

ジエチルジチオカルバミン酸ソーダによる 蠶卵中の銅の定量

阿久津 伊平

(昭和27年9月5日受理)

Thei AKUTSU : DETERMINATION OF COPPER IN SILKWORM EGGS BY
SODIUM DIETHYLDITHIOCARBAMATE

生物体内に広く分布存在している微量の銅が鉄の Haemoglobin 形成の際に触媒として働くことや細胞呼吸に密接な関係を持つている重要な微量元素であることは一般に認められている処である。又他の微量元素と共に酵素作用にも重大な影響を持つていると考えられている。動物体内で銅の最も集中しているのは肝臓と神経系統であり代謝に於ける其の役割については未だ知られていない点が多い。蚕卵中にも可成の集積があるものと予想して其の定量を試みた処、果して相当に銅含量高きものの一つであることを知つた。蚕、蛹及桑葉の銅成分に関しては先に山崎、田中⁽¹⁾が報告され、蚕卵中の銅含量については赤尾⁽²⁾の報文がある。著者は上記諸氏と異なつた定量法を用いた。

銅に対する呈色反応は非常に多く、従つてその比色定量法も亦数多く發表されている。その中主要なるものを挙げると Dithizone, Na diethyldithio-carbamate, Ammonia complex, Potassium ferrocyanide, Pyridine complex, o-Phenanthroline, Potassium ethyl xanthate, Urobilin, Rubeanic acid, Phenolphthalein 還元法 (Kastle-meyer's reagent) 等によるものがある。著者は Dithizone と共に微量の銅を比色定量する最も優れたものである Na diethyldithiocarbamate 法を用いた。この Carbamate 法は最初 Callen and Henderson⁽³⁾により提案されたのであるが、種々の変法が研究報告されている。この試薬は酸性、中性、アルカリ性何れの溶液に於てもその copper salt を生じて golden brown color⁽⁴⁾ を呈する銅に対する最も鋭敏なものの一つである。この着色銅化合物 copper carbamate は水に極めて難溶性でアラビアゴムを使用して水溶液中に colloidal suspension となして比色するのである。Fe, Zn, Al等の妨害作用も十分にアムモニア性にするによつて防ぐことが出来る。尙この copper carbamate は四塩化炭素、アミルアルコール、醋酸アミル等の様な有機溶媒⁽⁵⁾に可溶性であるから之等を使用して抽出すれば更に感度を増大させることが出来る。

実験方法⁽⁶⁾

試料適量を精秤して 500cc Kjeldahl flask に移し 10cc の濃硫酸を加え注意して徐々に小炎で加熱し、半流動体になる迄溶解せしめる。有機物の炭化が完成したら放冷して 5cc の濃硝酸を注意して少量宛加える。この際激しい反応が起ることがあるからよく注意する。褐色の発煙が止む迄静に加熱する。この硝酸処理を数回繰返したる後、注意して 60%過塩素酸 10cc を加え白煙が出る迄静に煮沸し液の色が無色透明になる迄加熱を続ける。冷却後約 3 倍容の水で稀釈し、再び白煙の出る迄加熱して放冷する。約 500cc の水で稀釈し溶液が不溶解物を含む場合は煮沸してから濾過し熱水でよく洗滌する。この溶液を銅の定量に供する。

本定量に使用する試薬は copper-free の分析用最純品を使用し、蒸留水も再蒸留した。

試薬：水酸化アムモニウム、比重 0.90

Sodium diethyldithiocarbamate solution 1.0g を 1 l の copper-free の水に溶解し、着色瓶に入れ冷暗所に置く。

Standard copper solution. 市販最純品を再結晶精製した $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.3928g を水に溶解し、硫酸 1 cc を加えて 1 l に稀釈する。之を 10 倍に稀釈した溶液 1 cc は 0.01mg の銅を含有する。

Gum arabic solution, 5% 水溶液。

実施：試料溶液をビーカーに採り litmus paper に微アルカリ性を呈する迄水酸化アムモニウムを加える。2 cc 過剰に加え煮沸し、Al や Fe の水酸化物の沈澱が完成する迄 steam bath 上に少くとも 1 時間置く。100cc Nessler tube 中に濾過し熱水でよく洗滌する。冷却したこの溶液に 1 cc の 5% アラビアゴム溶液、10cc の水酸化アムモニウム、10cc の Na diethyldithiocarbamate solution をこの順序に加える。標線迄稀釈してよく混和する。もう一つの 100cc Nessler tube に等量の同じ試薬を前と全く同様に加え、約 90cc 迄稀釈しよく混和する。之に Standard copper solution を 10cc buret (1/100cc に刻度せるもの) より滴加して発色せしめ、その色が同じ容積にまで稀釈した時、試料溶液のものと一致させる様にする。試料溶液が 1~5 cc の Standard copper solution に当量の銅を含有する時、最良の結果が得られる。

実 験 結 果

次表は以上の方法により定量した結果を示すものである。

| 試 料 | 採 取 量 | 銅 | 備 考 |
|----------|---------|------------|-------------|
| 蚕 卵 | 1.5455g | 20.06p.p.m | 新鮮物 (長光×信和) |
| 蛹 | 1.6593 | 15.07 | 乾 物 |
| 桑 葉 | 2.4222 | 8.26 | 乾 物 (80°C) |
| クヌギの葉 | 2.4501 | 10.61 | 〃 〃 |
| 白色 繭 屑 | 5.0432 | 2.38 | 目 115×支 108 |
| 〃 | 5.7019 | 2.46 | 〃 |
| 黄色 繭 屑 | 4.9993 | 2.80 | |
| 天 蚕 繭 屑 | 5.0047 | 3.40 | |
| ヒマ 蚕 繭 屑 | 4.9956 | 3.80 | |

考 察 並 に 要 約

即ち蚕卵中の銅は蛹よりも多く、乾物量では 57p.p.m. (水分 65%) に達する。赤尾昆⁽²⁾により定量された 4.35p.p.m. (新鮮物)、13.08p.p.m. (乾物) よりも高い数値が得られた。従来の文献に出ている他の試料例えば牛肝臓 21.5、牛腎臓 10.6、牛赤血球 5.5、人体の赤血球 19.7、蝸牛 14.7 (何れも新鮮物) に比較して蚕卵は銅含量の相当高いものの中に属しているということは注目すべき事実である。クヌギの葉は天蚕の食するものであるが、桑よりも銅が多い。

蛹、桑葉の数値は山崎、田中⁽¹⁾のものと略等しい。繭屑に就いては定量された報告は未だない様である。有色の繭の方が白色の繭より高い値を示している。之は銅が色素の形成、並に沈着に関係すると言われていることを立証するものではなからうかと推察される。

O. FRENANDEZ and M. SANTAOLALLA⁽⁷⁾ は生物体に於ける銅の生物学的役割とその含量を調査し *Cetonia aurata* (甲虫の一種) の翅鞘の有する brilliant metallic color はその中に多量に存在する銅 (37.4p.p.m.) によるものであり、鳩の bronze feather 中の銅含量 (13.7p.p.m.) が gray feather 中の銅 (12.2p.p.m.) より少し高いのも亦銅による影響であろうということを示した。之と関連した様なことが繭の場合についても考えられるのではなからうか。

繭の色素と銅との関係に就ては更に研究を進めている。

本報告をなすに当り貴重なる文献を貸與された本学部長伊藤武男博士、萩原清治博士、並に試料を惠與された山口定次郎教授及び実験上種々の便宜を與えられた繊維化学科教官の諸氏に対し深く御礼申し上げる次第である。

文 献

- (1) 山崎 寿, 田中 八郎, 日蚕, 4, 2 (1933)
- (2) A. AKAO, The Journal of Biochemistry, 30, 2 (1939)
- (3) T. CALLEN and J. A. R. HENDERSON, Analyst, 54, 650 (1929)
- (4) M. PICOTTI and G. BALDASSI, Mikrochemie ver. Mikrochim Acta, 30, 77 (1942)
- (5) L. A. HADDOCK and N. EVERS, Analyst, 57, 495 (1932)
- (6) R. F. MILTON and W. A. WATERS, Methods of Quantitative Microanalysis (1949)
E. B. SANDELL, Colorimetric Determination of Traces of Metals (1950)
F. D. SNELL and C. T. SNELL, Colorimetric Methods of Analysis, II (1949)
D. E. H. FEAR, And. Eng. Chem, Anal. Ed. 11, 494-5 (1939)
G. F. PALFREY, R. H. HOBERT, A. F. Benning, and I. W. Dobratz, And. Eng. Chem, Anal. Ed 12, 94-6 (1940)
I. M. KOITHOFF and E. B. SANDELL, Textbook of Quantitative Inorganic Analysis (1951)
K. RANKAMA and Th. G. SAHAMA, Geochemistry (1950)
化学実験学, I, 10, 分析化学 2
" , I, 12, 地球化学
- (7) O. FERNANDEZ and M. SANTAOLALLA, Chemical Abstracts, 44, 19, 8972-73 (1950)

S u m m a r y

Small amounts of copper in biological materials, such as mulberry silkworm eggs, pupae, and cocoons, have been determined colorimetrically by the use of sodium diethyldithiocarbamate which is one of the most sensitive methods for copper. The organic matter was destroyed by wet-ashing with sulfuric, nitric and perchloric acids.

As determined by the diethyldithiocarbamate method, amounts expressed in p.p.m. of copper were as follows; silkworm eggs 20.06, pupae (dried) 15.07, mulberry leaves (dried) 8.26, *Quercus acutissima Carruther* (dried) 10.61, white cocoon 2.38 (2.46), yellow cocoon 2.80, *Antheraea yamamai* silk cocoon (green) 3.40, eri-silk cocoon 3.80.

It is really a remarkable thing that copper content of silkworm eggs is relatively high. The fact that copper content of colored cocoons are somewhat high as compared with that of white ones suggests the intimate relation between copper and the formation of the coloring matter of the former ones.

(The Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University, Ueda, Japan)