咀嚼能率に関する研究

第1報 有歯顎者における咀嚼による澱粉の生化学的消化の 基礎的検討(その1)

小 林 喜 平

Studies on the Masticatory Efficiency

[I] Basic Study of the Biochemical Digestion of Starch by Mastication in the Person with Normal Teeth (Part 1)

Kihei Kobayashi

目 次

第1章 緒 言

第1節 研究の目的

第2節 研究の方針

第2章 予備実験

第1節 実験材料および方法

第2節 成 績

第3節 本章の小括

文献(以上その1)

(以下その2)

第3章 主実験

第1節 実験材料および方法

第2節 成 績

第3節 本章の小括

第4章 総括および検討

第5章 結 論

文 献

第1章 緒 言

第1節 研究の目的

歯学の目的の第1として咀嚼能率の回復が挙げられながら、現在咀嚼の総合能力を簡便にしかも定量的に表示

する方法は提出されていない。

従来、咀嚼能率または咀嚼効果の判定法については、多数の研究者によつて定量化が企てられてきた¹⁾²⁾。しかし、その定量化の対象はそれぞれ異つていようである。それは学者によつて両種の用語の意味が統一されていないためである。

すなわち、これらを大別すると、次の5種がある。

1. 咀嚼の生理作用に注目し、咀嚼食品*の全消化過程を経てのちの消化状態によつて判定する方法

これを動物実験で行なつた Moritz³⁾, Brubacher⁴⁾, Cohnheinn⁵⁾, 大山⁶⁾, Sognnaes⁷⁾, 旗手⁸⁾, 本間⁹⁾, 浜田¹⁰⁾, 坂本⁹⁾, 押谷¹²⁾, またヒトで行なつた Oefele¹³⁾, Michel¹⁴⁾, Euler¹⁵⁾, Schütte¹⁶⁾, 原¹⁷⁾, 中山¹⁸⁾, 大森¹⁸⁾, などがいる。

この方法は、糞便検査により食物の消化吸収状態を検査し、消化と咀嚼との関係を知り、咀嚼能力を検討しようとするものであるが、消化は消化液の濃度(特に酵素濃度)、分泌量、温度、その他の影響を受けるものであり、これらの条件を実験的に統一できないため、この方法による結果で、ただちに咀嚼能率を表わすのは早急である。

2. 咀嚼面積で表わす方法

矢崎²⁰⁾, Stallard²¹⁾, Victor²²⁾, Yurkstas²³⁾²⁴⁾²⁵⁾,

* 本論文では、咀嚼された食品のことを特にこのように呼ぶ。食品(調理以前)と食物(調理加工物)との区別が食品学、栄養学等においてなされるが、本論文では都合によりこの区別をしない。

Graduate School (major in Prosthodontics), Nihon University School of Dentistry (Director: Prof. Yoshiaki KATO, Prof. Atsushi OSHIKANE)

日本大学大学院歯学研究科補綴学専攻(指導:加藤吉昭教授, 押藤篤教授)

昭和46年3月2日受付

Dahlberg²⁶⁾, 神山³⁶⁾, 平沼²³⁾, 落合¹⁰⁵⁾, および津留⁸⁰⁾などがこの方法を行なっている。

この方法は咬合圧、咀嚼食品の変化、その他の要素によらないで、ただ咀嚼面積のみで咀嚼能率を表示しているものである。

3. 咀嚼食品の粉碎粒子の分布状態により判定する方法。

Christiansen⁸¹⁾, Gelman³²⁾, Thompson³³⁾, 坂本⁸⁴⁾, Dahlberg²⁵⁾, 佐藤³⁵⁾, 神山³⁶⁾, Manly³⁷⁾³³⁾³⁷⁾⁴⁰⁾, Tra-
pazzano⁴¹⁾, 石原⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁴⁹⁾, 横田⁴²⁾⁴³⁾⁴⁴⁾, 佐藤⁴⁵⁾, 小沢⁴⁷⁾
52), 橋本⁵¹⁾, 山田⁵²⁾, Kapur⁵³⁾⁵⁴⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾, 関根⁵⁷⁾, Wirz⁵³⁾,
Neill⁵⁹⁾, らがこの方法を行なっている。

この方法は咀嚼の物理学的（機械的）作用に注目するものである。

4. 咀嚼により食品がこうむる生化学的変化の程度により測る方法。

この方法は咀嚼の生化学的消化作用（酵素による加水分解作用）に注目したもので、蛋白質食品（肉）を対象とした Ono⁶⁰⁾, および Farrell⁶¹⁾⁶²⁾⁶³⁾⁶⁴⁾, と澱粉を対象とした三好⁶⁵⁾の研究がある。

5. その他、特殊なものに太田⁶⁶⁾の研究がある。

以上の方法のうちで、3と4との2方法では、咬合局面面積、咬合圧、送り⁴⁸⁾, などの咀嚼に関与する解剖学的生理学的諸要素の総合的な結果が表われるから合理的と考えられるが、3の方法は現在の咀嚼能率ないし咀嚼効果の研究の主流をなすもので、粉碎粒子のふるい別け法を行ない、その分布状態により咀嚼能率ないし咀嚼効果を表わしているが、消化との関係を明確にしていない。

この欠点を補う目的で、横田⁴⁴⁾は消化と食物粉碎粒子の表面積とが正比例関係にあることに注目し、粉碎粒子の表面積測定を行ない、これで「咀嚼能率」を表示する方法を提出した。しかし、この方法も直接に消化の検討を行なっていない。

著者は従来の「咀嚼能率」と「咀嚼効果」との用語の混乱や、それらの定義が不明確であるのにかんがみ、本研究においては、両語を確然と区別し、それぞれに明確な定義を与え、この定義の線に沿って研究を進めることにした。

それにはまず辞典に出ている「能率」と「効果」の定義に基づき、著者の研究材料たる米（澱粉食品）を咀嚼するという作業によって生ずる生化学的結果、すなわち

* 回数と時間との総合でテンポが決まるのであるが、本研究ではテンポを一定にしておいて、回数、したがって時間を種々に変えた実験を行なっているの
で、ここには3つの要素として掲げる。

澱粉の糖化量の大小をもつて本研究における「咀嚼効果」と定義し、一定の咀嚼作業条件（回数*, 時間*, テンポ*）のもとに、同一の「咀嚼効果」が少ない咀嚼回数と時間で得られた場合を本研究において咀嚼能率が大きいと定義した。

すなわち、咀嚼が消化作用の第1歩である以上は、咀嚼能率の表示は消化の能率に関係する定量的表示法でなければならないと著者は考える。

そして消化を考える場合、糖質、蛋白質、脂質の消化について検討すべきであるが、まず著者は口腔内での生化学的消化作用の主作用をなすものとして周知の、唾液アミラーゼの澱粉分解能力⁶⁷⁾⁶⁹⁾⁶³⁾⁷⁰⁾に注目し、その澱粉消化に及ぼす咀嚼の影響を検討し、咀嚼の生化学的消化作用の大きさを咀嚼効果と定め、これに基づいて咀嚼能率の生化学的判定法を樹立することにした。

すなわち著者の研究は、義歯装着者の咀嚼能率を測定するための前準備として、まず有歯顎者につき、生化学的消化作用に基づく咀嚼能率の判定のために必要な基礎的データを得ることにある。

しかし、すでに三好⁶⁵⁾がこの問題を検討しているが、著者は独自の方法で検討を試みたのである。

第2節 研究の方針

研究材料として、試験食品（咀嚼試験に供する食品であるが、まず口腔内に入れてない場合を本論文ではこのように呼ぶ）の条件を満たすもので、しかも澱粉食品であるという要求から、日本人常食の米を選び、処理法の都合により、精白米を使用し、その種々の調理形態のものをヒトの口腔内で一定条件下に咀嚼させたのち、米中の澱粉が唾液により消化され生成する糖量を測定し、これをもつて生化学的消化機能に及ぼす咀嚼の影響を検討することにした。

しかしこの糖量は、咀嚼粉碎されないままの米粒に唾液が作用して生ずる糖量と、咀嚼による粉碎に基づく表面積の増加、すなわち唾液との接触面積の増加による生化学的消化作用の増大によって生ずる糖量との総和と考えられる。よつてこの総糖量を広義の咀嚼の影響と解し、この値から咀嚼しない唾液を作用させた場合の糖量の値を引いた値を咀嚼により増加した糖量と考えることにした。

また唾液アミラーゼにより澱粉から生成する糖には図1に示すように麦芽糖および葡萄糖の両者が混在する。

今回著者の実験では両者を分離定量するのが主目的でないで、咀嚼食品の一部はそのまま糖定量に供し、また一部に対しては、試験管内で麦芽糖分解酵素（マルターゼ）を作用させ、消化産物中の麦芽糖が完全に葡萄糖

図 1 アミラーゼによる澱粉の分析(概略)

に分解されたと認められる時点で、糖量を測定することにした。

著者は以上の目的と方針とに基づき、有歯顎者における咀嚼による澱粉の生化学的消化に関して基礎的検討を行ない、2、3の興味ある知見を得たので、ここに報告する。

第2章 予備実験

実験方法の基礎的諸条件を検討するために、予備実験を次のように行なった。

第1節 実験材料および方法

第1項 材料および処理方法

A 試験食品およびその調製法

試験食品の条件として、大きさ、強さ、被粉碎性の均一性、長期保存性(不変性)などが必要とされるが、これらの条件に可及的に近いものであり、また澱粉食品の代表的のものとして、今回は精白米を選んだ。宮城県登米郡産・ササニシキ(ウルナ米)を、収穫後1カ年以内に、しかも精白(91%)後、1カ月以内に使用した。本論文では、この精白米のことを原米と呼ぶことにする。

また、咀嚼における切断、破碎、臼磨、唾液との混和の機能を考慮して、原米から、生米、炊飯米、炊飯乾燥米の3形態を調製した。調製法は次に示すようである。

1. 生米: Mettler 計量器で、2.00、5.00および7.00gの原米を計量し、特殊容器(図2)に移し、使用前1分間、水道水(約30℃)で水洗したものを生米と呼ぶことにし、これを試験に供した。

図 2 原米および特殊容器

2. 炊飯米: 生米と同様に原米を計量および水洗後、引き続き15分間水道水(約30℃)に浸漬し、ただちに特殊装置を設置した自動炊飯器(図3)で、15分間炊飯する。炊飯終了後、容器を反転し、さらに炊飯器内で10分間温置し、以後保温器(60℃温湯上)に保存し、これを炊飯米と呼び、順次試験に供した。

図 3 特殊装置を設置した自動炊飯器

3. 炊飯乾燥米: 前述の炊飯米を40℃恒温乾燥器内で、特殊容器ごと12時間乾燥したものを試験に供した。12時間の乾燥により、恒量に達することを認めた。これを炊飯乾燥米と呼ぶ。試験日ごとに、新たに調製した。

これらの試験食品の諸性状を検討した結果を成績の部で述べる。含有水分は後述の乾燥重量測定法に従い測定した。大きさはマイクロ・メーターにより3方向(長径、幅径、厚径)につき測定した。圧縮強度は Micro-Brinell 法で1粒ずつ測定した。また試験食品には固有の糖が微量ながら含まれているので、これを補正する処置を採った。これらのことについては成績の部でのべる。

B 澱粉液

試験唾液のアミラーゼ力価を測定するための基質、および実験条件検討の試験で使用するための試料として、和光製薬製アミラーゼ測定用澱粉(パレイショ)を用い使用時に1%水溶液を調製した。

C マルターゼ

咀嚼食品中に生ずる麦芽糖を葡萄糖に変えて定量する目的で、東京化成製マルターゼ(原料はクロカビ)を使用した。用法は後で述べる。

D 麦芽糖および葡萄糖

糖定量用検量線作成のため、ならびにマルターゼ使用条件の検討のために使用した。用法は各項で述べる。

E 唾液

実験の諸条件の検討の際に使用した。次の第2項の初めに記載する被検者の条件にかなう者数名の空腹時(午前11時)の安静全唾液を用いた。常法に従い歯ブラシで刷掃後、水道水(約150ml)でよく含嗽後、最初の部分は

除外し、化学的に洗浄した試験管に唾液を採取した。唾液は採取後、ただちに実験に供した。

また個人差を考慮しない場合は、数人分の唾液を合併して用いた。

F 緩衝液

M/10枸橼酸，N/5 第2 磷酸ナトリウムを用いる Mcl-Lvaine 緩衝液を調製し，これをマルターゼおよび糖定量試料の pH 調製に使用した。

第2 項 実験方法および諸条件の検討

図4 の行程表に従い，順次検討する。

図4 実験行程表

A 咀嚼試験の実施

1. 被験者

全身的に健康と認められ，かつ臨床的に顎関節，咀嚼筋群，歯周組織，および咬合は正常と認められる成年男子1名を被験者とした。(表1～表3参照)

2. 試験前口腔内洗滌

試験成績に影響を及ぼすと考えられる口腔内還元性物質⁽¹⁾⁽⁷²⁾⁽⁷³⁾ (唾液内の葡萄糖⁽⁷⁴⁾⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾，ビタミンC⁽⁷⁸⁾，あるいは口腔内常在菌により産出される糖，食物残渣など)を可及的に除去する目的で，常法に従い歯刷子で刷掃後，約150ml 水道水で30秒間口腔内洗滌を行なう。

洗滌効果を検討するため，洗滌直後，25ml の水道水で30秒間含嗽を行ない，この吐出液を後述の方法で糖定量試料に調製し，糖量測定を行なった。この含嗽吐出液を第1液とした。

表1 中心咬合位の咬合面積* (単位: mm²)

左右側				
		右側	左側	總計
中心咬合位	上顎	76.4	48.7	125.5
	下顎	76.4	48.7	125.5

註 * 落合⁽¹⁰⁵⁾の方法により測定

表2 中心咬合位の相対咬合力* (単位: kg)

16.81	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	16.30
16.49	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	15.48
28.29	$\frac{3}{3}$	$\frac{3}{3}$	27.10
40.87	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	39.72
49.63	$\frac{5}{5}$	$\frac{5}{5}$	47.95
69.01	$\frac{6}{6}$	$\frac{6}{6}$	65.91
60.24	$\frac{7}{7}$	$\frac{7}{7}$	61.52

註 * 高見沢の方法⁽¹⁰⁶⁾により測定

表3 唾液の性状

pH	6.6 (東洋濾紙 pH test paper による)
粘度	1.42 (比粘度を Hess 粘度計により測定)
表面張力	0.98 (比表面張力を Nouy 計により測定)
Amylase 力価	374.1mg (独自の測定法による)

3. 咀嚼試験

口腔内洗滌1 分後に，試験食品をスプーンで口腔内に移し，咀嚼試験を開始する。咀嚼すべき回数，時間およびテンポ (1 分間あたりの回数，音楽における表記法を用い，以下 M. M.=60 というように記載する。) はメトロノームで指示する。

すなわち著者は，咀嚼回数と咀嚼運動との関係を明確に，しかも顎の運動量を考慮せずに表現する手段として，音楽関係で用いられるテンポという表現を用いた。すなわち，咀嚼テンポという用語を作り，これで〔1 実験において咀嚼する総回数/咀嚼時間 (分)] を表わすものとした。そしてメトロ・ノームを用いて被検者に咀嚼時間と総回数を指示，指導し，咀嚼試験を行なった。たとえば1 分間の咀嚼試験で総回数60回咀嚼させた場合に

は、M. M.=60と記載することにする。M. M. は音楽用語で Mälzel の Metronome を意味する。音楽における表記法においては、M. M. の次に 4 分音符などの音符を付記するが、著者の場合は音符を必要としないから省いた、

また実験環境および被験者の精神的影響などがその唾液分泌量ならびに性状に影響を与えると考えられるので、実験は外部と遮断した同一環境の室で行なう。

4. 咀嚼物回収と口腔内洗滌

咀嚼物（咀嚼食品と唾液との混合物）、特に成生糖液の回収が試験成績に与える影響は大きいと考えられる。

咀嚼終了後ただちに咀嚼物を化学的に清浄化したビーカー内に吐出させ、さらに40ml の水道水による口腔内洗滌を行ない、この洗滌液も吐出物に加注する。以上を咀嚼終了1分間で行なう。

なお、この操作による咀嚼物回収率および洗滌効果を知るため、次の検討を試みた。

イ) 咀嚼物の回収

試験食品（この乾燥重量は既知）を M. M.=60、回数10～100回まで、10段階咀嚼し、水道水で口腔内を洗滌し、咀嚼物を洗滌液と共に採集し、その全部を後述の方法で乾燥、秤量し、各重量の減少の程度を検討した。

ロ) 洗滌効果の検討

咀嚼試験終了後、口腔内洗滌した後、さらに30秒間水道水（25ml）で含嗽を行なう。これを連続4回行ない、後述の方法で糖定量用試料に調製し、それぞれ含嗽吐出液の第2～5液とし、糖定量を行なった。

5. 唾液アミラーゼ作用の停止

唾液アミラーゼ消化作用を停止する手段として、咀嚼物の温度変化、除蛋白および pI の変化⁷⁹⁾を考察検討し、今回は酸を咀嚼物に加えて強酸性にして、咀嚼物中に含まれる唾液アミラーゼの酵素作用を不活性化することが最良と考え、下記の検討を加えた。

原米5.0g分に相当する量の炊飯米に唾液（1.0ml および精製水20.0ml）を加え、37℃、30分間インキュベートしたもの（以下これを「唾液インキュベート炊飯米」と呼ぶ。）に（N/5 および N/10）塩酸、（M/5 および M/10）枸橼酸および緩衝液（pH=4.0）をおのおの5ml 加え、充分攪拌後、後述の方法で糖測定用試料に調製し、糖定量を行なった。

B 糖定量用試料の調製

1. 分離操作

咀嚼物中の成生糖液と粉碎米粒および末粉碎米粒との分離のため、咀嚼物の遠心分離を行なう。

原米の咀嚼により粉碎されて生ずる米粒子は、大は10 mesh 以上から小は200mesh 以下まで広範囲に分布している⁴⁰⁾。

今回は成生糖液の完全回収を主眼として、遠心分離条件の検討を行なった。すなわち唾液インキュベート炊飯米にM/5 枸橼酸5.0ml を加え唾液アミラーゼ作用を停止したものを遠心回転 2.80×10^2 g, 1.12×10^3 g, 2.52×10^3 g, 6.99×10^3 g, 1.40×10^4 g および 2.80×10^4 g, 遠心時間を5, 10, 15および30分間としてそれぞれ遠心分離し、上清を糖定量用試料に調製、糖定量を行ない、糖量の増減を検討した。また吸引濾過法による分離を試みた。

2. 咀嚼により米から溶出する物質の量の測定

咀嚼食品のうち、咀嚼により溶出（分解を含む）する部分の量を知るため、咀嚼物から上清を分離後、沈澱物のみ乾燥重量を測定し、試験食品全量の乾燥重量との差をもつて溶出部分の重量とした。

乾燥法は舟阪、室井の方法⁸⁰⁾を参考にして次の方法で行なった。すなわち、シャーレ内に均等な層として入れ、105℃～110℃ で、24時間乾燥後、塩化カルシウム入りデシケートに3時間保存し、室温まで冷却後秤量した。

3. 上清の pH 調整

第1章で述べたように、咀嚼物を遠心分離した上清液中には葡萄糖および麦芽糖が共存すると考えられるが、葡萄糖および麦芽糖の還元力の違いにより、同時に分別的に比色定量することは困難である。また両者を分離定量するのが今回の目的でない。

そこで著者はマルターゼを上清液の一部に作用させ、麦芽糖が葡萄糖まで完全に分解されたと認められる時点で、葡萄糖のみの定量を行なった。

マルターゼ作用条件のうち、酵素活性と至適 pH を知るため下記の検討を行なった。

すなわち、基質：0.02 M 麦芽糖溶液（0.1ml）、酵素液：500、および1000mg/dl マルターゼ（0.1ml）、および緩衝液：（pH=1.0～7.0まで種々調製）を0.2ml、37℃、60分インキュベート、反応液の糖定量を行ない、pH と糖量との関係を検討した。

4. 容量調整

操作および糖量算出の都合上、pH 調整後化学的に清浄化した100ml メスコルベンに上清の全量を定量的に精製水で移し、総量を100.0ml に調整し、直ちに0℃ に保存する。これを「唾液消化済み上清液」と称する。この液の一部を採り、麦芽糖および葡萄糖混在のまま糖濃

度(還元力)を測定する。

5. マルターゼによる糖化操作

前述のように、「唾液消化済み上清液」中の麦芽糖を葡萄糖にまで分解する目的で行なう。

マルターゼの使用条件を下記のように検討した。

すなわち、1) 至適 pH

2) 濃度および量

3) 作用時間

4) 澱粉液そのものに対するマルターゼの作用

C 糖濃度定量および糖量算出

定量法は Somogyi-Nelson 法⁸¹⁾⁸²⁾⁸³⁾⁸⁴⁾⁸⁵⁾ (以下 S-N 法と略記する), およびオルト・トルイジン-硼酸法⁸⁶⁾⁸⁷⁾ (以下 T-B 法と略記する。)を併用した。なお、両法による麦芽糖および葡萄糖の発色度を検討した結果を成績の部で述べる。

糖量算出法は、

1. 麦芽糖および葡萄糖混在液の場合

S-N 法による吸光度を検量線に応用し、糖濃度を算出し、糖量を求めた。

2. マルターゼを作用させた場合

S-N 法および T-B 法による吸光度をそれぞれ検量線から糖濃度に換算し、下記の式より糖量を求めた。

$$Y = (A - B) \times 2 \text{ mg}$$

$$\begin{cases} Y = \text{糖量} \\ A = \text{被験液の糖濃度} \\ B = \text{盲検液の糖濃度} \end{cases}$$

D ペーパー・クロマトグラフィーによる咀嚼物中に生成する糖の定性

使用濾紙は東洋濾紙 No. 51 であり、溶媒はブタノール(4):酢酸(1):水(5)の混合物の上層を使用、上昇法により20cm 展開し、発色にはアンモニア性硝酸銀水溶液を用いた。

第2節 成 績

第1項 試験食品の物理的性質および使用量とその乾燥重量

咀嚼試験を用いる食品としての条件を満たし、また調製中米粒がその形態を保持し、諸性質の再現性がよいものにするため、著者が独自に考案調製した。その物理的性質は表4のようである。特に被粉碎性が均一で、しかも常に同じ粉碎力に対し同様の被粉碎性を示すものでなければならない。著者は Micro-Brinell 法を用い、1粒の扁平方向に垂直な加圧をし、粉碎した時の圧を測定した。図5がその1例の圧縮状態であり、図6が圧力の

表 4 原米の物理的性状

	生 米	炊 飯 米	炊飯乾燥米
含有水分	14.92±0.12%		0.97±0.01%
重量1000粒	20.86±1.08g		18.12±0.04g
大 き さ	a	4.91±0.07mm	5.60±0.53mm
	b	2.94±0.05mm	3.34±0.08mm
	c	2.05±0.05mm	2.11±0.14mm
圧縮強度	11.21±0.62kg	6.10±0.65kg	30.33±3.64kg

図 5 圧縮状態

11kg で加圧した時の変形状態の1例

A: 生米 B: 炊飯乾燥米 C: 炊飯米

図 6 圧縮強度の分布状態

分布を示す。

粉碎の圧は炊飯米では7kg, 生米では11kg, 炊飯乾燥米では15kg の場合がそれぞれ最も多かった。

使用時の生米, 炊飯米, 炊飯乾燥米の澱粉量を一定にする目的で, おのおの生米の状態の時に秤量した, その使用時重量を乾燥時重量で示したのが表5である。

生米, 炊飯米, 炊飯乾燥米にはそれぞれ原米のときの重量を添えた略称を用いた(5表参照)。

第2項 咀嚼試験前後の口腔内残留糖量

試験前後の洗滌効果を検討するため, それぞれの洗滌直後, 25ml の水道水を30秒間口腔内に含み, その吐出液(これを試液と称する。)につき糖量を測定した(図7参照)。4例とも試液の糖量はほぼ一定しており, 最小8.74mg, 最大19.28mg であった。

表 5 試験食品 ($\alpha=0.05$)

原米量(g)	調理法の種類	生 米	炊飯米	炊 飯 乾燥米
2.00	略 称	2 生米	2 炊米	2 乾飯
	使用時重量(g)	2.18 ± 0.24	2.81 ± 0.59	1.85 ± 0.03
	乾 燥 重 量(g)	1.65 ± 0.02	1.65 ± 0.03	1.67 ± 0.02
	自家糖量(mg/dl)	2.0	4.0	4.0
5.00	略 称	5 生米	5 炊米	5 乾飯
	使用時重量(g)	5.24 ± 0.27	6.99 ± 0.82	4.66 ± 0.51
	乾 燥 重 量(g)	4.25 ± 0.02	4.27 ± 0.04	4.15 ± 0.06
	自家糖量(mg/dl)	2.2	4.2	4.0
7.00	略 称	7 生米	7 炊米	7 乾飯
	使用時重量(g)	7.37 ± 0.41	9.81 ± 0.92	6.55 ± 0.32
	乾 燥 重 量(g)	5.78 ± 0.03	5.80 ± 0.02	5.90 ± 0.04
	自家糖量(mg/dl)	2.1	4.2	3.9

(各20例)

図 7 洗滌効果(5炊米を咀嚼した場合)

第3項 咀嚼物の回収量

唾液の影響を考慮して、定められた短時間内(60秒)に咀嚼物の全量を回収する必要がある。回収効果を検討するため、被験者に試験食品をテンポ M. M. 60, 回数10~100回の10段階として咀嚼試験をし、咀嚼物、洗滌液ともに全量を乾燥秤量した(表6参照)。

第4項 唾液アミラーゼ作用停止に及ぼす酸の影響

図8、図9および図10がその成績である。塩酸、枸橼

表 6 咀嚼物の回収量(単位: %)

略称	5 生米	5 炊米	5 乾飯
咀嚼回数			
10	99.8	99.0	99.5
20	99.6	99.0	99.3
30	99.4	98.8	98.9
40	99.2	97.2	98.5
50	99.2	96.3	98.0
60	99.1	96.0	98.0
70	98.8	95.4	97.8
80	97.5	95.3	97.0
90	98.0	94.2	97.0
100	98.0	94.0	96.7

(2例の平均値)

酸ともに各濃度ともほぼ同じ値を示した(図8参照)。枸橼酸と緩衝液との場合、0°C、20°Cで保存したいずれでも、糖量は緩衝液の場合が多かった。M/5 枸橼酸を加え、0°C、および室温で0分、30分、60分放置した場合、いずれもほぼ等しい値を示した。

第5項 遠心分離条件

咀嚼物中の成生糖液の回収量が糖測定値に大きな影響を与えると思われるので、遠心条件と成生糖液の回収量との関係を検討した。図11および図12が成績である。

すなわち、10分、20分ともにほぼ同じ値を示したが、 6.99×10^3 gが最も高い糖量を示した。

図 8 アミラーゼ活性に及ぼす塩酸と枸橼酸の影響

基質: 唾液インキュベート炊飯米
反応液 { (N/5, N/10) 塩酸 } 各々 5 ml
酸 : { (M/5, M/10) 枸橼酸 } 加える

室温にて1時間後、糖定量試料に調製、糖定量を行なう。

図9 アミラーゼ活性に及ぼす緩衝液と枸橼酸の影響

反応液 { 基質: 唾液インキュベート炊飯米
酸: { M/5 枸橼酸, 5ml
pH=4.0 緩衝液

0°C, 20°C で12時間保存後, 糖定量用試料に調製, 糖濃度測定を行なう。

図10 アミラーゼ活性に及ぼす枸橼酸の経時的影響

反応液 { 基質: 唾液インキュベート炊飯米
酸: M/5 枸橼酸

酸追加後の糖定量用試料調製に移るまでの時間を0, 30, 60分とした。

図11 回転速度と糖回収量との関係
×—10分, ●—20分

図12 回転時間と糖回収量との関係
○—○: 2.52×10^3 g, ×—×: 6.99×10^3 g

試験唾液が異なるため, No. 1 ~ 3 により値は異なるが, 2.52×10^3 g, 6.99×10^3 g ともに回転時間による差はそれほど見られなかった。

肉眼的に上清と沈澱物との境界を観察すると, 2.80×10^2 g で, 5, 10, 20, 30分間, 1.12×10^3 g で5, 10, 15, 20分間の遠心沈澱した場合, 上清と沈澱物との境界が不明確であり, 分離操作が, 困難であった。 2.52×10^3 g 以上の場合には境界は明りようとなり, ほぼ分離が可能であった。

第6項 マルターゼの酵素化学的諸性質

A 至適 pH

反応溶液中に用いる緩衝液を種々の pH に調整し, 37°C, 60分インキュベートし, 酵素活性を測定した。結果は図13のように pH 3.8~4.2 で最高活性であった。

B マルターゼ濃度と酵素活性

マルターゼ濃度と酵素活性との関係は, 図14に示すように正比例関係を示した。

C 基質濃度と酵素活性

基質濃度と酵素活性との関係は, 図15に示されるよう

図13 至適 pH と酵素活性

反応液 { 0.02M: Maltase Sol.
1.0 g/dl: Maltase Sol. (a)
0.5 g/dl: Maltase Sol. (b)
McIlvaine Buffer Sol.
37°C 60 min. インキュベート

図14 酵素濃度と酵素活性

反応液 { Maltase Sol. (0.2~2.0 g/dl)
唾液インキュベート炊飯米からの試液
37°C, 60 min. インキュベート

図15 基質濃度と酵素活性

反応液 { 酵素: 1000 mg/dl Maltase Sol. } 等
基質: { 0.002 } 容量
{ 0.02 } M Maltose Sol. } 量
37°C, 60 min., インキュベート

うに正比例関係を示した。

D インキュベーション時間と酵素活性

麦芽糖溶液および「唾液消化済み上清液」について試験した結果が図16である。いずれも60分で最高に達し、以後一定であつた。

E 澱粉液に対するマルターゼ作用

市販マルターゼを精製せずに使用するため、不純物としてアミラーゼの混在の可能性が考えられるので、澱粉液に対する糖化作用を検討した(図17参照)。すなわち著者が使用した市販のマルターゼ製品には、アミラーゼを含んでいると認められる。

図16 インキュベーション時間と酵素活性

反応液 { 酵素: 1000 mg/dl Maltase Sol.
基質: { a-0.02M Maltose Sol.
b-5 炊米30回咀嚼試料
c- " 10回 "

37°C, 60分, インキュベーション

図17 澱粉液に対するマルターゼの作用

反応液 { 酵素: 1000 mg/dl マルターゼ
基質: { a-1%澱粉液(100°Cで調製)
b-1%澱粉液(60°Cで調製)
37°C, 60 min., インキュベーション

F マルターゼの自家糖量

1000mg/dl マルターゼに含まれる還元力を葡萄糖として求めた結果は、114.0mg/dlであつた。

第7項 T-B 法とS-N 法による麦芽糖および葡萄糖の発色度

図18 検量線

濾紙クロマトグラフィーにそれぞれスポット1個を生ずるから純粋と認められる麦芽糖および葡萄糖について、それぞれ両方法の定法に従い発色させ、吸光度を測定した(図18参照)。

S-N法では麦芽糖、葡萄糖および両者の等量混合液はともに、ほぼ同程度に発色した。T-B法の場合、葡萄糖はS-N法と同程度に発色したがわずかにすぐれ、麦芽糖の発色はT-B法では非常に悪く、葡萄糖の13.1%に相当する発色を示し、両者の等量混合液は56.0%に

表7 実験結果の再現性(単位:糖量 mg)

咀嚼回数 例数	30 回	80 回
1	375.2	828.4
2	395.9	810.3
3	379.5	829.8
4	385.2	828.7
5	403.1	820.4
6	386.4	825.5
7	396.3	836.1
8	401.3	819.3
9	374.3	808.9
10	408.8	822.1
平均値	390.0±7.9	822.9±6.8

($\alpha=0.05$)

相当する発色を示した。

第8項 著者の方法による咀嚼試験成績の精度

同一被験者に、5炊米をテンホ M.M.=60、回数30および80回、各10例ずつ咀嚼試験を行なった結果(表7)、30回、80回ともその値は安定しているが、30回のほうが80回に比べバラツキが大きかった。

第9項 ペーパークロマトグラフィーによる咀嚼物中の糖の定性

図19は咀嚼回数に応じて検出されたスポットの数を示すが、生米(a)では葡萄糖と同定される1個、炊飯米(b)および炊飯乾燥米(c)では葡萄糖、麦芽糖とそれぞれ同

図19 ペーパー・クロマトグラフィーによる咀嚼物中の糖の定性

A: 生米, B: 炊飯米, C: 炊飯乾燥米

a: 0.02 M 葡萄糖 (1 μ l), b: 0.02 M 麦芽糖 (1 μ l)

0: 盲検(試験食品を咀嚼しなかった場合の試料 (5 μ l))

10-100: 咀嚼回数の違いによる試料 (5 μ l)

定されるスポットのほかに、なおそれぞれ3個（原点のスポットを含む）の未同定のスポットを認めた。これらはおそらく加水分解途上の小糖類であろう。

第3節 本章の小括

前節の成績を総括すると、以下のごとくである。

1. 著者考案の方法で試験食品を調製した。特殊容器を用いるため、水洗、炊飯、乾燥操作が簡単安易である。

生米は還元性物質が付着している可能性を考慮し、水洗いして使用するため、その被粉砕性は原木を用いるふり別け法の場合と異なると思われる。

炊飯米は咀嚼における臼磨機能を対象とし、米粒子形態、圧縮強度の恒常を考慮して調製した。

炊飯乾燥米は咀嚼の切断、破砕機能を対象として調製した。

これらの試験食品は水洗後もわずかながら還元性物質を含むことが認められる。これを米の中の固有な糖と考え、表5の成績の中にその量を示した。この固有の糖量を補正する必要があるので、補正手段として、咀嚼以前の試料をS-N法またはT-B法における毎回のブランクとして使用した。

2. 著者の方法で行なう口腔洗滌法が十分その目的を達すると考える。ただし、含嗽吐出後も、咀嚼試験の成績に関係なく、常にほぼ一定量の糖が見られるが、これは唾液内還元性物質に相当すると考えられるので、試験成績の補正を行なう必要がある。

3. 唾液アミラーゼ作用停止に対してN/10~N/5塩酸、M/10~M/5枸橼酸はともに効果があると思われる。

三好はN/10、N/2塩酸を用いているが、著者は後操作を考慮し、M/5枸橼酸5.0mlを吐出した咀嚼物に作用させ、唾液アミラーゼ作用の停止を行ない、ただちに0℃に保存する。

4. 咀嚼物の遠心分離条件検討のため、粒子の小さいほど沈澱しがたいことを考慮し、咀嚼粉砕されない米を用いたため、十分な考察は不可能であるが、 2.52×10^3 g以上では時間による影響はないこと、ならびに肉眼的観察を参考に、操作の容易性を考慮し、 6.99×10^3 g、20分間遠心分離することにした。

5. マルターゼの酵素活性がpH3.8~4.2で最高に達したので、至適pHを4.0と考え、分離後の上清液にM/5 Na_2HPO_4 溶液を加えて、pH=4.0に調製し、さらにpHメーター(TOA Dempa Co., Model HM5A)で検計修整する。

6. マルターゼ濃度は1000 mg/dlとし、緩衝液(pH=4.0)で溶解し、基質に対し等容量を使用することにした。

7. インキュベーション時間は、操作の都合上60分と定め、反応後ただちに糖定量を行なう。

8. 使用した市販マルターゼ製品は澱粉液に対し糖化作用を示した。

9. 1000 mg/dl マルターゼの自家糖量は114.0 mg/dlである。ゆえにマルターゼ使用後の糖量を補正する必要がある。

10. T-B法は麦芽糖の発色が悪く、葡萄糖と麦芽糖とが混合する試料の場合、本法では正確な糖濃度の測定は困難であるので、S-N法のみ用いて、マルターゼ作用後の試料(葡萄糖のみと考えられる。)の場合にS-N法およびT-B法を併用し、両者の値の平均値を測定値とした。

11. 著者の方法による咀嚼試験の成績の精度は高く、澱粉の生化学的消化に及ぼす咀嚼の効果を十分に反映すると考える。

12. 咀嚼物からペーパークロマトグラフィーで検出された糖は、生米では葡萄糖のみ、炊飯米および炊飯乾燥米ではそれぞれ葡萄糖、麦芽糖ならびに未同定の少糖類と思われるものであつた。

(次号につづく)

文 献

- 1) 中沢 勇：咀嚼機能について、日歯医師会誌、5：263-266、1950。
- 2) 石原寿郎：所謂咀嚼能率について、歯界展望、10：183-188、224-228、1953。
- 3) Moritz：Ueber die Functionen des Magens, Münchenen Med. wsch 4' 49：1143-1147、1895。
- 4) Brubacker, H.: Der Einfluss des Gebisses auf die Erkrankung des Magens, Monatsschrift für Zahnheilkunde, 18：148-152、1900。
- 5) Cohnheim, O.: Beobachtungen über Magenverdauung München Med. wschr., 52：2581-2583、1907。
- 6) 大山籍次郎：消化器としての歯牙の効価に就て、日消化器病会誌、26：13-20、1927。
- 7) Sognnaes, R. F.: Studies on Masticatory Efficiency [II] Masticatory Efficiency of Rats, Amer. J. Orthodont., 26：383-388、1941。
- 8) 旗手敏：義歯と消化、歯界展望、30：401-405、1967。
- 9) 坂本哲夫：消化吸収の面よりみたる咀嚼の意義に関する実験的研究、京大口科紀要、3：140-161、1962。
- 10) 本間邦則、大久保サキ子：胃における食物の状

- 態—咀嚼障害との関連について, 歯学, 50: 111-113, 1962.
- 11) 浜田泰男: 歯牙欠如による咀嚼障碍の持続が体重及び胃粘膜に及ぼす影響に関する実験的研究, 歯学, 53: 284-300, 1965.
 - 12) 山田一郎, 押谷誠之助ほか: 消化吸收より見た咀嚼に関する実験的研究, 京大口科紀要, 7: 234-238, 1967.
 - 13) Oefele: Mangelhaftes kauen und die Eigenschaften des Faeces, Dtsche. zahnärztl. wschr., 32: 330-331, 1901.
 - 14) Michel, A.: Was leisten die Zähne bei Ausnützung unserer Nahrung, Zahnärztl. Rdsch., 39: 943-944, 40, 949-973, 41, 999-1000, 1904.
 - 15) Euler, F.: Die Magenverdauung bei maschinellen Zerkleinerung des Fleisches, Dtsche. Zahnärztl. wschr., 7: 143-147, 1908.
 - 16) Schüte, F.: Beeinflusst das Gebiz die Verdauung?, Dtsche. zahnärztl. wschr., 29: 305-307, 1921.
 - 17) 原実: 食物の消化吸收に関する研究. 第1報・咀嚼条件を異にしたる際の消化吸收試験について, 慶応医学, 18: 1-9, 1938.
 - 18) 大森憲太: 咀嚼と消化吸収に就て, 慶応医学, 37: 55-60, 1955.
 - 19) 中山恒明, 中村武, 野口晃平, 草野芳昭: 口腔と消化管, 歯界展望, 17: 415-417, 1960.
 - 20) 矢崎正方: 下顎運動の解剖学的研究, 特に義歯の咀嚼能率に及ぼす関係に就て, 歯学報, 34: 17-31, 1929.
 - 21) Harvey, S.: Functions of the Occlusal Surfaces of the teeth, J. Amer. dent. Assoc., 13: 1392-1412, 1926.
 - 22) Sears, V. H.: Specifications for Artificial Posterior Teeth, J. prosth. Dent., 2: 353-361, 1952.
 - 23) Yurkstas, A. A.: The Influence of Geometric Occlusal Garvings on the Masticatory Effectiveness of Complete Dentures, J. prosth. Dent., 13: 452-461, 1963.
 - 24) Yurkstas, A. A. & Emerson, W. H.: Dietary Selections of Persons with Natural and Artificial Teeth, J. prosth. Dent., 14: 695-697, 1964.
 - 25) Yurkstas, A. A.: Measurement of occlusal contact area effective in mastication, Amer. J. Orthodont., 35, 185, 1949.
 - 26) Yurkstas, A. A. & Emerson, W. H.: Decreased Masticatory Function in Denture Patients; J. prosth. Dent., 14, 931-934, 1964.
 - 27) Yurkstas, A. A.: The Masticatory Act Review, J. prosth. Dent., 15, 248-262, 1965.
 - 28) Dahlberg, R.: The Masticatory Effect, J. Amer. dent. Assoc., 33: 82, 1946.
 - 29) 平沼謙二: 咬合面積並びにその咀嚼効果に及ぼす影響, 日補綴歯会誌, 1, 17-36, 1957.
 - 30) 津留宏道: 義歯機能に関する生理学的研究〔Ⅱ〕咬合面形態と義歯機能との関係, 阪大歯誌, 6: 353-366, 1961.
 - 31) Christiansen, G. E.: Einige Untersuchungen über das kauvermögen des Natulichen und des künstlichen Gebisses, Vierteljahrssch Zahnhlh., 5: 1-17, 1923.
 - 32) Gelman, S. E.: Die kaufunktionsprobe, Ztschr. Stomatol., 30: 957-970, 1932.
 - 33) Thompson, J.: Masticatory Efficiency as Related to Cusp Form in Denture Prosthesis, J. Amer. dent. Assoc. 24: 204-219, 1937.
 - 34) 坂本庸導: 咀嚼能率に関する実験的研究, 日矯正歯科会誌, 7: 1-4, 1938.
 - 35) 佐藤峰雄: 歯牙欠如と咀嚼能率との関係, 厚生歯科会誌, 7: 13, 1941.
 - 36) 神山稔: 咬合点数と咀嚼能率に関する実験的研究, 歯学報, 46: 725-729, 1941.
 - 37) Manly, R. S. & Louise, C. B.: Masticatory Performance and Efficiency, J. dent. Res., 29: 448-462, 1950.
 - 38) Manly, R. S. & Shiere, F. R.: The Effect of Dental Efficiency on Mastication and Food Perferericy, Oral Surg., Oral. Med., & Oral Pathol., 3: 647-685, 1950.
 - 39) Manly, R. S. & Paul, V.: A Survey of the Chewing Ability of Denture Wearers, J. dent. Res., 30: 314-321, 1951.
 - 40) Shiere, F. R. & Manly, R. S.: The Effect of the Changing Dentition on Mastication, J. dent. Res., 31: 526-534, 1952.
 - 41) Trapozzano, V. R. & Lazzari, J. B.: An Experimental Study of the Testing of Occlusal Patterns on the Same Denture Bases, J. prosth. Dent., 2: 440-461, 1952.
 - 42) 横田成三: 咀嚼機能の模型化による咀嚼粉碎の基礎実験, 九歯会誌, 8: 1-17, 1954.
 - 43) 横田成三: 咀嚼粉碎試験器による「送り」の研究, 九歯会誌, 8: 14-17, 1954.
 - 44) 横田成三, 折本俊夫: 咀嚼能率の新表示法, 九歯会誌, 8: 5-9, 1954.
 - 45) 佐藤通泰: 咀嚼能率の測定に使用する人工試料の研究, 九歯会誌, 12: 440-457, 1958.
 - 46) 石原寿郎: 篩分法による咀嚼能率の研究, 口腔病会誌, 22: 207-255, 1955.
 - 47) 石原寿郎, 平沼謙二, 富士川善彦: 咀嚼(粉碎)能力の簡易測定法, 歯界展望, 14: 1066-1069, 1957.
 - 48) 石原寿郎, 平沼謙二, 橋本譲ほか: 生米およびビーナツを試験食品とする咀嚼粉碎効率の相関関係について, 口腔病会誌, 26: 616-622, 1959.
 - 49) 小沢至: ポリエチレンフィルムによる咀嚼切断能力の研究, 口腔病会誌, 26: 274-292, 1959.
 - 50) 小沢至, 橋本譲: チューインガムによる咀嚼混

- 合能力の測定について, 日補綴会誌, 3: 52-55, 1959.
- 51) 橋本譲: 篩分法による各種咀嚼粉砕試験用食品の比較について, 口腔病会誌, 26: 648-676, 1959.
 - 52) 山川正夫, 天野仁一郎: 咀嚼の能率測定時の粉砕食品篩上残留量値の信頼度について, 歯医学, 31: 499-505, 1959.
 - 53) Kapur, K. K., Soman, S. & Stone, K.: The Effect of Denture Factors on Masticatory Performance [I] Influence of Denture Base Extension, J. prosth. Dent., 15: 54-64, 1965.
 - 54) Kapur, K. K., Soman, S.: The Effect of Denture Factors on Masticatory Performance [II] Influence of the Polished Surface Contour of Denture Base; J. prosth. Dent., 15: 231-240, 1965.
 - 55) Kapur, K. K., Soman, S.: The Effect of Denture Factors on Masticatory Performance [III] The Location of the Food Platforms; J. prosth. Dent., 15: 452-670, 1965.
 - 56) Kapur, K. K., Soman, S. & Shapiro, S.: The Effect of Denture Factors on the Masticatory Performance [V] Food Platform Area and Metal Inserts; J. prosth. Dent., 15: 857-866, 1965.
 - 57) 関根弘, 田島篤治, 森隆, 佐藤公雄, 堺清一: 咀嚼能力に関する研究(IV)咬合面間距離と粒子分布との関係について, 歯学報, 65: 774, 1965. 「抄録」
 - 58) Wirz, J.: Der Kau-effekt bei Steggelenkprothesenträgern, Schw. Mschr. Zahnhlk., 74: 586-590, 1964.
 - 59) Neill, D. J., Phillips, H. I. B.: The Masticatory Performance; Dental State and Dietary Intake of a Group of Elderly Army Pensioners, Brit. dent. J., 16: 581-585, 1970.
 - 60) Ono, I.: The Crushing Power and Mastication Area of the teeth as the Foundation of Oral Hygienies, Dent. Cosm., 63: 1278, 1921.
 - 61) Farrell, J. H.: The Digestibility of Raw and Cooked Meat, Proc. Physiol. Soc., 133: 40, 1956.
 - 62) Farrell, J. H.: The Effect of Mastication on the Digestion of Food, Brit. dent. J., 100: 149-155, 1956.
 - 63) Farrell, J. H.: Partial Dentures and the Restoration of Masticatory Efficiency, Dent. Pract., 7: 375-379, 1957.
 - 64) Farrell, J. H.: Masticatory Effect in Patients with and without Dentures, Federation dentaire Internationale, 14: 226-237, 1963.
 - 65) 三好泰: 澱粉消化に及ぼす咀嚼の影響, 日歯会誌, 22: 117-156, 214-231, 1927.
 - 66) 太田俊平: エネルギーによる咀嚼能力の表示法, 九歯会誌, 20: 69-84, 1966.
 - 67) 押鐘篤: 禾穀類澱粉に対する人唾液酵素の糖化作用, 歯月報, 19: 520-530, 1939.
 - 68) 佐々木流道: 唾液の澱粉消化機能に就て〔第1報〕本邦人の唾液消化機能の基準, 日消化機病誌, 26: 137-147, 1927.
 - 69) 藤森虎章: 各種澱粉に対する「アミラーゼ」の作用, 日歯口腔誌, 38: 46-54, 1930.
 - 70) 岡野太郎: 口腔液の酵素化学的研究, 殊に唾液 Amylase に就いて(綜説), 日之歯界, 17: 711-723, 800-813, 888-892, 958-963, 1937.
 - 71) Young, D.: Post and Present Methods and Results of Sugar Analysis of Saliva, J. dent. Res., 20: 597-626, 1941.
 - 72) Sreebny, L. M., Kirch, E. R. & Kesel, R. G.: The Location of the Glycolytic Enzymes in Saliva, J. dent. Res., 29: 506-511, 1950.
 - 73) Pigman, W. & Hawkins, W. L.: The Reducing Power of Human Saliva and Its Component Secretions, J. dent. Res., 37: 688-696, 1958.
 - 74) 佐藤運雄: 混合唾液の物理化学的性質, 殊に基の蝕蝕罹性との関係について, 日歯口腔会誌, 23: 1-112, 1927.
 - 75) 滝口久, 島田恒夫, 三村力松: 唾液中の還元性物質に関する研究, 歯月報, 29: 42-44, 1955.
 - 76) Mandel, L. D., Hampar, B., Thompson Jr. R. H. & Ellison, S. A.: The Carbohydrates of Human Parotid Saliva, Arch. oral Biol., 3: 278-282, 1961.
 - 77) Volker, J. F. & Pinkerton, D. M.: Some Observations on the Clearance of Glucose from the Oral Cavity, Arch. oral Biol., 3: 278-282, 1961.
 - 78) 三代幸彦: 唾液酵素, (押鐘篤監修: 歯学生化学, 東京, 1966, 医歯薬出版), 463頁.
 - 79) 藤森虎章, 田中賢一: 酸及び「アルカリ」に由る唾液アミラーゼの破壊, 日歯口腔会誌, 32, 10-17, 1927.
 - 80) 舟阪渡, 室井要: 水分の定量, 東京, 1969, 第1版, 東京化学同人.
 - 81) Somogyi, M.: Note on Sugar Determination, J. biol. Chem., 195: 19-32, 1952.
 - 82) Somogyi, M.: A New Reagent for the Determination of Sugar, J. biol. Chem. 160: 61-68, 1945.
 - 83) Somogyi, M.: Determination of Blood Sugar, J. biol. Chem., 160: 69-73, 1945.
 - 84) Nelson, N.: A Photometric Adaptation of Somogyi Method for the Determination of Glucose, J. biol. Chem., 153: 375, 1944.
 - 85) 玄帝昭夫: Somogyi-Nelson 法, 臨床病理, 臨時増刊, 特集「15号」, 11-20, 1968.
 - 86) 佐々木禎一: o-Toluidine を用いる血糖の簡易定量法, 臨床病理, 臨時増刊, 特集15号, 45-54, 1968.
 - 87) 丹羽正治, 北村元佐: オルト・トルイジン・ホウ酸法, 臨床化学分析〔Ⅲ〕, 11-15, 1966.