メチオニンに関する生化学的研究 (1)

Biochemical Studies on Methionine. (1)

血清水解物中のメチオニン定量法の検討と

正常人の血清水解物中のメチオニン値

Investigation of the Determination of Methionine in the hydrolysate of Serum and Methionine Value of normal Human Serum Hydrolysate.

国立栄養研究所栄養化学部 手塚朋通 (T. Tezuka.)

緒 論 メチオニンはチスチンと共に人間の摂取硫黄源の大部分を占めている。生体内でコリン、クレアチン、アドレナリン等を合成する場合のメチル基の供給源もメチオニンである。このメチオニンは植物性蛋白よりも動物性蛋白に多く含まれており、日本人にはメチオニンの不足が危惧される所以である。メチオニン欠乏の動物実験では肝臓脂肪変性、次いで肝硬変を起すことが明らかであり、人間でも蛋白摂取の少い国々にこれらの疾病が多く、飲酒家にもこれの多発するのは、アルコール中毒の他に、飲酒時の蛋白摂取不足がこれを助長しており、その原因の一つはメチオニンの欠乏であると考えられている。日本人もこの傾向が一般的に多く見られるが、これはその食事構成からも裏付けられるものである。Rose¹⁾によれば人間の実験で、成人男子の一日最低メチオニン必要量は 1g である。これは窒素出納を目安にしての実験である。現在日本人の全国平均成人1人1日当りの蛋白摂取量は約 75g であり、その中動物性蛋白は僅かに30%でしかない。平均してメチオニンは動物性蛋白中に約 2.5%、植物性蛋白には1.7%位含まれている。これから計算すると少くも1日 1.5g メチオニンを摂取しており、理論的には不足していないことになる。それ故普通の状態ではメチオニン欠乏は起らぬと考えられるわけであるが、メチオニンは蛋白の構成素材である以外に上述の様な生理作用があり、更に種々の解毒的役割をも果たす点から、体内のメチオニン要求が実験的な窒素出納のみから求められる要求量を上回る様な状態になる時は当然この程度の摂取では不足を来すと思われる。言いかえればメチオニンは日本人では欠乏状態の起り易い、ようやく必要量を充している程度の危険な栄養素の1つであると云える。

著者はこのメチオニンの体内充足度を知る手懸りとして血清中の総メチオニン量を取り上げ、これがメチオニン要求あるいは消費の高まると考えられる種々の場合に如何に変動するかを研究した。

この種の報告としては Dieter Mütting²⁾ が 10 人の健康人に就いて測定し、併せて飢餓時の変化を報告している。又、T. Schuk³⁾ は健康人と妊婦について測定し、妊婦ではメチオニンの血漿蛋白中濃度の減少を報告している。一方 A. F. Kulakova⁴⁾ は血清中のメチオニンが肝臓の代償性に覆われて、臨床的には血清蛋白中のメチオニン量の変化を利用出来ないとも云っている。

血清蛋白は均一な組成ではなく、構成する各蛋白がそのアミノ酸組成を異にしていることを考えるならば、更にまた、血清蛋白中のアミノ酸の結合状態が恒常的でなく、非常に遊離し易いもののあることから、血清蛋白中の総メチオニン量も変化する可能性が充分に考えられるものである。

著者等はさきに Mc. Carthy & Sullivan⁵⁾ 氏法により、人血液及び血清中のメチオニン量を測定し、結核患者のそれと比較した結果を報告したが、メチオニンの定量法自体を更に検討して、より正確な正常人値⁶⁾

及びその動揺範囲についての結果を得たので報告する。

実験及考察 (1). Millard J. Horn 氏法の血清水解物への適用の検討と定量方法

M. J. Horn 氏によれば, Mc. Carthy & Sullivan 氏法にてメチオニンを定量する際に屢々緑色の発現するのを防ぐには, 30°C~50°C に加温する代りに, 室温でニトロプルシッドソーダを反応させ, 且つ最後の発色に使う塩酸, 燐酸混合液の代りに, 燐酸を用うればよいと云っている。又メチオニンとニトロプルシッドソーダの反応を完全に行わせて, 発色の濃さを強くするためにグリシンの添加を 10 分間おくらせることを見出して, これらの点を改良している。M. J. Horn 氏は緑色の発現は糖の存在することによると述べているが, 著者の実験では血清中の糖は僅かで, これによつては緑色とならないのである。しかし乍ら不明の理由で時々緑色の発現に悩まされたことがあつた。この点を考えて, M. J. Horn 氏法による血清水解物中のメチオニン定量の可能性を検出した。

M. J. Horn 氏法ではメチオニン以外のアミノ酸による呈色を完全に補正するために, 蛋白中のアミノ酸の組成の平均値を求めて, これに近いものを純粋アミノ酸を混合して作り, これを盲検として用いている。

第 1 表 同一血清水解物の Mc Carthy & Sullivan 氏法と
M. J. Horn 氏法によるメチオニン定量の比較

血清水解物	血清蛋白 g/dl	M. Sullivan 氏法		M. J. Horn 氏法		$\frac{A-B}{A}$ %
		A	蛋白中の メチオニン %	B	蛋白中の メチオニン %	
		メチオニンmg'dl		メチオニンmg/dl		
1	7.3	155	2.13	83	1.14	41
2	6.5	149	2.29	86	1.32	42
3	7.4	150	2.03	132	1.78	12
4	7.8	166	2.13	73	0.26	56
5	8.3	170	2.05	105	0.26	38
6	7.2	163	2.26	108	1.50	34
平 均						38

第2表 M. J. Horn 氏原法によるメチオニン標準曲線

メチオニン mg	吸光度 E	E-E。	吸光係数
0.90	0.320	0.300	3.00
0.81	0.290	0.290	3.00
0.72	0.260	0.260	3.00
0.63	0.240	0.240	2.86
0.54	0.205	0.205	2.92
0.45	0.175	0.175	2.90
0.36	0.140	0.140	3.00
0.27	0.105	0.105	3.17
0.18	0.080	0.080	3.00
0.09	0.050	0.050	3.00
0.00	0.020	0.020	

第1図 M. J. Horn 氏原法の標準曲線

しかし著者はこれらのアミノ酸の入手が困難なので、この点は省略し、その他の点は全く M. J. Horn 氏法に従つて測定を試みた。その方法の概略は次の通りである。

血清 1ml に 20% HCl 2.5 ml を加えて、125°C の油浴で 10 時間加熱し、型の如く中和、脱色して濃縮し約 10 ml にする。この 2.5ml を検液とする。検液 2.5ml を大型試験管にとり、これに 5N. NaOH. 0.5 ml を加え、10%ニトロプルシッドソーダ 0.05ml を入れて 10 分間室温に放置し、3% グリシン 1 ml を加え、更に 10 分放置してから 84.5% H_3PO_4 0.5ml をよくまぜながら混和する。5 分後に No. 540 のフィルターを用いて、光電比色計で吸光度を測定し、これを同様処理して作ったメチオニン標準曲線上に読んで

メチオニン量を計算する。この方法は Mc. Carthy & Sullivan 氏の原法と比べて、水解方法は変りないし、水解による回収率の低下のないことはすでに明らかであるので、同一水解物について、原法と改良法の二つの方法で測定して比較をした。その結果は第1表の通りで改良法による方が12~56%, 平均 38 %低くなった。この際における標準曲線は第2表、第1図に見る通りで、原法に比べてやや発色度が高い。しかるに血清の発色はそれを上廻つてはるかに低く、明らかに何らかの妨害が見られた。

そこでこの点を明らかにするために、人血清水解液及び馬血清水解液に加えたメチオニンの回収率を測定した。その結果は第3表に示す通りで、メチオニンに血清を加えるとメチオニンのみの場合よりも却つて呈色が少いという現象が見られた。これは言いかえれば血清蛋白に由来するメチオニンの発色も少い上に、添加したメチオニン自身の発色が何らかの原因で妨害されていると云える。しかもこの妨害は馬血清でも起る。

この妨害を除くには先ずその本態をつきとめることが必要なので次の様な実験を行つた。文献によればニトロプルシッドソーダによるメチオニンの発色はチス테인により妨害されるという。それで血清中のチスチン又はチス테인によりこの妨害が起つているとも考えられるので、これによる妨害がチスチンのどの濃度において起るかを検べた。又この妨害はチスチンがニトロプルシッドソーダとアルカリ性で反応して赤色を呈する故にニトロプルシッドソーダがこのために消費されて不足し、それによつてメチオニンの発色の低下することも考えられるので、ニトロプルシッドソーダ量を3倍にした場合も同時に検べた。これらの実験の結果は第4、5表の通りでニトロプルシッドソーダによる差は殆んどなく、チスチンは 7.5mg/2.5ml, 血液中の濃度にして3%, チス테인は 5mg 12.5ml で血中 1.5%の濃度において始めて妨害が認められ、それ以下の濃度では妨害はおこらない。この濃度は血清蛋白質中の濃度に換算すると、それぞれ約43%, 22%であり、これは実際には到底考えられない。一方同様の検査を Mc. Carthy & Sullivan 氏法についても行つたが第6表の如く、この方法でもチスチンは 7.5mg 12.5ml, チス테인は 2.5mg12.5ml で既に妨害し、チス테인 5mg12.5ml 以上で緑色を呈する。この緑色は糖によつて起るものと同一色調で多分これらのものの還元力が関係するものと考えられる。かくの如く原法でも妨害される点からも問題にしている血清による妨害とは本質的に異つたものと思われる。妨害を起すものの本態についてはこれ以上検討の方向が

第3表 血清水解物によるメチオニン発色の妨害

メチオニン mg	添 加 物	吸光度
メチオニン0.8mg	—	0.285
メチオニン0.6mg	—	0.220
"	人血清水解液 0.5ml	0.135
"	" 1.0ml	0.115
メチオニン0.4mg	—	0.150
"	人血清水解液 1.0ml	0.120
"	" 1.5ml	0.122
"	馬血清水解液 1.0ml	0.125
メチオニン0.2mg	—	0.080
蒸 溜 水	—	0.020
"	馬血清水解液 1.0ml	0.030
"	" 2.5ml	0.115

得られないので実際的にこの妨害を除く方法を検討した。血清による妨害は M. J. Horn 氏法の際に起るが Mc. Carthy & Sullivan 氏法では認められない事を考えると、この 2 つの方法の差の中の個々について検討することによつて実際的に妨害を除く事が出来るのではないかと思われた。そこでこの 2 つの方法の相異点である NaOH の濃度、発色剤の相異、加温、冷却について検討した。その結果は第 7 表の如くで、NaOH の濃度及び発色剤に HCl を加える事によつては妨害をおさえる事は出来ない。又冷却によつても差はなかつた。ただ加温することによつて発色度は低下するが血清による妨害は認められなかつた。かくて加温によつてこの妨害を除きうる可能性が得られたので、これを 100% 除く方法を検討した。その為にこの試験を更にくわしく行つた。加温の時間とグリシンの添加時期、振盪、冷却の影響についての実験結果は第 8 表の通りで、加温せぬ時は他の条件がどうであつても必ず血清水解物によつて妨害

第 6 表 McCarthy & S. 法でのチスチン、チステインの影響

メチオニン	添 加 物	吸 光 度
0.4 mg	—	0.155
"	チスチン 7.5mg	0.103
"	チステイン 7.5"	青 色
"	" 5.0"	緑 色
"	" 2.5"	0.135
0.0	—	0.025

第 4 表 チスチンによるメチオニン発色の妨害

メチオニン	チスチン	ニトロプルシツドソーダ 10%	吸 光 度
0.4mg	7.5mg	0.05ml	0.145
"	5.0	"	0.150
"	2.5	"	0.151
"	0.9	"	0.151
"	0.6	"	0.152
"	0.3	"	0.152
"	0.0	"	0.150
0.0	0.0	"	0.020
0.4	7.5	0.15	0.145
"	5.0	"	0.150
"	2.5	"	0.155
"	0.0	"	0.155
0.0	0.0	"	0.025

第 5 表 チステインによるメチオニン発色の妨害

メチオニン	チステイン	ニトロプルシツドソーダ 10%	吸 光 度
0.4mg	7.5mg	0.05 ml	0.120
"	5.0	"	0.135
"	2.5	"	0.160
"	0.9	"	0.159
"	0.6	"	0.159
"	0.3	"	0.158
"	0.0	"	0.155
0.0	0.0	"	0.025
0.4	7.5	0.15	0.123
"	5.0	"	0.120
"	2.5	"	0.161
"	0.0	"	0.160
0.0	0.0	"	0.028

第 7 表 M. J. Horn 氏法と原法の相違点についての検討

Horn 氏法の中で変化させた点	吸 光 度		血清による増加
	メチオニン 0.4mg	メチオニン 0.4mg + 血清水解物	
14.3N NaOH 使用	0.160	0.065	—
発色剤に HCl 添加	0.130	0.045	—
40°C に 10° 加温	0.080	0.083	+
加温後に冷却	0.085	0.096	+

第 8 表 加温, 冷却, 振盪 による 影響

	加 温	冷 却	振 盪	吸 光 度				メチオニン 0.4mg +血清水解物	血清による 増 加
				メ チ オ ニ ン mg					
				0	0.2	0.4	0.6		
1	+	+	+	0.095	—	0.218	—	0.263	0.045
2	+	+	—	0.085	0.130	0.212	0.283	0.249	0.037
3	+	—	+	0.032	0.092	0.163	0.240	0.240	0.077
4	+	—	—	0.038	—	0.154	—	0.228	0.074
5	—	—	+	0.015	0.080	0.146	—	0.080	—0.066
6	—	+	+	0.024	0.035	0.156	0.232	0.055	—0.101
7	—	+	+	0.031	—	0.125	—	0.047	—0.078

される（最右の項参照 1, 2, 3, 4 列と 5, 9, 7 列）

冷却の影響は, 3 と 1, 4 と 2, 5 と 6 列を比較すればわかるごとく, 加温及び振盪と無関係に冷却によつて吸光度は大となるが, これは赤色が強くなるよりむしろ暗調を帯びるもので, 盲検値も同率に高くなる。それ故むしろ冷却はせぬ方が比色に好都合である。又添加血清水解物による増加も冷却せぬ方が高い（最右項の 3, 4 列と 1 2, 列）

次に振盪の影響は 1 と 2, 3 と 4, 6 と 7 列を夫々比較すると明らかな様に, 大きな差はないが振盪した方がやや良好である。

グリシン添加時期の影響は添加後に加温すると発色度も低く, 回収率も悪い。（1, 2, 3 列）グリシン添加前の加温時間は長い方がややよい。（4, 5 列）この関係は第 9 表に示した。

以上の実験より見て, 盲検値を低くし, メチオニンによる発色を強くし, 且つ血清による妨害を除くための条件は, 5N. NaOH 添加後 40°C に 20 分加温した後 3% グリシンを加えて室温に 10 分放置し, 磷酸をくわえて振盪することである。

そこでこの方法によつてメチオニン標準液による標準曲線を作り, 血清水解物のメチオニンを測定し, これにメチオニンを添加してその回収率を計算した。その結果は第 10 表, 第 11 表, 第 2 図に示した。回収率は 100.2% を示した。また血清メチオニン量も Mc. Carthy & Sullivan 氏法による値と同程度のものが得られた。これらの結果著者は血清によるメチオニン発色妨害の本態をつきとめることはできなかつたけれども, これを除去することに成功した。

(2) 正常人血清水解物中メチオニン量

第 9 表 グリシン添加時期の影響

	グリシン添加 40°C 加温 室温放置 10分 10分 10分	吸 光 度		
		メチオニン 0.4mg	メチオニン 0.4mg + 血清水解物	血清による 増加
1	○	0.079	0.082	0.003
2	○	0.076	0.092	0.016
3	○	0.087	0.110	0.023
4	○	0.158	0.236	0.078
5	○	0.150	0.216	0.066
6	○	0.146	0.080	—0.066

第10表 著者の改良法によるメチオニン標準曲線

メチオニン mg/2.5ml	吸光度 E	Ex—Eo	吸光係数
0	0.032		
0.2	0.092	0.060	3.3
0.4	0.154	0.122	3.3
0.6	0.218	0.186	3.2
0.8	0.282	0.250	3.2
平 均			3.25

第 11 表

改良法での血清へ添加したメチオニンの回収

血 清	血清水解物	添加メチオニン	測定メチオニン	回 収 量	回 収 率
A	2.5 ml	0 mg	0.400 mg	0.398	99.5
	1.0	0	0.160		
	1.0	0.40	0.558		
B	2.5	0	0.390	0.530	99.0
	1.0	0	0.155		
	1.0	0.54	0.685		
C	2.5	0	0.360	0.255	102.0
	1.0	0	0.145		
	1.0	0.25	0.400		
平 均					100.2

第 2 図 著者の改良法による標準曲線

以上述べた様な方法で正常成人の血清水解物につきメチオニン、蛋白を定量した結果を第 12 表に示した。成人男女 17 名の血清中メチオニン量は 123mg/dl~180mg/dl で平均 147 ± 15 mg/dl である。蛋白量はほぼこれを平行しており、6.46 g/dl~8.28g/dl で、蛋白中のメチオニン% (メチオニン値と呼ぶ) は 1.71%~2.19% に当り、平均値は 1.95 ± 0.13 % となる。

(3) 正常人血清メチオニン値の動搖について

(2) で述べた正常人血清のメチオニン値を見ると相当に範囲が広い様に思われる。これらの血清は採血に当つて、食物、特に蛋白の摂取状態に制限はしておらず、又採血時間も食事時間と無関係である。そこでこれらの条件を定めて測定を行い、同一条件下における個人差の範囲をしらべ、一方同一人において、これらの条件によつて如何に變動するかをしらべた。

(同一人における普通食摂取時の變動)

第 12 表 正常人血清水解物中のメチオニン値

試験者	性	年齢	メチオニン mg/dl	蛋白 g/dl	蛋白中の メチオニン値 %
S. S.	♂	36	144	7.21	2.00
S. N.	"	35	162	7.38	2.19
Y. A.	"	30	123	6.46	1.90
T. E.	"	30	151	7.90	1.91
S. K.	"	27	164	8.03	2.04
F. K.	"	25	180	8.28	2.19
T. O.	"	25	131	6.92	1.89
O. R.	"	25	149	8.20	1.83
M. I.	"	22	141	7.25	1.95
T. A.	"	22	158	8.09	1.95
S. A.	"	19	131	6.80	1.93
T. D.	"	18	136	7.20	1.89
K. A.	"	18	145	7.66	1.89
Y. T.	♀	25	170	7.84	2.17
K. I.	"	20	137	7.20	1.90
F. N.	"	20	138	7.87	1.76
M. A.	"	19	136	7.95	1.71
平均			147±15	1.95±0.13	

平均は $M \pm \delta$

30才で体重70kgの男の健康の中労作を営む者を被験者とし、17日間の中任意の8日間に採血を行った。食事は特別考慮せず普通その人が摂っているままにさせた。採血は昼食前空腹時に行った。測定法はM. J. Horn氏法に基いた著者の変法を用いた。測定結果は第13表の通りである。8日間の変動は135mg/dl~162mg/dlで平均145mg/dlであり、これにたいして血清蛋白濃度は7.16%~8.43%であり、蛋白中のチメオニン値は、1.87%~2.07%で平均すると $1.91 \pm 0.06\%$ であった。この関係を図示すると第3図の通りで、動揺範囲は同一人の方が少く、血清水解物中のメチオニン量と血清蛋白量はよく比例する。

(同一食事を摂取した場合の個人差)

次に三人の被験者について同一の食事をつづけた場合に3日目毎に昼食前に採血し、食事の影響を除いた場合の個人による差異を見た。結果は第14表の通りで、各個人については同一食事をしているにかかわらず、Iでは1.92%~1.90%、Sでは1.73%~1.99% Mでは1.83%~1.87%となっており、先の実験より変動が大きかった。又3人についての個人差も同一人についての変動値より小さくなく、結局食事、個人による変動はそう大きくないと云える。この場合も、先の実験も昼食前の空腹時というのみで、厳密に食事摂取後の時間を規定してないので、その影響を見る必要があると考えられた。昼食前は空腹時ではあるが朝食に摂取した蛋白質が消化、吸収されて血中にその代謝物が流入するに当る時間であるからむしろ一番影響の大きい時期とも思われるからである。

(食事摂取後の時間の影響)

2人の成人男子について、早朝空腹時と朝食を1回摂取した以後時間を追って夕方迄数

第13表 同一人の血清メチオニン値

採血日	メチオニン mg/dl	蛋 白 g/dl	蛋白中の メチオニン値 %
25/V	142	7.41	1.92
28/V	150	7.25	2.07
29/V	152	8.11	1.87
1/VI	136	7.16	1.90
6/VI	149	7.94	1.88
7/VI	162	8.43	1.92
11/VI	135	7.44	1.87
12/VI	137	7.19	1.91
平均△	145±9		1.91±0.06

△平均は $M \pm s$

* 各値は3回測定平均

第14表 同一食事の際のメチオニン値の個人差

被験者	日付	メチオニン mg/dl	蛋 白 g/dl	蛋白中の メチオニン値 %
I	20/Ⅲ	152	8.00	1.90
	23	140	8.14	1.72
	26	141	7.43	1.90
平 均		144	7.86	1.84
S	20	160	8.05	1.99
	23	156	8.08	1.93
	26	134	7.76	1.73
平 均		150	7.96	1.88
M	20	149	7.96	1.87
	23	148	7.89	1.87
	26	134	7.60	1.83
平 均		145	7.81	1.86

第3図 同一人の血清メチオニン値の変動

回採血し、その血清中のメチオニン、蛋白を定量した。朝食内容は蛋白 24g, 1000 Cal の普通食と、蛋白 84g, 1970Cal の高蛋白食の二回ずつ行つた。測定結果は第 15 表の通りで、これを第 4, 5 図にグラフで示した。時間の経過と血清蛋白中のメチオニン値の関係は、4 つの実験例全体を通じて、食後 3 時間目より高くなり、その後 3 時間はほぼその高値がつづき、9 時間目には大体朝食前空腹時に戻ると云える。普通食と高蛋白食としては 1 人の被験者は差がなく、他の 1 人は高蛋白食の方がやや高い様である。しかしこの高い方は早朝時も同程度に高いので、食物による影響とのみは云えない。1 日中の最低値の差は 0.15~0.25 % であるから、食物の影響が必ず起るとは限らないけれども、測定の正確を朝すには早朝空腹時に採血する方がその人の生理状態の推定には好都合と思われる。

総 括. M. J. Horn 氏法そのままを血清水解物中のメチオニン定量に使用すると、血清中の不明の因子

第 15 表 血清メチオニンに及ぼす摂取蛋白量の影響と時間的観察

被験者	採血時間 (朝食後)	普 通 食			高 蛋 白 食		
		メチオニン mg/dl	蛋 白 g/dl	メチオニン値 %	メチオニン mg/dl	蛋 白 g/dl	メチオニン値 %
S 25才	朝食前0	133	7.31	1.82	132	6.97	1.89
	60分	135	7.31	1.86	144	7.20	2.00
	180 "	135	7.21	1.87	152	7.15	2.12
	360 "	145	7.07	2.05	148	6.90	2.14
	540 "	156	8.33	1.87	150	7.57	1.68
T 30才	朝食前0	140	1.61	1.83	142	7.50	1.89
	60分	137	7.26	1.88	142	7.60	1.87
	180 "	144	6.98	2.06	148	7.28	2.03
	360 "	143	7.28	1.97	150	7.55	1.99
	540 "	145	7.44	1.94	142	7.57	1.87

第 4 図 食事後の時間と血清メチオニン値(1) 第 5 図 食事後の時間と血清メチオニン値(2)

により、メチオニンの発色が妨害される。この妨害は、験体をニトロプルシッドソーダ添加後に 40°C で 20 分加温することにより除去出来る。

著者の変法で、正常人の血清水解物中のメチオニンを測定した結果は蛋白中のメチオニン百分率（これをメチオニン値と名付けた）は 1.95 ± 0.13 であつた。

同一食事摂取時の個人差、同一人の普通食の際の動揺、摂取蛋白量の影響等をしらべたが、これらは何れも僅かである。

食事摂取後の時間的経過については、早朝空腹時に最も低く、3～6時間後がやや高いから、早朝空腹時に検査するのが適当と考えられる。

文 献

- 1) Rose, W. C, Coon M. J., Lokhart H. B., Lambert G. F.: J. Biol. Chem. 215, 101 (1955)
- 2) Dieter Mütting: Z. Physiol. Chem. 284, 272 (1949)
- 3) J. Schuck: Arch. Gynäkol. 177, 45 (1950)
- 4) A. F. Kulakova: Therapeut. Arch. 22, 52 (1950)
- 5) Mc Carthy, T.G, Sullivan, M. X.: J. Biol. Chem. 141, 871 (1941)
- 6) 田村盈之輔, 手塚朋通: 食糧と栄養, 3, 207. (1951)
- 7) Millard. J. Horn: J. Biol. Chem. 156, 313 (1946)

抄 録

生体中の還元型、酸化型および
総アスコルビン酸の簡易定量法

全血、血清、野菜や果実の浸出液をアスコルビン酸を酸化するために活性炭と共に振盪する。チオ尿素と2:4-ジニトロフェニールヒドラジンを添加し、沸とう湯中に血液は5分、尿と食品は10分置く、冷却後85%硫酸を加えて混合物を10分間放置する。総アスコルビン酸は酸化型アスコルビン酸として分光測定法的に測定した。活性炭処理をしな

ければ酸化型のみが測定される。還元型アスコルビン酸量はその差によつて計算した。100°C では2:3-ジケトロニツク酸は酸化型アスコルビン酸と2:4-ジニトロフェニールヒドラジン間の反応を妨害しなかつた。

R. R. Schaffert and G. R. Kingsley.:
J. Biol. Chem., 212, 59, (1955). :C. B.
(田村 敦)