

微量拡散分析法による エタノールの簡易検出法について

理化学検査科 芳 賀 義 昭

I はじめに

極めて微量のエタノールを的確に、速やかに証明する事はなかなか困難である。普通前処理として蒸留操作が行なわれ、精製（不純物の除去）、濃縮の後に証明する方法が採られるが、試料が少ない場合微量のアルコールを蒸留採取するのはかなり面倒な事である。最近ガスクロによる方法が行なわれ、低級アルコール類の分離確認についても種々の報告に接し々々すぐれた方法であると思いが、ガスクロは何時でも、何処でも、と云うわけには行かない。検体が血液のようなもの場合は尙一層不便と困難を感じる。

従来行なわれている色々のエタノールの確認法、例えば

ヨードホルム反応

塩化ベンゾイルによる反応

キサントゲン酸の反応

ジアゾベンゼンスルホン酸による方法

等、何れも反応の特異性を、鋭敏度に一長一短がある。

私はFritz Feigl 氏のSpot testによる微量エタノールの定性試験法を追試してみたが、たまたま微量拡散分析法を併用する事を思いについて利用してみた所、良い結果が得られたので報告する。

II 方 法

試薬

① 20%モルフォリン溶液（用時調製）

② 5%ニトロプルシッドソーダ溶液（用時調製）

③ 1%重クロム酸カリ液（in 5N-H₂SO₄）

器具

コンウエイ標準ユニット

操作

ユニットの内室え、約2cm²大の濾紙片に、試薬①と②を1滴宛重ねて点滴したものを入れ、外室には試薬③と試料を1~2ml、混じらないように採り、ユニットの蓋をしてから揺り廻して外室の2液を混じ、室温に放置する。

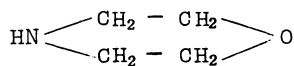
試料中にエタノールが存在すれば、10~20分後に内室濾紙上の試薬点滴斑が青変する。

呈色試薬をユニットの内室え直接滴下していても呈色はするが、確認だけならば濾紙に点滴したものをを用いると遙かに観察し易い。

アルコールの酸化をMnO₂で行なう方法も考えられるが、KMnO₄液で行なうのはうまく行かない。此の方法でもアルデヒドが生じるように記されたものがあるが、良い結果は得られなかった。

III 原 理

Morpholinはアムモニア様の臭気を持つたB.p128°のPiperidinに似た液体で、次のような構造の2級アミンである。



予じめこのアミンとニトロプルシッドソーダ溶液を混じておいたものえ、エタノールを酸化して得られるアセトアルデヒドを作用させて発色させる方法で、通常脂肪族2級アミンの検出に用いられる、所謂青木氏の反応（シモンの反応）によるものである。

IV 結 果

1. 確認限度

エタノールを水で稀釈し、種々の濃度のものを作つて、本法による確認限度を求めた。試料採取量 1 ml, 室温約 20°, 放置時間 20 分, でアルコール濃度 20 r/ml 迄呈色を確認する事ができた。

飲酒しない平常人の血液中でも 0.03% (30 r/ml) 程度のエタノールが存在すると云われるが、試みに平常人静脈血を採り、その 1 ml について行なうと陽性の反応を示す。尿についても行なつてみたが、飲酒しない者の尿でも極く淡い緑黄色を呈する。人により、時によつて呈色色度に濃淡があるが、これは反応陽性とは認め難い。

2 反応に要する時間

呈色反応のための放置時間であるが、Spot の青色の濃さや最高の呈色迄に要する時間は試料中のエタノールの濃度に左右される。エタノールの濃度が大きければ早く濃く呈色し、低濃度では遅くて淡い。肉眼的観察の結果では 20 分間放置で充分と考えられる。

3 特異性

手元にある薬品数種をえらんで、水に難溶性のものは飽和水溶液とし、可溶性のものは 1~3% 水溶液として、同様の操作を行なつた。えらんだ薬品は次の 21 種類である。

①メタノール

②N-プロパノール

③Iso-プロパノール

④N-ブタノール

⑤N-アミルアルコール

⑥ホルムアルデヒド

⑦アセトアルデヒド

⑧ペンツアルデヒド

⑨フェノール

⑩グリセリン

⑪ギ酸

⑫酢酸

⑬N-ヘキサン

⑭Iso-オクタン

⑮アセトン (ジメチルケトン)

⑯エーテル (ジエチルエーテル)

⑰ベンゾール

⑱クロロホルム

⑲酢酸アミル

⑳酢酸エチル

㉑アムモニヤ

このうちアセトアルデヒド、メタノール、アセトン、エーテル、酢酸エチル、に呈色が認められた。そこでアセトアルデヒドを除いた 4 者について本法における鋭敏度の試験をした結果を表 1 に示す。

表 1 種々試薬の稀釈試験

稀釈 薬品名 倍数	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
メタノール 100%	±	+	+	+	+	±	± (-) 1.6	-	-	-
エーテル 飽和水溶液 約 7.5%	+	+	+	+	+	+	± (-) 0.12	± (-) 0.06	-	-
アセトン 100%	+	+	+	+	+	+	+	± (-) 0.8	-	-
酢酸エチル 飽和水溶液 約 8.6%	+	+	+	+	+	+	+	+	± (-) 0.04	-

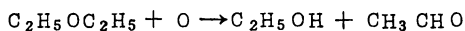
+-記号の下の数字は大略の % を示す。

稀釈は水で倍数稀釈した。

メタノールは3%程度以上の濃度で呈色するが、最も濃く呈色した場合でも淡い緑青色を呈するに過ぎない。又、アセトンでは0.5%以上の濃度で呈色するが、淡い灰色がかつた色に着色するので、エチルアルコールの場合の色調とは区別できる。エーテルでは約0.11%以上で、酢酸エチルでは約0.37%以上でエタノールと同様に呈色を示す。

V 考 察

エーテルや酢酸エチルが陽性反応を呈するのは、試料中に当初よりエタノールが存在するのではなくて、一般にエトキシ化合物($-\text{OC}_2\text{H}_5$)はクロム酸で処理するとアセトアルデヒドを生じるから、従つて陽性反応を呈する事になるのであろう。



エチル基やエトキシ基を持ち、それがクロム酸で加水分解をうけるものは本反応で陽性を呈するわけである。先に挙げた21種の薬品及びエタノールのうち酸化を行なわないで直接に呈色試薬を加

えた場合はアセトアルデヒドのみ陽性を示した。尙実験はしていないが、この他にアクロレインや数種のアルデヒド類(クロトンアルデヒド、チグリンアルデヒド、プロピオンアルデヒド)が此の試薬に呈色すると云われる。

試薬の2級アミンはMorpholinでなくとも良いが、他の2級アミンは試薬として高価である。

VI むすび

結論として、本法はかなり高い鋭敏度を持ち、通常行なわれるガスクロのそれに略々匹敵すると思われる。又操作が非常に簡単で、且つ適確である点充分実用に供し得るものと考えた次第である。

文 献

F. Feigl: "Spot test"

E. J. Conway 著 石沢訳: "微量拡散分析及び誤差論"