- (3) 反應溫度 90~94° (恒温槽溫度)
 (4) 檢 体 $n/2$ glucose
 (5) 標準溶液 $n/10$ $K_3Fe(CN)_6$ ($F=1.00$) 5 cc
 $n/10$ Na_2CO_3 5 cc
 水 20 cc
 $n/10$ $K_3Fe(CN)_6$ ($F=1.00$) 1 cc $\equiv$ glucose 0.0045 g
 (6) 理論当量点 1 cc
 (7) 測定法 E.M.F. 1 cc より 1.1 cc

本稿を終るに臨み本研究に御指導を賜つた高木教授に深甚の意を表すると共に終始実験に協力を得た中野三郎、佐伯和子の両君に衷心より感謝の意を表する次第である。尙本研究に於て文部省科学研究費の交付を受けた事を感謝する。

Summary

By the new method of titration, quantitative determination of glucose was found to be possible from calculation of following equation:

$$\text{Amount of glucose} = 0.45025 \times \{2 - [T + (2 - n)]\}$$

when determined with a solution containing less than 0.675 mg. of glucose in 10 cc., at 60°C., and 15 minutes using the KIO method.

(Received May 8, 1950)

159. 佐伯 孝： 血糖の新定量法の研究 (第5報)

Takashi Saeki: Studies on a New Quantitative Determination of Blood-Sugar.

(Meiji College of Pharmacy)

著者は前報に於て実験1 (第1表) 及実験2 (第2表) の実験結果より KIO 法の應用は葡萄糖の定量に應用し得る事を認めたるも、血液中の葡萄糖の定量に當り其濃度に於て果して反應が定量的に進行し、果して確實に葡萄糖の含有量を定量し得るかは疑問である。血糖の定量に當りて著者は Hagedorn-Jensen 法に於けると同様に唾液 0.1 cc を採血し除蛋白を行える検液を約 10~20 cc 容量とした。従つて人間の場合は此中に葡萄糖を 0.07~0.120~0.150 mg 含有して居る筈である。従つて本実験に於ては操作前の検液を 10 cc となし葡萄糖の含有量を 0.45 mg 以下の場合の実験を行い以て血糖の定量の基礎実験とせんとす。

實 験 の 部

- 1) (A) 檢体 0.005 n -glucose 0.0 cc~10 cc (B) 水を加え全量を 10 cc とする。

即ち檢体 10 cc 中には 0.005 n glucose 0.0 cc~1.0 cc を含有する。

- (C) n -KOH...0.2 cc (D) 0.005 n -I.....2 cc

即ち 0.005 n glucose 0.0 cc~1.0 cc に蒸留水を加え全量を 10 cc に稀釈し充分に振盪する。次に n -KOH 0.2 cc を加え混和後 0.005 n -I 2 cc を加える。

- 2) 以上の混液を次の実験結果に示すが如き反應溫度、反應時間で処理する。

- 3) 稀硫酸 (1:4) 2 cc を加え酸性とする。

- 4) 0.005 n $Na_2S_2O_3$ により澱粉溶液を標示薬として滴定する。

試薬の調整法

前報所載の実験1に同じ。使用せる葡萄糖は mp 140~148° にして前回使用の葡萄糖を更に再結晶したもので

ある。

第1表 0.005 n - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 及マイクロビュレットを用うる滴定

検体 番号	供 試		実 測				備 考	
	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		反應溫度	反應時間	$0.005-n$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (補正值)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		
	$0.005-n$ cc	mg				cc		mg
1	0	0	40°	5	1.96	0	0	盲檢
2	0	0	40°	5	1.96	0	0	"
3	0	0	60°	15	1.92	0	0	"
4	0	0	60°	15	1.92	0	0	"
5	0.01	0.0045	60°	15	1.99	0.01	0.0045	
6	0.01	0.0045	60°	15	1.99	0.01	0.0045	
7	0.01	0.0045	60°	20	1.99	0.01	0.0045	
8	0.01	0.0045	60°	20	1.99	0.01	0.0045	
9	0.10	0.0045	60°	5	1.90	0.10	0.045	
10	0.10	0.0045	60°	5	1.90	0.10	0.045	
11	0.10	0.0045	60°	10	1.90	0.10	0.045	
12	0.10	0.0045	60°	10	1.90	0.10	0.045	
13	0.10	0.0045	60°	15	1.90	0.10	0.045	
14	0.10	0.0045	60°	15	1.90	0.10	0.045	
15	0.10	0.0045	60°	20	1.90	0.10	0.045	
16	0.10	0.0045	60°	20	1.90	0.10	0.045	
17	0.3	0.135	60°	10	1.70	0.30	0.135	
18	0.3	0.135	60°	10	1.70	0.30	0.135	
19	0.3	0.135	60°	15	1.70	0.30	0.135	
20	0.3	0.135	60°	15	1.70	0.30	0.135	
21	0.3	0.135	60°	20	1.70	0.30	0.135	
22	0.3	0.135	60°	20	1.70	0.30	0.135	
23	0.5	0.225	60°	10	1.50	0.50	0.225	
24	0.5	0.225	60°	10	1.50	0.50	0.225	
25	0.5	0.225	60°	15	1.50	0.50	0.225	
26	0.5	0.225	60°	15	1.50	0.50	0.225	
27	0.5	0.225	60°	20	1.50	0.50	0.225	
28	0.5	0.225	60°	20	1.50	0.50	0.225	
29	0.7	0.315	60°	15	1.30	0.70	0.315	
30	0.7	0.315	60°	15	1.30	0.70	0.315	
31	0.7	0.315	60°	20	1.30	0.70	0.315	
32	0.7	0.315	60°	20	1.30	0.70	0.315	
33	1.0	0.45	60°	10	1.08	0.92	0.415	
34	1.0	0.45	60°	10	1.08	0.92	0.415	
35	1.0	0.45	60°	15	1.00	1.00	0.45	
36	1.0	0.45	60°	15	1.00	1.00	0.45	
37	1.0	0.45	60°	20	1.00	1.00	0.45	
38	1.0	0.45	60°	20	1.00	1.00	0.45	
39	0	0	70°	5	1.94			盲檢
40	0	0	70°	5	1.94			"
41	0.1	0.045	70°	5	1.90	0.10	0.045	

42	0.1	0.045	70°	5	1.90	0.10	0.045
43	0.1	0.045	70°	10	1.90	0.10	0.045
44	0.1	0.045	70°	10	1.90	0.10	0.045
45	0.1	0.045	70°	15	1.90	0.10	0.045
46	0.1	0.045	70°	15	1.90	0.10	0.045
47	0.1	0.045	70°	20	1.90	0.10	0.045
48	0.1	0.045	70°	20	1.90	0.10	0.045
49	0.2	0.090	70°	5	1.80	0.20	0.090
50	0.2	0.090	70°	5	1.80	0.20	0.090
51	0.2	0.090	70°	10	1.80	0.20	0.090
52	0.2	0.090	70°	10	1.80	0.20	0.090
53	0.2	0.090	70°	15	1.80	0.20	0.090
54	0.2	0.090	70°	15	1.80	0.20	0.090
55	0.2	0.090	70°	20	1.80	0.20	0.090
56	0.2	0.090	70°	20	1.80	0.20	0.090
57	0.5	0.225	70°	5	1.52	0.48	0.216
58	0.5	0.225	70°	5	1.52	0.48	0.216
59	0.5	0.225	70°	10	1.50	0.50	0.225
60	0.5	0.225	70°	10	1.50	0.50	0.225
61	0.5	0.225	70°	15	1.50	0.50	0.225
62	0.5	0.225	70°	15	1.50	0.50	0.225
63	0.5	0.225	70°	20	1.50	0.50	0.225
64	0.5	0.225	70°	20	1.50	0.50	0.225
65	0.6	0.270	70°	10	1.40	0.60	0.270
66	0.6	0.270	70°	10	1.40	0.60	0.270
67	0.6	0.270	70°	15	1.40	0.60	0.270
68	0.6	0.270	70°	15	1.40	0.60	0.270
69	0.6	0.270	70°	20	1.40	0.60	0.270
70	0.6	0.270	70°	20	1.40	0.60	0.270
71	0.7	0.315	70°	5	1.34	0.66	0.297
72	0.7	0.315	70°	5	1.34	0.66	0.297
73	0.7	0.315	70°	15	1.30	0.70	0.315
74	0.7	0.315	70°	15	1.30	0.70	0.315
75	0.7	0.315	70°	20	1.30	0.70	0.315
76	0.7	0.315	70°	20	1.30	0.70	0.315
77	1.0	0.450	70°	10	1.00	1.00	0.450
78	1.0	0.450	70°	10	1.00	1.00	0.450
79	1.0	0.450	70°	15	1.00	1.00	0.450
80	1.0	0.450	70°	15	1.00	1.00	0.450

結論 著者は第1表に示す実験の結果、反應溫度が 60~70° の場合、反應は定量的に進行し 10~20 分以内に於て葡萄糖液の濃度を測定する事が出來溫度 50° 以下の場合は 20 分以内に於ては葡萄糖に対する酸化反應は未完了で 80~100° に於ては種々なる誤差を生じ易くなる恐れがある。次に反應溫度は 60~70° が最適の溫度と見做される。本実験に於ては反應溫度、反應時間を一定にして其他の条件を変化せしめて測定を実施した。

5) 使用器具 内径 2~3 mm 長さ 190 mm の硬質試験管を使用す。

A) 試験管其儘を使用する。 B) 試験管の口を内径 5~6 mm 位に細くせるもの。 C) 試験管の口にゴム栓を軽く嵌合せるもの。

第2表 0.005 n - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 及マイクロビュレットを用うる滴定

検体 番号	供 試		実 測					実験
	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		反應溫度	反應時間	0.005- n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (補正值)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		誤差
	0.005- n cc	mg				0.005- n cc	mg	
1	0.0	0.0	60°	15	1.92			盲檢 " "
2	0.0	0.0	60°	15	1.92			
3	0.0	0.0	60°	15	1.92			
4	0.1	0.045	60°	15	1.90	0.1	0.045	
5	0.1	0.045	60°	15	1.90	0.1	0.045	
6	0.2	0.090	60°	15	1.80	0.2	0.090	
7	0.2	0.090	60°	15	1.80	0.2	0.090	
8	0.3	0.135	60°	15	1.70	0.2	0.090	
9	0.3	0.135	60°	15	1.70	0.3	0.135	
10	0.4	0.180	60°	15	1.60	0.4	0.180	
11	0.4	0.180	60°	15	1.60	0.4	0.180	
12	0.5	0.225	60°	15	1.50	0.5	0.225	
13	0.5	0.225	60°	15	1.50	0.5	0.225	
14	0.6	0.270	60°	15	1.40	0.6	0.270	
15	0.6	0.270	60°	15	1.40	0.6	0.270	
16	0.7	0.315	60°	15	1.30	0.7	0.315	
17	0.7	0.315	60°	15	1.30	0.7	0.315	

以上の結果 C) の場合が操作簡單にして良結果なる事を認む。

〔1〕 酸性にして沃度を遊離せしめる時の酸の種類。

A) 稀硫酸 (1:4) の場合、(酸化性物質を含有せざる純粹のもの)。 B) 稀塩酸 (10%) の場合。 C) 氷醋酸の場合。 D) 稀醋酸の場合。

A), B) の場合は大体同一結果なるも稀硫酸の場合の方が良好である。 C), D) の場合は遊離沃度の速度が遅く良好ならず。

〔2〕 0.005 n - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 滴定時の試験管の振盪方法に於て攪拌棒を使用せる場合と普通の振盪の場合も大差を認めず。

〔3〕 反應溫度 60° の場合。葡萄糖の含有量が溶液 10 cc 中に 0.45 mg 以下の濃度の際は反應時間が 15 分、20 分の場合定量可能なり。

〔4〕 反應溫度 70° の場合。葡萄糖の含有量が溶液 10 cc 中に 0.45 mg 以下の濃度の際は反應時間が 10 分、15 分、20 分の場合が定量可能である。

以上の結果第1表に示す実験の操作法に於て 60~70° の反應溫度に於て 15~20 分間の加熱時間で葡萄糖を定量し得ることを認めた。著者は前報第1表 (実験1)、第2表 (実験2) 及本報第1表 (実験1) の実験結果より KJO 法が葡萄糖の定量に應用せられ而も血糖の定量に於ける条件下の葡萄糖の含有量の範圍内に於ても定量可能なる事を認め得た。著者は更に第2表に示したる実験に於て更に嚴密なる実験を行い純葡萄糖の定量に關して再検討を実施した。即ち検体 10 cc 中に 0.005 n -glucose 0.7 cc (純葡萄糖 0.315 mg) 以下を含有するものに就て実施し其 10 cc をホールビュレットにて採取し之に n -KOH 0.2 cc を加え振盪する。容器は内径 23 mm 長さ 190 mm の硬質試験管を使用する。以上の混液にゴム栓を軽く嵌合し、水浴中にて 60° ($\pm 0.2^\circ$) にて 15 分間加温する。反應溶液は室温に冷却するに至り、栓を取り稀硫酸 (1:4) 2 cc を加えたる後精密マイクロビュレット (10 cc の精密ビュレットを使用す、其の目盛は 0.02 cc にして其の1滴は 0.02 cc に相当する) より 0.005 n - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を滴下し最後に澱粉溶液を指示薬として定量するものとす。

試薬の調製法は前報に於けると全く同様なり。著者は第 2 表に示したる実験 2 の操作に於て葡萄糖を定量したるに葡萄糖の含有量が溶液 10 cc 中に 0.315 mg 以下の場合に於ては定量に使用せる葡萄糖の採取量と実験により測定し得られたる葡萄糖との含有量が一致することを認めた。著者の実施せる KJO 法を應用したる葡萄糖の新定量法は葡萄糖の濃度純度を求めんとする場合には予め検液を 10 cc 中に大体葡萄糖の含有量が 0.315 mg 以下になる程度に稀釈し実験 2 の操作法により 0.005 n - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ の滴定数 (補正值) を求め前報所載の実験 2 の結論の計算法により葡萄糖の含有量を求め其濃度或は純度を定量し得るものである。算出の式は次の如し。

$$\text{求むる葡萄糖の含有量} = 0.45025 \text{ mg} \times \{2 - [T + (2 - t)]\}$$

本稿を終るに当り本研究に対し御指導を賜りたる高木教授に対し深謝の意を表わすと共に御援助を賜つた恩田学長並びに実験に当り終始協力を得た中野三郎、佐伯和子の両君に対し衷心より感謝の意を表する次第である。尙本研究に対し文部省の科学研究費の交付を受けた事を重ねて感謝する次第である。

明治薬科大学 (昭和 25 年 5 月 8 日受理)

Summary

It was proved by the present experiments that, by utilizing the new method of quantitative determination, concentration of glucose can be obtained fairly accurately in a solution containing less than 0.315 mg. in 10 cc. The purity of a glucose solution, therefore, can also be determined to this amount. This has allowed the assumption that the amount of glucose in blood could be determined with 0.1 cc. of blood, from which protein has been removed and made into a 10 cc. solution. (Received May 8, 1950)

160. 佐伯 孝： 血糖の新定量法と H-J 法との比較研究 (第 6 報)

Takashi Saeki : Comparative Studies on a New Quantitative Determination of Blood-Sugar and H-I Method.

(Meiji College of Pharmacy)

血糖の新定量法の研究に当り著者は先に研究発表せる KJO 法を應用した葡萄糖の新定量法を本研究の前提試験として且つ之と関連性を持たし実施したのである。本定量法実施に当りては常に Hagodorn-Jensen 法による血糖定量法と比較対照し其正確度を比較対照した。其実験結果は次表に示す通りである。

定量法原理

既に述べたる葡萄糖の新定量法の原理と同様にして其反應機構は次に示すが如し。

即ち蛋白質を除いた血清に一定量の沃度とアルカリとを加え一定時間一定温度に於て加温すると血糖即葡萄糖は次亜沃度酸を還元して沃度加里に変化する。次に残留した沃度酸加里を酸性となし、茲に遊離せる沃度をチオ硫酸ソーダにて滴定して糖量を求めるのである。

試 薬

血液除蛋白用試薬

[A] 藤田、岩竹法 イ) 硫酸カドミウム 13 g, 定規硫酸 63.5 cc, 水にて 1000 cc とす。