve (原理(2))

(1 = 原尿
2 = 醋酸鉛清澄尿
3 = 塩基性醋酸鉛清澄尿
A = 1/20 Vol. 清澄時
B = 1/10 Vol. 清澄時)



第26図 Farbkurve（沈澱処理時）



第14表 尿清澄剤による Ti. 値低下率と沈澱中の発見率（%）

清澄法		Ti. 値低下率（%）		沈澱中発見率（%）	
		原理 (1) S. 47	原理 (2) S. 57	原理 (1) S. 47	原理 (2) S. 57
1/20 容量	醋酸鉛	−10.4	− 6.3	43.2	83.3
	塩基性醋酸鉛	− 8.0	− 4.5	42.1	94.1
1/10 容量	醋酸鉛	−36.4	−26.0	56.2	59.6
	塩基性醋酸鉛	−31.4	−15.4	59.5	101.8

平均約2倍強に相当す.

(3) Farbkurve

第24図, 第25図の如く, 原理(1)及び原理(2)による Farbkurve は原尿と清澄尿との間に大差を認めず, 何れも Ti の定型的 Farbkurve に近似するが尚お完全には一致しない.

第26図の如く, 沈澱処理によりて得た Farbkurve 中, 沈澱のアルコール処理による原理(2)の Farbkurve が最も Ti の原理(2)の定型的 Farbkurve に近似し, 沈澱の醋酸処理による Farbkurve は就中原理(2)に於いて著しく非定型的となつた.

実験 7. インヂカン微量定量法の創案並びに正常尿インヂカン値に就いて

1. 私が創案したインヂカン微量定量法.

Ti 値を増強又は低下せしめる諸原因を究明すべく行いたる全実験を通じて得たる成績を要約すると次の如くである.

(1) 尿に於けるチモール・インドオキシル縮合は除々に進行し, 竹内氏試薬では2時間で完結する（実験1).

(2) 遠藤氏規準液の力価は理論値に比し著しく濃厚である（実験1, 実験2).

(3) 各種酸化剤中, 竹内氏試薬が最優秀であり 0.5 Obermayer's 試薬は著しく遜色がある（実験1, 実験3, 実験5).

(4) 清澄剤使用により尿インヂカンの著しい損失を招来する（実験6).

(5) 三塩化醋酸含有尿に於いては Ti 値は尿中三塩化醋酸濃度の増減及び「ク」浸の水洗方法により著しく変動する（実験4, 実験5）

(6) 原理(1)及び原理(2)による Stufo. 値は常に不定の誤差を示し原理(2)に於いて低値を示すも, Farbkurve は原理(2)に於いて最も定型的曲線に近似す（実験1, 実験3, 実験4. B, 実験5, 実験6).

以上の全実験成績の要約から尿に於ける Ti の絶対化生量は三種の定量術式中, 術式(1)に於いて最高値を示す事が判明したのであるが, 原理(1)及び原理(2)による Stufo. 値が一致しない事から, 既に私が Jolles's 反応の化学的本態に就いて実証した如く（第一編 Jolles's 反応の化学的本態に関する実験的研究参照）「ク」浸中の色素は Ti のみの単一色素でなく, 少なくとも二種以上の色素の混合せるものである事を再確認したので, 私は Ti 以外の色素性 Indogenid の化生を可及的に防止する意図から反応媒質に於けるチモール量を増量する必要を認めるに至り, チモール量を10%チモール・アルコール 0.5cc に改めた術式(1)によりて得られる赤褐色透明脱水「ク」浸の一定量に原理(1)及び原理(2)を適用する Stufo. 値測定方法を以つて私が創案した尿インヂカンの新微量定量法として提案する. 本法によれば尿中インヂカン濃度 C (mg%) は下式によりて算出される.

C ＝ E ×6.84×0.9×脱水「ク」浸容量 cc

（原理(1). S 47. 10mm 液層）

C＝E×2.36×0.9×脱水「ク」浸容量cc
（原理(2). S 57. 10mm 液層）

但し0.9は Ti 値をインヂカン値に換算する係数であり，原理(2)による定量値を以つて純粋に Ti のみに誘導し得たる尿インヂカン量とし，原理(1)による定量値を以つて Ti を含む其他の赤褐色の色素性 Indogenid に誘導し得たる尿インヂカンの総量と見なすものとす.

臨床的簡易比色定量法としては，上述の定量法の原理(2)の適用に際し遠藤氏規準液を使用し得る．但し此の場合のインヂカン値は，之に3.08を乗じて補正するを要す（実験2参照).

2. 正常尿インヂカン値

20例の健康人24時間尿に就いて私の新法によつて測定した尿インヂカン値及び原理(1), 原理(2)に於ける Farbkurve は第15表及び第27図の如く，

(1) 尿インヂカンの24時間内正常排泄量.

最高 157.95mg（原理(1)）又は 137.33mg（原理(2)),

最低 42.48mg（　〃　）又は 29.83mg（　〃　),

平均 98.04mg（　〃　）又は 77.06mg（　〃　).

(2) 尿インヂカンの正常濃度.

最高 22.73mg%（原理(1)）又は 19.69mg%（原理(2)),

最低 2.52mg%（　〃　）又は 1.76mg%（　〃　),

平均 9.25mg%（　〃　）又は 7.45mg%（　〃　).

(3) 原理(1)と原理(2)に於ける定量値誤差.

原理(2)に於いて +2.2%～−43.0%で平均−21.66%を示した.

(4) Farbkurve

数例の健康人では原理(1)及び原理(2)に於ける Farbkurve が Ti の定型的 Farbkurve に一致し，両者の定量値が一致した.

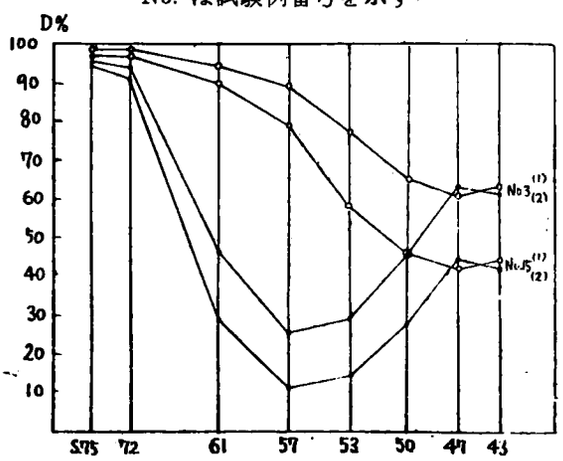
第15表　正常尿インヂカン値測定成績

24時間尿に於ける正常インヂカン値

試験例	性別	人名	原理(1), S. 47 濃度(mg%)	原理(1), S. 47 排泄量(mg)	原理(2), S. 57 濃度(mg%)	原理(2), S. 57 排泄量(mg)	原理(2) S. 57に於ける定量誤差(%)
No.1	♀	金谷	2.52	42.84	1.76	29.83	−31.0
2	〃	鈴木	7.49	97.40	5.81	75.47	−23.0
3	〃	白井	7.36	110.36	7.43	111.38	+ 1.2
4	〃	但馬	2.52	47.12	1.96	36.61	−20.0
5	〃	阿部	22.73	136.35	19.69	118.13	−13.0
6	♂	武藤	8.10	137.70	7.43	126.23	− 8.3
7	〃	前田	5.40	75.60	3.95	55.29	−27.0
8	♀	角谷	4.73	70.88	3.51	52.65	−25.6
9	〃	関元	5.74	51.64	3.58	52.85	+ 2.2
10	〃	久米川	14.40	57.60	13.44	53.78	− 7.4
11	〃	荒木	10.13	101.25	7.68	76.78	−24.3
12	〃	福島	22.52	135.14	17.64	105.84	−21.7
13	〃	北沢	13.23	132.30	10.19	101.93	−23.0
14	〃	細野	8.55	68.40	5.93	47.48	−31.0
15	〃	木本	13.64	149.98	11.54	126.97	−15.4
16	♂	村山	12.15	157.95	10.56	137.33	−13.0
17	〃	副田	5.74	72.29	3.65	45.93	−37.0
18	〃	進東	5.54	88.00	3.75	59.57	−32.4
19	〃	〃	5.63	125.49	3.29	68.87	−41.5
20	〃	〃	6.95	102.50	3.88	58.20	−43.0
平均値			9.25	98.04	7.45	77.06	−21.7

第27図　Farbkurve

（(1)＝原理(1), (2)＝原理(2)
No. は試験例番号を示す）



第五章　総括並びに考按

以上の実験成績を総括し，尿インヂカン定量上の諸問題，就中不確実なる定量値を得るに至る諸原因に就いて考按するに，

1. 定量値に及ぼす反応時間の影響及び三種定量術式の評価に就いて

反応時間の延長に伴う Ti 値上昇曲線（第7図）が示す如く，尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合反応は術式(1)では比較的速かに，術式(2)では不規則に又術式(3)では最も緩慢に進行し，原理を同じくする Stufo. 値は各術式とも夫々2時間値が最大値を示した．然して三種術式中，術式(1)の2時間値が全成績中の最高値を示し，然も2時間値と1時間値との誤差が最も僅少で4％内外である事から，尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合は術式(1)によれば少なくとも反応時間2時間で完結せしめ得るものと推定され，従つて尿インヂカン定量術式として術式(1)が最優秀である事が実証される．

反応時間の短縮に伴う Stufo. 値低下の原因に関して注目すべき成績は，術式の如何を問わず反応時間の短縮に伴い益々濃厚に出現し且つ水洗によつて消褪しない脱水「ク」浸の青色乃至紫色色調の本態である（第4表）．Jolles[15]は Jolles's 反応に於いては反応時間を短縮すると青藍が化生される点を指摘し Jolles 氏法では反応時間を2時間に延長している．私も又 Jolles's 反応及び Jolles・竹内・反応に準拠して実施した Ti の製出実験及びインドオキシル酸からする Ti の合成実験に於いて Ti の他に青藍が同時に「ク」浸中に抽出されて居る事実を確認したのであり，敍上の青色乃至紫色色調の本態は「ク」浸中に抽出された青藍と認定される．即ち反応時間の短縮に伴う Stufo. 値低下の原因は単に Thymol-indoxyl 縮合が未完結であるのみならず，青藍の化生を促進する結果に基因する事が判明する．然して適量の青藍が Ti と同時に混在する事は，却つて脱水「ク」浸の赤褐色色調を増強する結果となり原理(1)による比色値増強の主因となり，過量の青藍の混在は遂に原理(1)による比色を不能に陥らしめる結果となつた（第4表）．

反応時間を2時間とせる Jolles 氏法[15]は Jolles's 反応を採用せる諸家インヂカン定量法の基本術式となり一般に其の確実性が高く評価されて居る所であるが，Schlierbach[30]は三塩化醋酸含有尿では Jolles's 反応は反応時間30分で既に不全酸化を防止し得るとし又 Zacherl[27]，竹内[40]は Jolles's 反応がインヂカン定量原理として著しい遜色のある事を指摘している．此等の諸家業績を Jolles 氏法に準拠せる術式(3)の Stufo. 値に就いて検討するに，術式(3)の2時間値が術式(1)の2時間値に比し実に－59.3～－58.7％（第5表 No. 1），－55.7～－50.9％（第8表）及び－62.6～－70.7％（第12表，尿中三塩化醋酸濃度10％時）に達する著しい Ti 値低下率を認める私の成績は Jolles's 反応では反応時間を2時間に延長するも尚お尿インヂカンの 1/2～1/3.5 量を定量し得るに過ぎない事を実証したものと云うべく，従つて Jolles's 反応を応用せる諸家の尿インヂカン定量法[15)16)17)18)22)23)30)31)]には基本的に著しい定量値低下を招来せしめる要因が存在する事が指摘される．然して術式(3)による著しい Ti 値低下の主因は術式(3)と術式(1)の基本的相違点が酸化剤にある事から術式(3)の Obermayer,s 試薬が術式(1)の竹内氏試薬に比し Thymol-indoxyl 縮合剤として著しい遜色があり0.5％ Obermayer's 試薬では反応時間を2時間に延長するも尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合は完結するに至らない点に存在するものと認められる．

Jolles・竹内・反応を採用せる遠藤氏法では反応時間を2～3分間で完結せしめているが遠藤氏法の確実性を同氏法に準拠せる術式(2)の Stufo. 値に就いて検討するに，術式(2)の2時間値は術式(1)の2時間値に比し－16.4～－19.5％（第5表 No. 1）の Ti 値低下を認めるのみならず，反応時間の延長に伴う Ti 値上昇曲線は著しく不規則であり且つ同一試験例2例間の誤差も±10％に及ぶ等，術式(2)は術式(1)に比し可成りの遜色が認められる．然して其の原因は術式(2)と術式(1)との基本的相違点であるクロヽフォルムの注加順序に求むべく，即ちクロヽフォルムを発烟塩酸注加前に入れる術式(2)の順序によれば，クロヽフォ

ルム易溶性のチモールの相当量が既にクロヽフォルム層に移行し，発烟塩酸注加後に初めて開始される Thymol-indoxyl 縮合に際して反応媒質に於けるチモール量が不足する結果となり却つてインドオキシル相互の縮合即ち青藍の化生が助成せられ Ti の化生量は相対的に減少する悪条件を促進するものと推定される．Jolles's 反応に於いて反応媒質に於けるチモール量の不足が青藍化生の原因となる事は既に Benzinger[41] の指摘する所であり，術式(2)では反応時間を延長するも尚お脱水「ク」浸に青藍の混在を容易ならしめた成績も以上の推定によつて解明される．

2. 遠藤氏規準液の評価に就いて

遠藤氏規準液の Farbkurve は S 53 で，Ti「ク」溶液の原理(2)の Farbkurve は S 57 で最もよく吸光するが両者の Farbkurve は極めて近似する（第10図），従つて其の色調に於いては遠藤氏規準液の優秀性が立証される．但し Ti「ク」溶液の原理(2)に於ける比吸光係数は，Ti 濃度として算出した遠藤氏規準液の比吸光係数の約3.6～3.7倍（S 53）乃至3.0～3.2倍（S 57）に相当し（実験2の成績），従つて遠藤氏規準液の力価は理論値に比し約3.0～3.6倍濃厚なる事を示す．此の事は術式の如何を問わず原理(2)の2時間値に於いて比色値が Stufo. 値の約1/3.3～1/3.5に過ぎない著しい定量値低下の原因（第5表 No. 3）を解明するに充分である．元来，遠藤氏[21]による遠藤氏規準液の力価決定方法は Ti の純粋結晶に就いて実施したのではなく，竹内氏法[20]によつて測定される尿インヂカン値を基準として決定されたものであり，此の点が遠藤氏規準液の力価を甚だしく濃厚なものにした主因と認められるのであり，以上の考按から竹内氏法では従つて尿インヂカンの約 1/3～1/3.6 量を実測し得るに過ぎない事が間接に証明されたものと称すべきである．

3. 各種酸化剤の評価に就いて

インヂカンを Ti に誘導して定量せんとする諸法[15)16)17)18)22)23)30)31)] に於いては専ら Jolles's反応が適用され，従つて酸化剤は必然的に Obermayer's 試薬が使用され，僅かに1％過硫酸カリ[26]及び竹内氏試薬[21]が使用されたに止まる．

実験3の成績から定量値の高低，原理(1)と原理(2)に於ける定量値誤差の大小及び Farbkurve の相似性の三方面から尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合剤としての各種酸化剤の優劣を評価するに，竹内氏試薬が最優秀であり，0.5％ Obermayer's 試薬，1～5％過硫酸アンモン，4％クロールカルク，10％硫酸銅，1％塩素酸カリ及び3％過酸化水素の順位となる．2％亜硝酸ソーダでは原理(1)に於いて最高値を，原理(2)で第2位の高値を定量し得るも，其の Farbkurve は何れも非定型的であるのみならず対照例に於いて 4. nitrosothymol[42] と推定される多量の黄赤色色素の化生せられるを認める故に亜硝酸ソーダは酸化剤として使用に耐えない．5％塩素酸カリに於いても原理(2)の Ti 値は原理(1)の Ti 値の1/6に過ぎず，其の Farbkurve は何れも非定型的であり脱水「ク」浸中の色素の大部分は Ti と認め難く，従つて5％塩素酸カリも酸化剤として使用に耐えない．竹内氏試薬による Ti 値に対する其他の酸化剤による Ti 値は何れも著しく低値を示し，第2位の Obermayer's 試薬に於いて既に約1/2，第3位の 1～5％過硫酸アンモンで約1/2.5，其他の酸化剤では約 1/3～1/4 を実測し得るに過ぎない．

4. 醋酸並びに三塩化醋酸含有尿に於ける定量値変動に就いて

尿$_1$に於ける醋酸濃度と定量値の関係を検索した業績は文献上見られないが，尿$_3$に於ける Jolles's 反応の増強及び其の増強本態に就いては，尿インヂカン定量上の重要問題として既に Snapper[43]，石神[22]，Sharlit[26] 等の指摘する所であるが，其の見解には著しい相違が認められる．即ち Snapper は尿$_3$に於ける Jolles's 反応の増強本態を新赤色色素の形成によるものと仮想すると共に，Jolles-Rosenberg 氏法[44] の増強度は1.6倍なりと報告す．石神[22]はインヂカン水溶液に於ける

Jolles's 反応の増強度は，被検液中の三塩化醋酸濃度により異なり，三塩化醋酸濃度 2.8 %以上では約3倍にして其の増強本態はチモールと三塩化醋酸との間に生ずる油状物質によると報告し，両氏とも定量値は増強度で補正する必要性を指摘せり．又 Sharlit[26] は Sharlit's 反応は Jolles's 反応の 2.5 倍の増強度を有するとし，其の増強本態を Aethyltrichloroacetate なる有機溶媒が化生される事に帰せんとしている．

実験4の成績は，Ti 値が被検尿中の醋酸又は三塩化醋酸濃度により著明に変動する事実を示した点で注目に価いする．即ち尿$_1$ では Ti 値は尿中醋酸濃度が 0.5 %前後の弱酸性尿で既に最高値を示し，尿中醋酸の過剰は却つて Ti 値の低下を招来することを実証している．此れは主として Ti が醋酸に易溶性であるため，醋酸の過剰は反応母液からの Ti 抽出を益々困難にする事に基因するものと推定される．

反之，尿$_3$ では Ti 値は尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴い増大し，尿中三塩化醋酸濃度が 10%前後の強酸性尿で最高値を示し尿中三塩化醋酸の過剰は Ti 値低下の原因とならないのみならず原理(1)による比色を遂に不可能ならしめる結果となる．此れは Ti が三塩化醋酸に易溶性であるにも不拘，尿$_3$ では反応母液からの Ti の抽出で容易であり且つ尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴うV量の増量により，脱水「ク」浸の赤褐色色調が暗赤褐色乃至暗紫赤色に増強せられる結果に基因する．被検尿を同じくする尿$_1$ と尿$_3$ の最高 Stufo. 値を比較するに，原理(1)による Ti 値は尿$_3$ では尿$_1$ の約1.3倍（第16図）又は約1.7倍（第19図）で平均 1.5 倍の増強を示すが，原理(2)による Ti 値は尿$_3$ では尿$_1$ に比し約 10 %の増強を示すに過ぎない（第19図）．即ち原理(2)の定量値を Ti の絶対値と認定する時は尿$_3$ に於ける原理(1)の定量値は明らかにV量によりて増強された定量値と見るべきである．然して尿$_3$ の原理(2)の最高 Ti 値に対する原理(1)の定量値増強度は約2.7倍（第19図）又は約2.3倍（第10表，術式(1)，No. 1，B浸）で平均約2.5倍となり，Sharlit が指摘した Sharlit's 反応の増強度に一致す．又上述の原理(1)の最高 Ti 値に見られる尿$_3$ の尿$_1$ に対する平均増強度 1.5 倍は Snapper が指摘せる Jolles-Rosenberg 氏法の増強度に概ね一致す．以上の成績から原理(1)による定量値は尿$_3$ では明らかに増強度で補正する必要が認められる．

然るに注目すべきは実験5の成績が示す如く，尿$_3$ に於ける Ti 値は術式，原理及び尿中三塩化醋酸濃度を異にすることにより著しい変動を示すのみならず「ク」浸の水洗方法によりて甚だしい相違を招来する事である．即ち水洗2回のA浸では術式，原理の如何を問わず Ti 値は尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴う脱水「ク」浸中のV量の増量と共に増大し遂に尿中三塩化醋酸濃度 80 %に於いて最高値を示す事であり，其の定量値増強度は尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴いて増大し，原理(2)に於ける定量値増強度は原理(1)に比して高く，又術式(3)即ち Jolles's 反応に於ける定量値増強度は術式(1)に比し異常の高率を示す．

A浸のV量（紫色色調濃度）は爾後3回の水洗により徐々に消褪しB浸ではV量は術式の如何を問わず尿中三塩化醋酸濃度10%以下の試験例では脱水「ク」浸中に明瞭なる紫色色調としては認め難い存在となるも尿中三塩化醋酸の高濃度の試験例では尚お之れを認め得る．

実験5の成績（第10表）が示す如く，Ti値の最高値はA浸に於ける術式(1)，原理(1)による 28.65mg%（S 50）又は 22.28mg%（S 57）で，最低値はB浸に於ける術式(3)，原理(2)による1.25mg%（S 57）又は1.43mg%（S 53）であり両者間に見られる定量値の驚異的な誤差は実に尿$_3$ に於ける三塩化醋酸濃度，術式，原理及び「ク」浸の水洗回数を夫々異にする諸要因によつて招来されたものである．然して第10表の成績中，最も正確なる Ti 値としてはV量による定量値増強が考慮されない条件下の最高 Ti 値即ち術式(1)，原理(2)，尿中三塩化醋酸濃度 0.5 %に於けるB浸に就いて

測定し得たる 5.95mg％（S 57）と認定される.

術式(3)即ち Jolles's 反応のインヂカン定量原理としての遜色は尿$_3$に於いても指摘されるのであり尿中三塩化醋酸濃度10％に於けるTi 値は術式(3)では術式(1)の約 1/3～1/3.5に過ぎない（第10表）. 以上の成績は単に尿$_3$のみならず[22)23)30)], 三塩化醋酸除蛋白濾液にJolles's 反応を適用している諸家血液インヂカン定量法[22)43)44)45)46)47)48)]には甚だしい定量値の低下を招来する重大欠陥が存在している事を示すと共に, 被検液中の三塩化醋酸濃度を増加するか又は「ク」浸の水洗回数を省略する手段によつて定量値を不当に増強せしめ得る事実を示している.

次に尿$_3$に於けるTi値増強の主因と認められるV量の本態に就いて考按するに, 尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴うV量の増量曲線（第16図, 第20図, 第21図）と「ク」浸層の溶量及び分離洗液量の増量曲線（第18図）の三者が相似した曲線を示す成績から, A浸即ち水洗不充分なる「ク」浸のV量は, 一部に於いて脱水「ク」浸中に含有される微量の塩酸及び三塩化醋酸による Ti の呈色反応（青紫色及び紫色）が考慮される. 但し Ti の対塩酸又は対三塩化醋酸呈色によるTi「ク」溶液の紫色着色は水洗により直に消失する（第一編, Ti の理化学的性状参照）に対し, A浸の紫色色調は水洗により徐々に消褪し且つ紫色色調が残存しているB浸に於いてはクロロフォルム以外の特有なるエステル様芳香が感得され, 斯る芳香はV量の増量に伴いて強く然も尿$_1$では尿中醋酸濃度80％の試験例に於いても認められない等の諸事実から推察するに, 尿$_3$のB浸のV量の本態は敍上のエステル様芳香性物質の形成に基く Ti の呈色反応（紫色）によるものと推定され, 本物質はSharlit's 反応の増強本態として Sharlit が指摘した Aethyltrichloroacetate なる有機溶媒と同類のものゝ如く考えられる.

以上の成績が明示する如く, 尿$_3$に於けるTi 値の増強度は尿中三塩化醋酸濃度, 術式, 原理及び「ク」浸水洗方法により著しく不定で, 正確なる補正値を求め難く, 正確なるTi値は尿$_1$に於いて測定すべきである. 但し尿$_1$を使用する欠点は, 尿$_3$に比し Ti の抽出に遜色があり, 尿$_3$では第2回 Ti 抽出量は第1回抽出量の約10％であるに対し尿$_1$では約20％を示す点である（第7表, 0.5～10％間).

5. 尿清澄剤による定量値低下に就いて

Bleiessigfällung による尿インヂカン損失に関し Ellinger[7)], Porcher-Hervieux[49)], Schlierbach[30)] は之れを否定するも Böhm-Grüner[29)] は －38～－58％の驚くべき損失率を報告す. 又 Eucker[31)] は －15～－40％の損失率を報告すると共に損失量相当量のインヂカンを沈澱中に発見している.

以上の諸家業績を実験6の成績から検討するに, 醋酸鉛及び塩基性醋酸鉛により Ti 値は明らかに低下するが, Ti 値低下率は清澄剤の種類及び容量によりて異なり, 同容量の清澄では醋酸鉛による低下率が高率を示し, 1/10 容量の清澄では Ti 値低下率は 1/20 容量清澄時の約3.5倍に相当し, 原理(1)に於ける Ti 値低下率は原理(2)に比し高率を示す.

沈澱中のインヂカン発見率は原理(2)に於いて高率を示す. 実証し得たる1/10容量清澄時の Ti 値低下率（－15～－36.4％）並びに原理(2)による発見率（84.7％）は概ね Eucker の報告に一致する成績を得た. 原理(1)又は原理(2)に於ける Farbkurve の定型的曲線との相似性並びに原理(1)と原理(2)の Ti 値間の誤差の比率に於いても原尿と清澄尿の両者間に於いて大差なく, 清澄剤使用は徒らに尿インヂカンの損失を招き定量値低下の重要原因となるのみであり, 既に Böhm-Grüner[29)] の指摘する如く清澄尿を使用する旧来の各種インヂカン定量法の確実性は否定されるべきであり稀釈尿が使用されるべきである.

沈澱中のインヂカン発見率は沈澱の処理方法によりて著しく異なり, 90％アルコールによる沈澱処理の場合は発見率は極めて良好で, 其の Farbkurve は Ti の定型的曲線に最も近似する事は注目に価いする.

6. 原理(1)及び原理(2)に於ける定量値間の誤差に就いて

Jolles's 反応に於ける「ク」浸中の色素を単一なる Ti のみであると主張せる Jolles[15] に対し竹内[40]は二種以上の有色物質の混成体ならん事を指摘し，私も又 Ti の製出実験に於いて Jolles's 反応及び Jolles・竹内・反応の呈色物質は Ti のみでなく青藍及び本態不明の非結晶性褐色色素の混合体である事を実証したのであるが，実験1，実験3，実験4，実験5及び実験6の成績を通じて同一脱水「ク」浸に於ける Stufo. 値（2時間値）が原理(1)の Ti 値に対し原理(2)の Ti 値に於いて不定の低下率を示す事が常見された．就中，三塩化醋酸含有尿に於ける原理(2)の Ti 値低下率は最も高率（2.5：1）を示し，其の主因がV量の増量に伴う原理(1)の定量値増強にある事は既述の如くである．然るに弱醋酸酸性稀釈尿に於いても術式，酸化剤及び清澄法の如何を問わず原理(2)の Ti 値低下率は可成りの高率（−27〜−45％）を示した．以上の成績は即ち，術式，酸化剤及び尿清澄法の如何を問わず，弱醋酸性尿に於ける脱水「ク」浸中の色素は単一なる Ti のみでなく，少なくとも二種以上の色素の混合体である事を意味し，従つて原理(1)又は原理(2)による Ti 値の何れを以つて Ti の絶対値と認めるかがインヂカン定量上の重要問題となる．然して脱水「ク」浸の原理(1)及び原理(2)に於ける Farbkurve を通覧するに，原理(2)の Farbkurve が定型的曲線に最も近似し然も原理(2)に於ける脱水「ク」浸の青紫色は Ti の特有の対塩酸呈色反応である理由から，原理(2)の Ti 値を以つて Ti の絶対値と認める事が適当且つ合理的であると考えられる．但し赤褐色の脱水「ク」浸中に抽出された原理(2)の定量値低下率相当量の Ti 以外の色素の本態が尿インヂカンに由来する色素性の Indogenid であると仮定すれば，原理(1)による Ti 値は尿インヂカンの絶対量を測定する上に重要意義を有するものと称されるべきである．嘗つて尿インヂカンを青藍に誘導して定量せんとする場合，青藍と同時に「ク」浸中に抽出される褐色及び赤色色素をインヂカンに由来する Indogenid と認めるか否かがインヂカン定量上の重要問題として Bouma[50][51] Maillard[10] Ellinger[7]，Obermayer[52]の間で論争された所であるが，尿インヂカンを Ti に誘導して定量せる私の実験成績からも赤褐色の脱水「ク」浸中に同時に抽出され（従つて其の色調は赤色乃至褐色と推定さる）る敍上の Ti 以外の色素を Indogenid と認めるか否かは原理(2)による Ti 値低下率が可成の高率を示す点に於いて特に重要視されねばならない．然して原理(1)に於ける Farbkurve が常に S 43 で最も良く吸光し然も Ti の定型的 Farbkurve と Ti の製出実験に於ける非結晶性褐色色素の Farbkurve の中間型を示す点から敍上の脱水「ク」浸中に存在する Ti 以外の赤褐色類似の色素の本態は私の製出実験に於ける非結晶性褐色色素と同一又は同類のものである事が推定される．Urocarmine[53] なる Phenolindogenid はクロヽフォルム不溶解性なる事が報告されているが，Jolles's 反応の Thymol に代るに o・Xylenol 及び P・Xylenol を使用するも Jolles's 反応に於ける如き着色「ク」浸を得る事[39] 及び Jolles・竹内・反応の Thymol に液状石炭酸を代用し得る点[40]，並びに強力なる酸化剤では常尿成分である Kreatinin が Urocarmine 反応を与える報告[53]は5％塩素酸カリを酸化剤とせる場合に Ti 以外の赤褐色色素が可成り多量に「ク」浸中に抽出される私の成績（実験3）と共に，敍上の「ク」浸中に Ti と同時に抽出されている本態不明の赤褐色色素の化学的本態を推定する上に注目すべき成績であり，私は之れを常尿成分として存在する特殊の Phenul 誘導体と尿インヂカンに由来するインドオキシルの縮合によりて生じたクロヽフォルム溶解性の Indogenid ならんと推定するものであり，従つて原理(2)による Ti 値を以つて Ti の絶対化生量と認めると共に，原理(1)による定量値を以つて尿インヂカンに由来する Ti を含む凡ての赤褐色の Indogenid の総化生量を Ti

値として表現せるものと認めんとするものである.

7. 正常尿インヂカン値より見たる各種インヂカン定量法の評価に就いて.

実験7の成績の如く，私の新法によれば尿インヂカンの正常一日排泄量は 43〜158mg (原理(1)) 又は 30〜137mg (原理(2)) となり，少数例では原理(1)及び原理(2)に於ける Farbkurve が夫々 Ti の定型的 Farbkurve に一致し両者間の定量値が殆ど一致する成績を得た. 就中，私が実測し得たる正常尿インヂカン値は従来の定説 (最高 40mg) を遙かに超過する結果となり，原理(1)による定量値は文献上最高値を報告せる Sharlit[26] の成績に，又原理(2)による定量値は Böhm-Grüner[29] の成績に殆んど一致した. 尿インヂカンの定量原理は Jaffé による最初の定量法発見以来，何れも原則的にインヂカンを色素性の Indogenid に誘導して定量せんとするものであり，Indigo (Diindogenid)[1)2)3)5)7)8)9)13)20)27)], Indigorot (Isatinindogenid)[6)10)11)], Thymolindogenid[15)16)17)18)21)22)23)26)30)], Ninhydrinindogenid[25)], Acenaphthenchinonindogenid[14)] 及び Hexylresorcinolindogenid[28)29)31)] に誘導せんとする方法が創案されている. 此等の Indogenid の内，実際に尿からの製出が行なわれ其の化学的本態が確認されているものは Indigo[54)] 及び Indigorot[55)] の両者に過ぎないのであるが，其他の Indogenid に誘導している定量法に於いても其の呈色物質が恰も尿インヂカンに由来する単一なる Indogenid であるかの如き仮定の下に定量が実施されて居り，斯る事実は新微量定量法として其の優秀性が注目されている Sharlit 氏法，Schlierbach 氏法，Böhm-Grüner 氏法及び Eucker 氏法の本質的な欠陥として指摘されねばならない.

私が創案した新法の特色は Jolles's 反応の化学反応式を尿に於いて確認せる実験根拠並びに定量値低下又は増強の諸要因を系統的に検索せる一連の実験成績に基いて創案したものであり其の確実性を強張するに足り，就中，脱水「ク」浸中の色素の種類を分別して原理(2)に於いて Ti の絶対値を選択的に定量し，原理(1)に於いて Ti を含む総ての尿インヂカンに由来する可能性のある赤色乃至褐色の Indogenid の総量をも窺知せんとする点は従来の定量法には見られない特色を有している.

臨床的簡易定量法としては術式(1)，原理(2)により遠藤氏規準液を使用する比色定量法が推奨されるが，此の場合は其の定量値は 3.1 を乗じて補正するを要す.

私の新法によりて実測された正常尿インヂカン値から推定するに各種定量法中，新法に属する Sharlit 氏法[26)]，Schlierbach 氏法[30)]，Böhm-Grüner 氏法[29)] の実用性は支持されるべきも，此等三法の基本的な欠陥は既述の如く，其の呈色物質の化学的本態が未だ尿に於いて確認されていない事である. 然して Sharlit 氏法は術式が複雑なるのみならず其の呈色本態 (紫赤色) は Ti の理化学的性状 (第一編参照) 及び V 量の本態に関する既述の成績から推定するに，少なくとも Ti の対氷醋酸 (赤朱色)，対塩酸 (青紫色) 及び対三塩化醋酸 (紫色) の三種の呈色反応による複雑なる混色状態にあるものと推定され，従つて Ti の濃度測定方法としては良好なるものとは称し難い. Schlierbach 氏法は術式は簡単なるも三塩化醋酸含有尿に Jolles's 反応を応用し然も反応時間を30分間に短縮している点は，少なくとも尿中インヂカン総量の 1/2 以上を Ti に誘導する事は困難と推定される (総結及び考按の1及び4. 参照). Böhm-Grüner 氏法は術式は簡単なるも，定量原理として採用せる Rose-Exton's 反応の呈色物質とされている Hexylresorcinolindogenid[28)29)] の理化学的性状は今日未だ不明にして，且つ酸化剤 $CuBr_2$ に難色のある事から後来之れを1% Obermayer's 試薬に改変せる Böhm 氏法[32)] が発表されるに至つている.

然して旧法に属する Jaffé's 反応，Obermayer's 反応，Jolles's 反応及び竹内氏反応等を定量原理とする従来の大多数の定量法によつて測定し報告された正常インヂカン値は私

が実証し得た定量値の1/3乃至1/6に過ぎず(第1表)，此等の諸法には甚だしい定量値低下を招来せしめる諸要因が存在し其の実用性は殆んど否定されるべきものであると思考されるのであり，斯る理由から旧来の定量法によつて究明されたインヂカンの臨床的意義に関する広範な研究業績は更めて確実性ある定量法によつて再検討されるべき必要性が痛感される次第である.

第六章 結 論

1. Jolles's 反応及び Jolles・竹内・反応を中心に，尿インヂカン定量値変動の諸原因を系統的に究明し，尿インヂカンの絶対量を略々満足に測定し得る新微量定量法を創案した.

2. 新法により健康人24時間尿に就いて得たる正常インヂカン値は次の如く従来の定説に比し驚異的高値を示した. 但し原理(2)による定量値を以つて純粋に Ti のみに誘導し得たるインヂカン量と認め，原理(1)による定量値を以つて Ti を含む其他の Indogenid に誘導し得たる総インヂカン量とする.

(1) 正常一日排泄量mg：

最高 158.0 (原理(1))～137.0 (原理(2))
最低 42.5 (〃 〃)～ 29.8 (〃 〃)
平均 98.0 (〃 〃)～ 77.0 (〃 〃)

(2) 正常濃度mg%：

最高 22.7 (原理(1))～ 19.7 (原理(2))
最低 2.5 (〃 〃)～ 1.8 (〃 〃)
平均 9.3 (〃 〃)～ 7.5 (〃 〃)

(3) 原理(1)の定量値に対する原理(2)の定量誤差は ＋2.2～－43.0 %で平均－25.7%である.

3. 究明し得たるインヂカン値変動の諸原因は次の如し.

(1) 尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合は徐々に進行し，Ti 値は反応時間の延長と共に増大するが術式(1)即ち竹内氏試薬では反応時間2時間で完結せしめ得る.

(2) 反応時間の短縮に伴う Ti 値低下の原因は Thymol-indoxyl 縮合が未完結であると同時に青藍の化生が助成せられるによる.

(3) Jolles's 反応の尿インヂカン定量原理としての確実性は甚だ不良にして，2時間値に於いて既に－51～－71%の定量値低下を招来す. 其の主因は Obermayer's 試薬による不全酸化に基因す.

(4) 遠藤氏法に於けるクロヽフォルムの注加順序は青藍の化生を助成し Ti の化生量を相対的に減少せしめる結果となり，2時間値に於いて既に－20%の定量値低下を招来す.

(5) 遠藤氏規準液は其の色調に於いて優秀なるも，其の力価は理論値の約3倍～3.6倍に相当し著しく濃厚である. 其の原因は力価決定に際し遠藤氏は竹内氏法によるインヂカン値を基準とした事による.

(6) 尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合剤として竹内氏試薬は最優秀であり，1%塩素酸カリ，3%過酸化水素，1～5%過硫酸アンモン，4%クロールカルク及び10%硫酸銅の酸化縮合能力は同一条件下では竹内氏試薬の1/2以下に過ぎない. 亜硝酸ソーダは 4. Nitrosothymol を化生せしめるを以つて使用に耐えない.

(7) 清澄剤による尿インヂカンの沈澱率は清澄剤の種類及び容量によりて異なる. 20%醋酸鉛又は20%塩基性醋酸鉛の1/10容量清澄では夫々26.0～36.4%又は15.4～31.4%であり，1/20容量清澄では前者の約1/3.5の沈澱率に過ぎない. 沈澱量の83～94%に相当するインヂカンは沈澱中に発見される.

(8) 被検尿，術式，酸化剤及び清澄法の如何を問わず脱水「ク」浸の Farbkurve は大多数に於いて定型的曲線に近似するも完全には一致せず原理(1)による Ti 値は原理(2)による Ti 値に比し不定の増強を示す. 其の主因は尿に於ける Thymol-indoxyl 縮合に際しては青藍の化生を防止するも尚お Ti の他にクロヽフォルム

溶解性の褐色色素が化生せられるによる.

(9) 三塩化醋酸含有尿（以下尿$_3$）に於けるTi値測定に際しては「ク」浸を頻回に水洗するを要す. 然らざる時は尿中三塩化醋酸濃度の増加に伴い紫色色調（V量）が赤褐色の脱水「ク」浸中に濃厚に出現しTi値は尿中三塩化醋酸濃度の増加と共に増強せられ, 80%濃度で驚異的高値を示す結果となる.

(10) 尿$_3$に於けるTi値増強の主因は脱水「ク」浸中に出現する紫色色調（V量）であり其の本態はTiの対塩酸及び対三塩化醋酸呈色反応（青紫色及び紫色）による以外に, エステル様芳香性物質の化生によるTiの呈色反応（紫色）に基因するものゝ如し.

(11) 醋酸含有尿（以下尿$_1$）に於けるTi値は尿中醋酸濃度が0.5%前後の弱酸性尿で最高値を定量し得る. 尿中醋酸の過剰は却つて反応媒質からのTiの抽出を困難ならしめ定量値低下の原因となる.

(12) 尿$_3$に於けるTi値は尿中三塩化醋酸濃度が10%前後の強酸性尿で最高値を定量し得る. 尿中三塩化醋酸の過剰はV量の増量に伴う脱水「ク」浸の色調増強により定量値低下の原因とならず却つて定量値増強の原因となる.

(13) 同一尿に於ける最高Ti値は, 原理(2)では尿$_1$と尿$_3$の両者間で大差なきも, 原理(1)では尿$_3$に於いては尿$_1$の約1.5倍に増強せられる.

原理(2)の最高Ti値に対する原理(1)の定量値増強度は尿$_1$で平均1.3倍, 尿$_3$では平均2.5倍である.

(14) 尿$_3$に於けるTi値は増強度で補正するを要す. 但し其の増強度は術式, 原理, 尿中三塩化醋酸濃度及び「ク」浸水洗の方法により不定にして正確なるTi値の測定を期待し難い.

(15) 最高Ti値に於けるTiの第1回抽出量に対する第2回抽出量は尿$_1$で約20%, 尿$_3$では約10%であり, Tiの抽出は尿$_3$で良好である.

(16) 原理(1)の最高Stufo.値に対する比色値の増強率は尿$_1$で約5%, 尿$_3$で約10%である.

4. 究明し得たるインヂカン定量値変動の諸原因並びに正常尿インヂカン値に関する以上の結論からJolles's反応を採用せる各種インヂカン定量法又は清澄剤を使用する旧来の大多数のインヂカン定量法には著しい定量値低下の原因が存在するものと認められる故に, 此等の定量法によつて究明された従来の尿インヂカンの臨床的意義に関する諸業績は確実なる新法によりて再検討する必要性が強調される.

（本論文の一部要旨は昭和30年度第41回日本消化器病学会大会に於いて発表した.

本研究は昭和18年1月から昭和20年5月に至る間, 満洲医大生化学教室で行つた. 誌上発表の機会を得たるに際して特に当時御懇篤なる御指導を頂いた戸田茂教授に深謝し, 御教示並びに御校閲を頂いた平木潔教授並びに水原舜爾教授に厚く感謝致します).

文　献

1) Jaffé Arch gesam. phys. Pflügers., **3**, S. 448 (1870)

2) Salkowski Virchows Arch. f. path. anat., Bd. **68**, S. 407 (1876)

3) Obermayer: Wiener klin. Rdsh., Nr. **34**, S. 12 (1898)., Hoppe-Seyler's Z., Bd. **26**, S. 427 (1898)

4) Wang Hoppe-Seyler's Z., Bd. **25**, S. 406 (1898)

5) Wang Hoppe-Seyler's Z., Bd. **27**, S. 135 (1899)

6) Bouma Hoppe-Seyler's Z., Bd. **32**, S. 82 (1901)

7) Ellinger Hoppe-Seyler's Z., Bd. **38**, S. 178 (1903)

8) Imabuchi Hoppe-Seyler's Z., Bd. **60**, S. 502 (1909)

9) Strauss: Dtsch. med. Wochschr., S. 299 (1902)

10) Maillard : Hoppe-Seyler's Z., Bd. 41, S. 437 (1904)
11) Oerum . Hoppe-Seyler's Z., Bd. 45, S. 459 (1905)
12) Autenriet u. Funk : Münch. med. Wochschr., S. 691 (1912)
13) Stanford . Hoppe-Seyler's Z., Bd. 88, S. 47 (1913)
14) Fischer u. Huppmann · Pharm. Ztg., Bd. 76, S. 810 (1931)
15) Jolles : Hoppe-Seyler's Z., Bd. 94, S. 79 (1915)
16) Heilmeyer : medizinische Spectralphotometrie, Monogr. (1936)
17) Baar Die Indicanurie, ihre Bedeutung als Nierenfunktionsprobe., S. 7, (1922)
18) Eick · Dtsch. Zeit. f. Chirurgie., Bd. 192, S. 330 (1925)
19) Broeckmeyer : Klin. Wochschr., S. 1713 (1932)
20) 竹内慶次郎：東京医学会雑誌，第37巻，197頁，大正12年
21) 遠藤正治・東京医事新誌，No. 2699, 11—2440, 昭和5年
22) 石神 修・医学研究，第14巻，115頁，昭和15年
23) 上田春次郎：治療及び処方，78号，789頁，大正15年
24) 公文 適：日本生化学会会報，第8巻，4号，136頁，昭和8年
25) 公文 適・Hoppe-Seyler's Z., Bd. 231, S. 205 (1935)
26) Sharlit : J. of biol. chem., 99, S. 537 (1931)
27) Zacherl Hoppe-Seyler's Z., Bd. 220, S. 113 (1933)
28) Rose and Exton : J. of biol. chem., 109, S. 76 (1935)
29) Böhm u. Grüner : Klin. Wochschr., S. 1279 (1936)
30) Schlierbach : Dtsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 180, S. 439 (1937)
31) Eucker . Zeit. f. ges. exp. Med., 102, S. 589 (1938)
32) Böhm : Biochem. Zeitschr., 290, S. 137 (1937)
33) Wang : Om Indicanurie, christiana., (1900); Cit. 井上[38]
34) 永山正美：成医界月報，No. 340, 22頁 (1910)
35) 須藤憲治：医化学的微量測定法，第3版，242頁，昭和12年
36) Maillard . Bethe., III, S. 279., Cit. 井上[38]
37) Olivet · Klin. Wochschr., S. 2439 (1928)
38) 井上秀人：朝鮮医学会雑誌，第23巻，977頁，昭和8年
39) Jolles : Hoppe-seyler's Z., Bd. 87, S. 310 (1913)
40) 竹内慶次郎・東京医学会雑誌，第31巻，第19号，1197頁，大正6年
41) Benzinger · Zeit. f. ges. exp. Med., Bd. 83, S. 765 (1932)
42) Schiff : Ber. d. chem. Ges., 8, 1500 (1875)
43) Snapper u. Bommel : Klin. Wochschr., S. 718 (1922)
44) Rosenberg Münch. med. Wochschr., S. 117 (1916)
45) Broeckmeyer : Klin. Wochschr., S. 1025 (1933)
46) Böhm u. Grüner . Klin. Wochschr., S. 450 (1936)
47) Schlierbach : Klin. Wochschr., S. 556 (1934)
48) 上田春次郎：体液診断学，第11版，78頁，昭和7年
49) Porcher u. Hervieux : Hoppe-Seyler's Z., Bd. 39, S. 147 (1903)
50) Bouma Hoppe-Seyler's Z., Bd. 27, S. 348 (1899)
51) Bouma · Hoppe-Seyler's Z., Bd. 30, S. 117 (1900)
52) Obermayer : Hoppe-Seyler's Z., Bd. 26, S. 427 (1898)
53) Fearon and Thompson · Bioch. J., Vol. 24, S. 1371 (1930)
54) Baumann u. Tiemann : Ber. d. chem. Ges., 12, 1099 (1879)
55) Rosin . Virchows Arch. f. path. Anat., Bd. 123, S. 519 (1891)

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School.
(Director : prof. Dr. K. Hiraki)

Experimental Studies on the Quantitative Determination of Indican.

Part II. Some experimental studies concerning urinal determination of indican.

By

Tsutomu Shindo

1) Laying emphasis on chemical equation of Jolles's reaction, and systematically examining those causes for mismeasurement happened during urinal determination of indican, I was enabled to find out certain new microestimating method for indican, which would prove somewhat satisfactory.

2) As indicated below, the normal value of urinal indican estimated by new method, have acknowledged certain marvelously high values that have far superseded those theories hitherto known. However, I am to recognize the Principle No. (2) i. e., the quantitative value for indican that was considered to have as its object the colour reaction against the fuming hydrochloric acid, which could purely has enabled to induce it solely into the Thymolindogenide; while, Principle No. (1), i. e., the quantitative value which has for its object the original color of Thymolindogenide, should be recognized as total Indican value, i. e., that was enabled to be induced into every kinds of Indogenide including the very Thymolindogenide:

① Normal amount (mg) of excretion within 24 hours.

highest	158. 0 (Principle No. (1))	~	137. 0 (Principle No. (2)),
lowest	42. 5 (〃 〃)	~	29. 8 (〃 〃),
average	98. 0 (〃 〃)	~	77.0 (〃 〃).

② Normal density mg %

highest	22. 7 (Principle No. (1))	~	19. 7 (Prnciple No. (2)),
lowest	2. 5 (〃 〃)	~	1. 8 (〃 〃),
average	9. 3 (〃 〃)	~	7. 5 (〃 〃).

③ Misestimation in quantitative value shown by Principle No. (2) to that of Principle No. (1) is estimated as +2. 2 ~ −43. 0 %; average, −26. 7 %.

3) Various stimulants to give rise to mismeasurement on the side of indican at its quantitative determination that have been able to investigate, were as follows.

① The condensation between the thymol and indoxyl in the urine increasing at a gradual ratio, and the quantitative value shows a proportional increase as time for reaction lengthens; yet, if the reagent due to Takeuchi (Estimating method (1)) should be used, it may come to an end after two hours' reaction.

② The descent in estimation owing to a shortening of reactionary time may roughly be ascribed to the fact that while the condensation between the thymol and indoxyl remains incomplete, the formation of indigo undergoes certain stimulas.

③ If one might consider the certain of Jolles's reaction as a principle for indican estimation, it would be told as very unsatisfactory · in fact, even after 2 hours of reaction, already it has been seen to have given rise to so marked a difference as −51 ~ −71%. Altogether, the chief cause will be pointed out as the incomplete

oxidation owing to Obermayer's reagent.

④ Order in adding chloroform according to Endō's method, assists to formulate Indigo, but in the same degree affects to decrease to formulate the Thymolindogenide; so that, in 2 hour's reactionary course, it brings about already −20% misestimation.

⑤ Endō's standard solution, though excellent in its tint, its titer value amount even to 3 or 3.6 times larger than its theoretical value, being remarkably dense. This may take place, perhaps, when he decided on titer, Mr. Endō employed for standard the indican value estimated by Takeuchi's method.

⑥ For an urinal oxidizing agent between the thymol and the indoxyl I might mention that of Mr. Takeuchi as best of that kind. The oxidizing agent indicated by 1% potassium chlorate, 3% hydrogen peroside, 1~5% ammonium persulphate, 4% chlorinated lime, 10% copper sulphate, under the same conditions, only cope with 1/2 power proved by Takeuchi's, at most. Whereas, sodium nitrit cannot stand to be used because apt to produce some nitrosothymol.

⑦ The precipitation rate due to precipitator attributed to urinal indican proves different according to the kinds as well as volume of precipitators. In case 1/10 volume of 20% lead acetate solution or 20% basic lead acetate solution has been added, the precipitation rate proves respectively 26~36.4% or 15.4~31.4%; in case 1/20 volume has been added only the rate 1/3.5 of the former would be seen. The rate of discovery of precipitated indican nearly corresponds to 83~94% of the entire quantity.

⑧ Extinction curve for the dehydrated chloroform-extract, no matter what kind of test urin, technic, oxydizing agent or precipitator may be emplyed, would come so near the typical curve for Thymolindogenide, yet not so perfectly; the quantitative value due to Principle No. (1) indicating certain indefinite increase, compared to that of Principle No. (2), the cause of which rests with the fact that when the Thymol and Indoxyl in urin condense themselves, though taking care not to formulate the indigo, there will be given birth to certain brown pigment soluble to chloroform, besides the Thymolindogenide.

⑨ When the Thymolindogenide in the urine containing the trichloroacetic acid (urin T.) is estimated, frequent washing of chloroform-extract may be necessary. Or else, the quantitative value indicates an abnormally high value, because of an increase in color tone caused by dehydrated chloroform-extract that has resulted from the increase of urinal trichloroacetic acid; so that one would have a marvelously high value at 80% density.

⑩ The main motive for an increase in estimative value in urine T. is ascribed to those violet or reddish-violet tone that appear within reddishbrown dehydrated chloroform-extract. Its real state might be deemed, not only to depend upon the color reaction effected by Thymolindogenide against hydrochloric acid as well as trichloroacetic acid, but also due to certain color reaction shown by Thymolindogenide owing to a new appearance of certain ether-like aromatic substance.

⑪ The estimation for urine containing the acetic acid (urine A.) proved that the highest value was reached when urinal acetic acid had indicated about 0.5% density; too much acetic acid found in the urine is apt to make difficult the extraction of the Thymolindogenide due to Chloroform, and leads to lower its

value.

⑫ The estimated value for urine T. has proved maximum at about 10% density of urinal trichloroacetic acid; the overmuch amount of urinal trichloroacetic acid, aided by a strengthened color tone maitained by chloroform-extract, rather serves to enhance the estimation.

⑬ The highest value indicated by Thymolindogenide in one and same urine, shows slight difference between urine A and urine T, in the light of principle No. (2); however, as to Principle No. (1); the latter undergoes about 1.5 times increase that of the former. Also, the value for Principle No. (1) against the highest value proved by Principle No. (2), amounts to in average 1.3 times in case of the former, but 2.5 times (in average) in the latter.

⑭ The estimation value in urine T. should be corrected owing to a degree of increase. However, that degree tends to become unsteady due to estimating method, principle for the same, density of trichloroacetic acid or washing-method of chloroform-extract and so on; so reliability could not be expected.

⑮ The secondary extracted amount of Thymolindogenide for the 1st one which indicated greatest amount has proved, about 20% in case of urine A, 10% in urine T.; the extraction of Thymolindogenide proving better in latter case.

⑯ The estimation mistake shown in Principle No. (1) due to stufenphotometry and colorimetry indicates as about 5% (urine A) and about 10% (urine T) increase in the latter.

4) From the above results as to the causes for misestimation of indican quantity, as well as about normal indican value, it was vindicated that there exists certain strong factors to lower the value in various estimation method for indican where Jolles's reaction deemed as it principle, as well as in such old-fashioned method in which precipitators are used; at the same time, the necessity for re-examination for those various achievement as to clinical significances of urinal indican thus clarified hitherto, by using new method, has become urgent.