

組織酸素消費に及ぼす高水圧の影響の Oxigraph 的研究

第 1 編

水溶液内溶存酸素特に高水圧下に於ける溶存酸素の
Oxigraph による測定に関する研究

岡山大学医学部第一生理学教室 (主任: 林 香苗教授)

助 手 河 野 育 夫

〔昭和 33 年 9 月 17 日受稿〕

緒 言

従来諸種組織の酸素消費に関する研究は多くあるが、すべて Warburg 氏検圧法若しくは Winkler 氏測定法によつて行われたものであつて、まだ酸素消費の時間的経過を連続的に記録報告したものは少ない。さきに教室の川岡等により行われた高水圧下の組織の酸素消費についての研究も、実験装置の関係上検圧法さえ利用せず、Winkler 氏法によつて 5~10 分という一定期間内の酸素消費量を復圧後測定したものである。よつて私は更に酸素消費状態を加圧中時間的に連続して追求したいと考え、北大の望月²⁾によつて試作された Oxigraph を使用し、はじめて高水圧下に Polarograph による酸素測定法を導入して、高水圧下に於ての水溶液の溶存酸素の測定に関し、認めるべき成績を得ることが出来た。

Oxigraph 法による高水圧の緩衝液の緩衝能に及ぼす影響、溶液の pH、解離度及び還元性等についての研究は、さきに著者等¹⁾によつて報告されたところであつて、本編に於ては本法による高水圧下の組織酸素消費の測定の基礎実験とも言ふべき常圧及び高水圧下に於ける水溶液内溶存酸素の実測に際して諸条件の及ぼす影響についての研究を報告する。

A) 測定方法及びそれに対する考察

望月²⁾により試作された Oxigraph については、望月及びその共同研究者達⁴⁾によつてかなり詳細な報告が行われている。又常圧下に於て、組織片及び細胞浮遊液⁽⁸⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾の酸素消費についての実測もなされている。近年生体組織を損傷することなく溶存酸素濃度を測定するために、滴下水銀電極のかわりに固定微小白金電極を用いて Polarograph 分析を行うことが Kolthoff, Laitien, Davis,

Brink, Bronk 等により試みられて来たが、安定性及び再現性に乏しいことに難点があつた。従来の固定白金電極 Polarograph に比べて Oxigraph に於て改良せられた点は、電極に正負電圧を交互に一定時間宛かける様式を採用して電流の安定を保つようにされたことにあると言える。

正負の加電圧は使用する溶液の酸素濃度測定に當つて限界電流値が安定する値をとれば良いのであるが、私は Ringer 氏液を使用しての測定には、通常 +0.50 V, -0.65 V を主として使用した。また正負加電圧の持続時間は 7.5 sec とした。

1) 電極に就て

白金電極として直径 0.3 mm の白金線を硝子管に封入し、その硝子管端にのぞかせた白金線断端を Red ochre を付けて Paraffin paper 上で平滑に研磨しその断面だけを溶液に接するようにした。本法に於ける白金電極の構造と電流値との関係については Bürger¹²⁾等の詳細な研究があるが、得られる限界電流の値は白金電極の面積に正比例する。また白金電極の前処理については菊地¹³⁾, Rogers¹⁴⁾の報告もあるが脂質を除去すれば清拭手段による影響はあまり見られない。対極の不分極電極としては白金電極に比し表面積を大とした銀塩化銀電極ならびに甘汞電極を使用した。中でも銀塩化銀電極については完全な不分極性を得るためにはその取扱が充分慎重でなければならぬが、反面、私の実験の如く制限された狭い場所内に於ての操作には非常に簡便である利点がある。甘汞電極に於ては不分極性を得やすい反面、限られた狭い場所内に於ての操作は頗る困難である。更に常圧下に於ての両者を比較して見ると限界電流値の安定性及び酸素濃度の感度に於て、甘汞電極が必ずしも銀塩化銀電極に比して優れてい

Table. 1 Influence of the form and length of silver wire, as well as the time of electric gilding on the limiting current value. (Ag-AgCl electrode)

A. Influence of the form and length.

	form	length	l. c. v.
No. 1	spiral	0.8 cm	1.90
No. 2	"	1.5 cm	1.95
No. 3	"	2.2 cm	1.95
No. 4	"	2.5 cm	1.95
No. 5	lineal	0.8 cm	2.10
No. 6	"	1.5 cm	2.15
No. 7	"	2.2 cm	2.15
No. 8	"	2.5 cm	2.20

B. Influence of the time of the electric gilding.

	form	length	time	l. c. v.
No. 1	spiral	2.2 cm	1 min.	1.95
No. 2	"	"	2 min.	1.95
No. 3	"	"	3 min.	1.95

0.65% Ringer's solution, 15°C 1 Atm.

るとは言い切れないし、電極製作後電位の安定までにはかなりの時日を必要とする不便がある。このような点から私は多くの場合銀塩化銀電極を使用して実験を進め、時に応じて甘汞電極を併用して補正する方法を採った。銀塩化銀電極作製に当つて多少の手技の不同は左程意とするに及ばない(第1表)。

2) 電解槽に就て

電解槽の種類によつても限界電流値は異つて来るのであるから、限界電流値より酸素濃度への換算式は、厳密には電解槽及び電極についてその都度作製しなければならない。寒天橋の影響は寒天が一様に

作られるようにある程度注意を払えば左程問題とするには及ばない。之に反して組織片を入れた際の電導度の低下は無視出来ない。一方、組織片についての測定に際しての酸素濃度の時間的変動のあらわれかたは、拡散によるため、白金電極より組織片各部への距離も問題となる。試験組織片を実験の都度常に一定の状態に電解槽内に入れることは不可能であるから、組織片を入れた場合には、浮游液の場合と違つて、酸素量の消長は測定され得るけれども、換算式を用いて消長の絶対量を推測することは難かしい。

3) 安定性及び再現性

前述の電極を使用した場合の安定性及び再現性を第2表に示した。即ち同一条件下で60分の時間経過による限界電流値の変動は認められないし、同一試料よりは同一の電流値を得られると見做してよい(第2表A)。安定性は試みに酸素濃度の異つた試液を用いても同様である(第2表B)。切替等⁴⁾は平面電極を用いた場合その安定性は0.5%内外にとどまり、充分測定に耐えうるとしたが、私の前記の成績はより良好で、安定性及び再現性が満足されるものであることを示している。

4) 加圧装置に就て

高圧 Bomb としては教室備付けの 2000 kg/cm² まで油圧に堪える鋼鉄 Bomb を使用した。第1図の如く Bomb 内に導線を導き、白金電極及び銀塩化銀電極若しくは甘汞電極を取付けた。被検液を充した電解槽は白金電極側でゴム栓により固定支持され、銀塩化銀電極若しくは甘汞電極側に於て開放され、槽全体が Bomb 内モビール油に浸される。Bomb

Table. 2 Stability and reproducibility by using Oxigraph with flat type Pt electrode.

A. Reproducibility

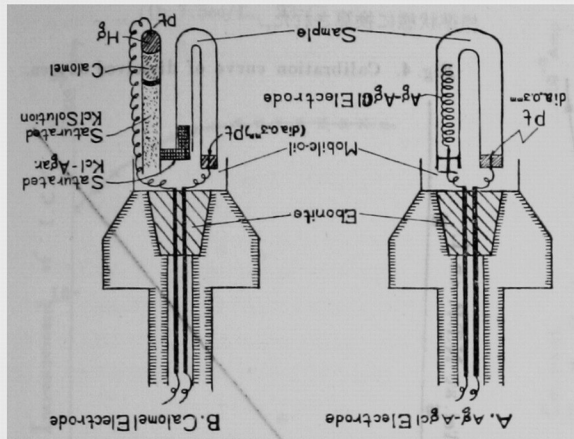
	O ₂ conc.	10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	50 min.	60 min.	Av.
No. 1	1.45	1.90	1.90	1.85	1.90	1.85	1.90	1.88
No. 2	1.45	1.90	1.90	1.85	1.85	1.85	1.90	1.88
No. 3	1.45	1.85	1.90	1.85	1.85	1.90	1.85	1.87
	Average	1.88	1.90	1.85	1.87	1.87	1.88	1.88

B. Stability

	O ₂ conc.	10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	50 min.	60 min.	Av.
No. 1	2.60	4.45	4.45	4.50	4.45	4.50	4.50	4.48
No. 2	3.50	5.66	5.60	5.60	5.65	5.65	5.65	5.63
No. 3	3.95	6.55	6.55	6.50	6.55	6.50	6.55	6.53

0.65% Ringer's solution, 22°C 1 Atm. Oxygen concentration is indicated by titrated Na₂S₂O₃ amount after winkler

Fig. 1. Schema of both electrodes installed in a high pressure bomb.



の導線の外端は OXIGRAPH に連結され、また Bomb 中のモビール油に油圧ポンプから圧力が加わると被検液が加圧される。注意せねばならぬのは使用後の電解槽及び電極、ことに白金電極のモビール油による汚染で、**充分な洗滌が望ましいが**、石鹼水による洗滌と Benzol による清拭の反復及び時々クロム硫酸で洗滌することによつて必要な再現性が得られた。高圧 Bomb 内腔は細長い円筒状をなし、容積は約 30 cc に過ぎぬので、構造やや複雑な甘汞電極は小さく作られてはあるが、その操作はかなり困難である。

B) 電流電圧曲線と溶存酸素濃度との関係ならびにそれに及ぼす高水圧の一般的影響に就て

1) 電流電圧曲線及びそれに及ぼす高水圧の影響に就て

微小固定白金電極 Polarograph による酸素の電流電圧曲線については、Kolthoff, Lingane 等を始めとして、幾つかの理論的考察が加えられているが未だ充分解明したものはない。望月は OXIGRAPH について Platinized Platinum Electrode と Bright Platinum Electrode を使用しての電流電圧曲線を求め、曲線は前者に於て限界電流はより典型的であるが、安定性、再現性は後者に及ばないとした。又両者の曲線の実験式を求め、夫々理論式に一致することを示した。

高水圧下で Polarography を行つた報告は未だ嘗つてみあたらない。常圧下に於て Ringer 氏液を被検液として、負加電圧を変えてゆくと、0 Volt より -1.0 Volt までの範囲で、酸素波についての典型的な電流電圧曲線が得られ、液圧を上げると既に

報告した通り、一般的に言つて高水圧の下では電流電圧曲線はその限界電流値に於て若干上昇し、最終電流上昇の度が高まる。望月の理論式について考えると、高圧下で変り得ると考えられるものは、拡散ならびに吸着に関する項である。実際、あとに述べる如き加圧若くは除圧時の限界電流値の一時的変動等は圧により吸着状態の蒙る影響を考えなければ説明し難いのであるが、高圧下に於ける他の諸実験成績より考え、恐らく実際の電流電圧曲線式には解離度等に関する項も含まれていて、加圧によりそれが可逆的に大となり、大なる負電圧の下では溶液は易還元性となると思われる。

又振動波は高水圧下で一般に大となり、除圧すると復元する。水銀滴下電極 Polarograph の振動波については詳細¹⁵⁾¹⁶⁾な理論的解析が従来行われているが、それに於ても圧により影響を受けられる項は含まれていない。勿論私の場合は流れる電流は矩形波であるから同一には論ぜられぬけれども、圧による振動波変動の説明はつけ難い。

種々の溶液の電流電圧曲線に及ぼす高水圧の影響についてはその一部は先に報告したところであるが、本研究に関連深き点については後に詳述する。

2) 酸素波の限界電流値及びそれに及ぼす高水圧の影響

電流電圧曲線に於て限界電流を示す範囲では電流値即ち OXIGRAPH の読みと Winkler 氏法等により測定せられた溶存酸素濃度とは直線関係になり(第2図, 第3図参照), 第3図の上で溶存酸素濃度が換算される。一般に白金電極では水銀滴下電極に比し溶存酸素の還元波は正電位側にずれるが、私は正加電圧 0.50 V, 負加電圧 -0.65 V に固定してその場合に示される限界電流値を OXIGRAPH の読みとして使用した。換算図はさきに述べた如く、各電極、更に厳密には各々の測定条件につき求めて使用しなければならないが、数値的計算をし得る実験条件以外では、増減のみしか判定できぬことが多く、かかる際には換算の手数が省けるわけである。私は化学的分析法¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾としては、Winkler 氏法と Bunsen の吸収係数による方法とを併用した。Winkler 氏法に於ては空気より遮断するために検液を注射器に採り、流動パラフィンを入れた瓶中に注入して測定した。流動パラフィンは寒冷時に於ては流動性低くな

Fig. 2. Influence of Oxygen concentration on C-V curve of 0.65% Ringer's solution.

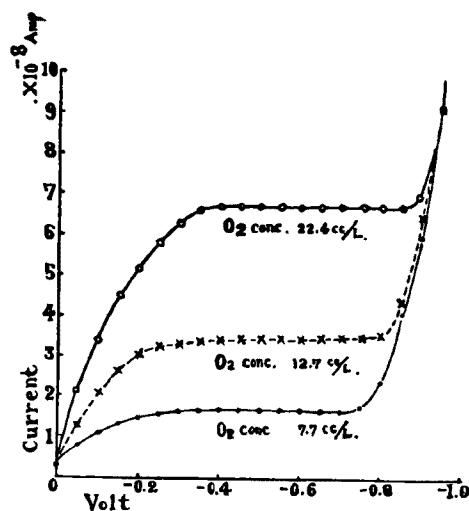
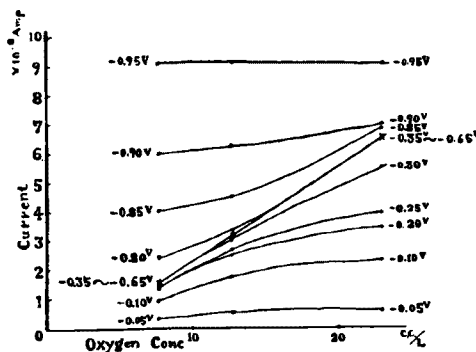


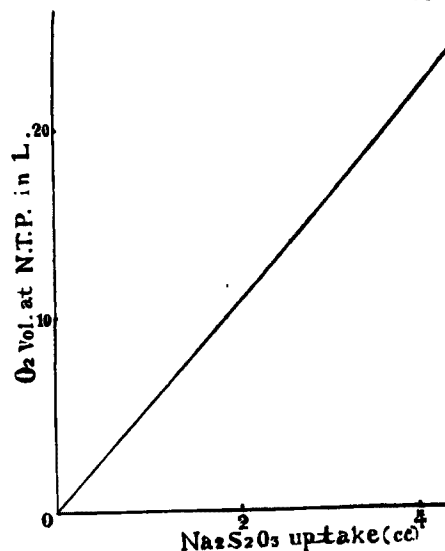
Fig. 3. Relation between oxygen concentration and limiting current value (0.65% Ringer's sol.)



り、ためにチオ硫酸ソーグによる滴定の際、滴が小滴となつてパラフィン中に停滞し易いので、一部 Toluene にかえて試みてみたが空気遮断能には大差ない、Winkler 氏法は手技により誤差を生じ易い判定法なので充分注意した。正確度の判定としては時に応じて一定温度及び標準気圧の下で本法で得た値と、Fox 及び Jacobsen の理論式による数値と比較し、その差が大とならぬよう習熟した。また一旦得られた換算図を通して読みとられた Oxigraph による酸素濃度の値を、上述理論式で得られた値と時に応じて比較吟味した。酸素の溶存量が少い時は Winkler 氏法では測定困難であり、一気圧以下では Bunsen の吸収係数による方法でも直線の関係は得られなかつた。即ち溶存酸素が標準状態に換算して 1 l 中 6 cc 程度以下では、Oxigraph による測定

はむづかしい、Winkler 氏法によるチオ硫酸ソーグ滴定量は第 4 図の換算図で溶液 1 l 中の酸素体積標準状態に換算された。

Fig. 4. Calibration curve of dissolved oxygen.

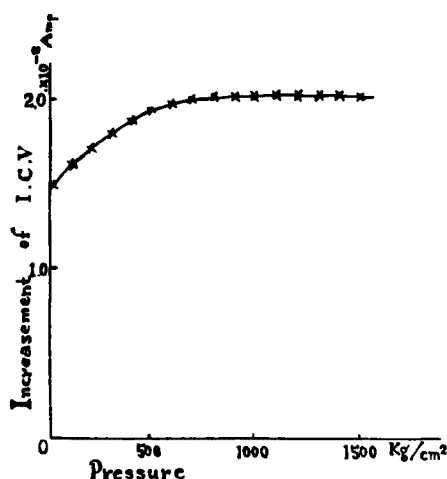


高水圧は先に述べた場合、限界電流値の値を高めるが、1500 kg/cm² までの加圧では緩衝液では酸素還元波の電位には影響を及ぼさぬことは興味深い。

3) 加圧により溶存酸素の示す一時的限界電流上昇現象に就て

酸素の溶存している Ringer 氏液に圧を加えると、限界電流値は一時上昇し、暫くしてその圧の下に於ける安定値に下りその値に安定する。この一時的上昇の程度は、溶存酸素量に比例し、かつその持続が長い。なおこの現象は加圧の際電流計を一時回路外におき加圧後回路に復しても同様にみられ、加圧による機械的衝撃のためとは思われない。今同一溶液について加圧とこの一時的電流上昇値との関係を図示すると第 5 図の如くなり、ほぼ 1000 kg/cm² 以上ではその値はほぼ一定となる。かかる現象は窒素ガス通気や、Pyrogallol 使用等種々の方法によつて Ringer 氏液より酸素を除いたものでは起らず、電流値は加圧に応じて単に階段状に上昇するのみである。溶存酸素によりかかる現象が起ることは溶存酸素の電極面に於ける平衡が加圧により何等かの機転のために乱れ、再び一定となるまでに若干の時間を要するものと考えられるが、その本態は明らかにし得ない。加圧により上昇した限界電流値が除圧により可逆的に復元する点から、加圧の折溶存酸素が

Fig. 5. Temporary increment of limiting current value by pressure increased.
(O₂ 7.5cc/L., 23°C)



油へ散逸するとは考えられない。加圧が電極面の平衡に電圧変位と同じ効果を及ぼすかは疑問である。酸素の電極面への吸着が平衡するのに時間を要するためと思えるが断言は出来ない。

4) 温度変化の常圧下及び高水圧下限界電流値に及ぼす影響について

Ilkovic は水銀滴下電極に於て拡散電流と温度との関係について理論的に考察を試み、当量伝導度の温度係数については Walden の法則を使用して 18°C 附近に於ては温度 1°C の上昇につき約 1.63% 電流値は増加する筈であるとしたが、実際は Ion の種類により異なり、Nejedlý は KCl 溶液中で種々の金属 Ion につき実測して、25~50°C の平均温度係数は 1°C につき 1.3~2.3% となり、この温度係数は一般に高温となる程大なることを確めた。さきに切替らは白金電極について、電流値は 10°C から 40°C の間に於ては温度とともにほぼ直線的に増加し、高温となれば温度係数は増大するとした。吾々の実験では厳密には温度により受ける酸素濃度の影響の補正をしなくてはならない。第 6, 7 図は 1 気圧下で Ringer 氏液内での記録であるが、温度によつては限界電流の正又は負電位側への移動は見られず、限界電流値はほぼ直線状に上昇して、10~40°C に於て 1°C あたりの上昇は 0.08 程度で、15°C に於ても 1°C の上昇につき限界電流値は 4% 程度上昇するにすぎない。一般に Oxigraph による測定は比較的短時間の場合が多く、その間に温度の変化すること少なく、温度補正の必要は少ないが、長時

Fig. 6. Influence of temperature on C-V curve.
(0.65% Ringer's sol.)

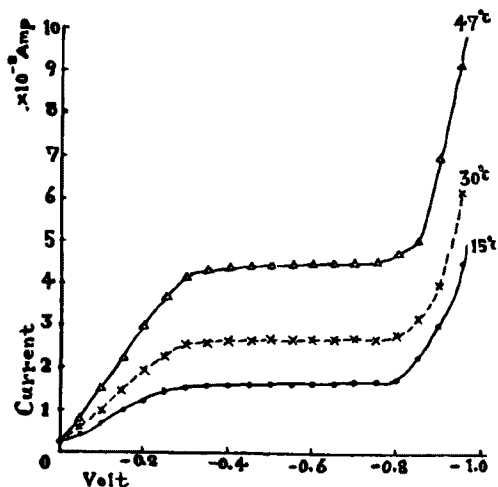
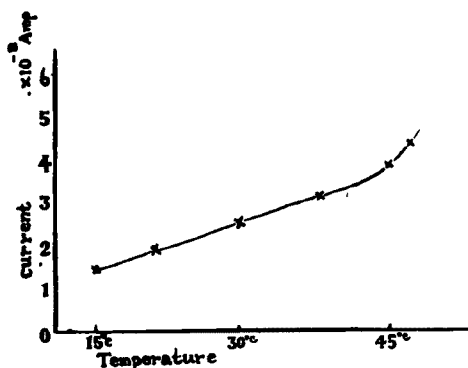


Fig. 7. Influence of temperature on limiting current value. (0.65% Ringer's sol.)



間に及ぶ場合若くは実験の性質上、操作中に温度変動が考えられる場合に於ても、各温度についての酸素濃度と電流値との関係が知られていれば補正が可能である。今各温度についての実測値 (m. V) と Bunsen 係数による補正值 (c. V) の自然対数を求めて絶対温度の逆数と対比すれば第 3 表、第 8 図の如くほぼ直線関係にあり、切替等の結果と一致する。

今 1500 kg/cm² 加圧下に於ける温度と限界電流値との関係を図で示すと第 9 図の如くなる。温度の変化は高圧 Bomb の周りの Oil bath の温度を調整して行つた。又酸素を充分飽和させた Ringer 氏液について測定したが、その温度—電流値曲線は、常圧下のものとはほぼ相似で、温度係数もほぼ等しく、温度に対する補正は常圧下のそれに準じて行つてよいことが知られる。

Table. 3 Influence of temperature on calibration

Temp. (°C)	Bunsen	measured value (m. v.)	calibrated value (c. v.)	Ln (m. v.)	Ln (c. v.)	reciprocal of abs. temp.
15	0.034	1.60	1.60	- 0.469	- 0.469	0.00347
22	0.030	1.98	2.25	- 0.683	- 0.810	0.00338
30	0.026	2.06	2.70	- 0.722	- 0.992	0.00330
39	0.023	2.19	3.25	- 0.783	- 1.178	0.00320
44	0.022	2.55	3.95	- 0.936	- 1.347	0.00315
47	0.022	2.80	4.35	- 1.029	- 1.462	0.00312

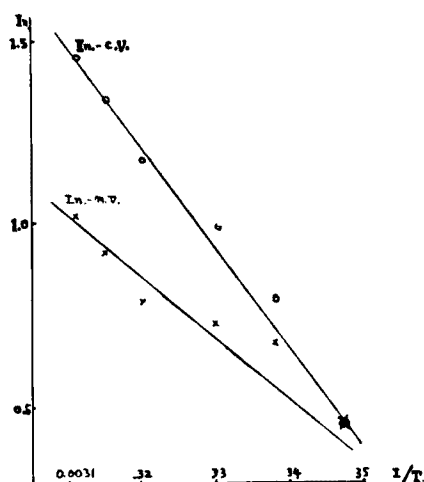
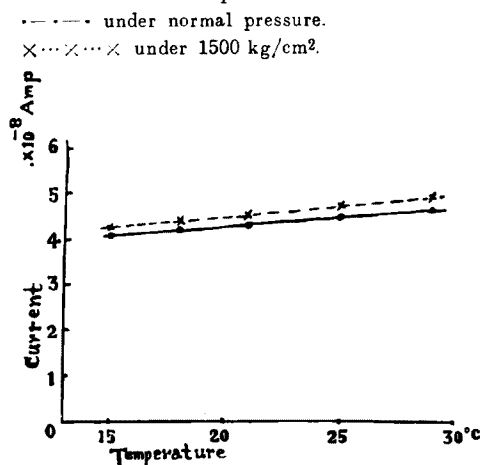
Fig. 8. Relation between $\ln$ m. v., $\ln$ c. v. and $1/T$.

Fig. 9. Influence of high pressure on relation between limiting current value and temperature.



一般に言つて高圧は溶液の電離度を高めるが Owen, Brinkley²⁰⁾ の理論式によると、特に純水の電離度は加圧が大となるに従い、温度の上昇により

低下し、1000 bars 以上では温度によるよりも圧による影響が大なるであろうことを推論しているが、塩濃度が濃いほどこれらの度合は低くなることと相俟つて、温度上昇は必ずしも加圧の効果に対して相乗的に働くとは言えないわけである。

先に述べた望月の理論式に於ても温度についての項も含まれていて、温度上昇により限界電流値が上昇するであろうことは他の拡散係数、吸着率等の変動を考慮に入れても推察されるところである。

C) 常圧下並に高水圧下電流電圧曲線に及ぼす諸種条件の影響に就て

常圧下に於ける Oxigraph 使用に際し、電流電圧曲線に及ぼす塩濃度、pH、膠質、炭酸ガス等の影響について浅野等が報告しているが、私は常圧下に於て、電流電圧曲線に及ぼす諸条件の影響をより詳細に追求し、更に進んで高水圧の下でどのような影響を蒙るかを調べた。高圧下でこれら諸種条件の影響を直接に測ることによつて、高圧下に於ける物理化学的性状の変化の多くが圧に可逆的であるために測定され難くて、未だ報告の少い当領域に研究の知見を供し得るわけである。その一部りは先に報告したところであるから、ここには組織酸素消費の実測に際して必要な、限界電流値を中心とした諸問題についての実験成績を述べる。

1) 高水圧の限界電流値安定性に及ぼす影響に就て

先に報告した如く、一般に緩衝液の緩衝能は 1500 kg/cm² 程度までの加圧では変化しない。これを言い換えれば、高水圧下でも限界電流を示す電圧範囲は変化しないと言うことである。実際に Blank test で常圧下と同一の正負加電圧で、高水圧下に於てもその限界電流は一旦安定すると、2~30 分は充分安定であることが知られたし、再現性も又充分である(第4表)。

Table 4 Influence of high hydrostatic pressure on the limiting current value and reproducibility.
0.65% Ringer's sol. 31°C.

pressure (kg/cm ²)	1	500	1000	1500
charging voltage (-volts)				
-0.00	0.30	0.30	0.35 (0.30)	0.40
05	0.45	0.45	0.50 (0.50)	0.80
10	0.75	0.75	0.80 (1.00)	1.45
15	0.80	0.85	0.90 (1.10)	1.50
20	1.35	1.50	1.50 (1.70)	1.60
25	1.50	1.60	1.70 (1.85)	1.70
30	1.60	1.80	1.75 (2.05)	1.95
35	1.75	1.95	2.10 (2.10)	2.10
40	1.90	2.00	2.15 (2.15)	2.15
45	2.00	2.15	2.15 (2.20)	2.15
50	2.00	2.15	2.20 (2.20)	2.25
55	2.00	2.20	2.30 (2.25)	2.40
60	2.15	2.30	2.35 (2.25)	2.55
65	2.25	2.45	2.40 (2.35)	2.65
70	2.35	2.60	2.45 (2.45)	2.70
75	2.50	2.65	2.70 (2.75)	2.80
80	2.60	2.85	3.00 (3.05)	3.45
85	3.50	3.80	4.15 (4.15)	5.20
90	5.30	5.70	6.30 (6.35)	8.10
95	8.80	9.80	10.75 (10.75)	13.80

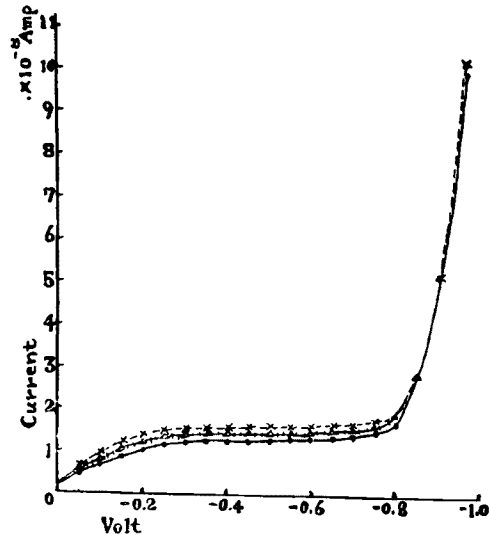
() show reproducibility under 1000kg/cm².

2) 常圧下及び高水圧下に於ける電流電圧曲線に及ぼす膠質の影響

切替等は電流電圧曲線に及ぼす膠質の影響を Dextrin 溶液を使用して検討し、1~5%程度の Dextrin の存在では何れも-0.5~-0.8Vの範囲で限界電流を求め得、電流値は Dextrin 濃度添加によつて減少し、電流電圧曲線はより水平に傾くことを報告した。更に膠質溶液内の限界電流の減少は、かかる濃度範囲の膠質溶液ではその酸素溶解度の減少が Van-Slyke の方法で認められないから、膠質溶液内の酸素の拡散速度の減少と、電極面への酸素の吸着反応の膠質による阻害のためであろうとし、就中電極面の汚染のため酸素の吸着反応が阻害されるによるものであろうとした。

常圧下に於て得た私の成績に於ても、第10圖に示す如く、Ringer 氏液の限界電流値は Dextrin の加つた際低下するが左程大きなものでなく、電流電圧曲線はより平坦となる傾向を認めた。之等の実

Fig. 10. Influence of dextrin on C-V curve,
- - - 5% dextrin-0.65% Ringer's sol.
▲+▲+▲ 3% "
×...×...× 1% "



験の場合1~5% Dextrin 添加0.65% Ringer 氏液は単なる Ringer 氏液に比して粘度は増加している筈である。今水銀滴下電極の場合、拡散電流値を示す Ilkovic 式 $I_d = 605 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot c \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6}$ (但し n = 電極反応の電子出入数, D = 拡散係数, c = 濃度, m = 1秒間流出水銀量, t = 滴下時間とする) に於て粘度により最も変化すると思われる項は D であるが、酸素分子の拡散に Stokes-Einstein の法則 $D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi\eta y}$ があてはめられるならば、拡散係数 D は溶媒の粘度 η に逆比例するわけである。故に Dextrin 添加の場合に膠質による粘度の増加により拡散電流が減少したとの推測もなりたつ。然し Stokes-Einstein の法則は溶媒中を運動する粒子の大きさが溶媒分子に比して遙かに大きく、粒子が渦を起さぬ程度の遅い速度で運動する時に成立つものであり、本実験の場合にはあてはめられない。Bürger¹²⁾, Drenkman²¹⁾ は固定白金電極で、Nahas²²⁾ は回転白金電極で、蛋白、Hemoglobin、血小板等が存在すれば粘度は低下するが、さほど大した影響はなく、溶存酸素測定が可能であることを報告している。一方今²³⁾ は水銀滴下電極に於て、Methylcellulose 等の界面活性物質が一般に電流値を下げることを指摘し、この作用は Br, Cl 等の電極面への吸着が妨げられるためであろうと報告している。又 Grahame²⁴⁾ も回転白金電極について

Gelatine を加えて溶液の粘度を増すと、拡散層を大きくして著しく感度を低下さすであろうとしている。これらのことから断定は出来ないが、膠質添加による電流電圧曲線の変化は切替らの見解の如く、主として電極の汚染によるのであろうと考える。

次に 1, 3, 5% の割合に Dextrin を添加した 0.65% Ringer 氏液に 500, 1000, 1500 kg/cm² の圧を加えると (第 5 表, 第 11, 12 図), 限界電流値は加圧下に於ても, 常圧下に於けると同様に Dextrin が濃厚であるほど低下する傾向があるが最終電流上昇の増大は却つて Dextrin の濃厚なものに於て大きく, そのために全体としての電流電圧曲線は, Dextrin の濃厚なものが常圧下に於ては平坦であるのに対し, 高水圧下では逆に急峻となる傾向があり, この転回は Dextrin が 1% と 3% との間では 500 kg/cm² と 1000 kg/cm² との間, 3% と 5% との間では常圧と 500 kg/cm² との間に於て認められる。一方同一濃度の Dextrin 溶液では限界電流値は加圧によつて殆んど変化は受けない。以上

Table. 5 Influence of very high pressure on the limiting current value of various concentration of Dextrin-0.65% Ringer's solution. at 31°C

a) 5% dextrin-0.65% Ringer's solution.

pressure (kg/cm ² .)	1	500	1000	1500
charging voltage (-volts)				
-0.00	0.20	0.25	0.30	0.30
05	0.30	0.35	0.45	0.60
10	0.70	0.70	0.80	1.00
15	0.75	0.80	0.85	1.05
20	1.00	1.10	1.10	1.25
25	1.10	1.15	1.15	1.25
30	1.20	1.20	1.15	1.25
35	1.20	1.25	1.20	1.25
40	1.20	1.25	1.20	1.25
45	1.20	1.25	1.20	1.30
50	1.20	1.25	1.20	1.30
55	1.20	1.25	1.20	1.30
60	1.25	1.25	1.20	1.35
65	1.25	1.25	1.25	1.35
70	1.30	1.30	1.30	1.35
75	1.35	1.40	1.40	1.55
80	1.70	1.80	1.95	2.15
85	2.80	3.10	3.45	3.60
90	5.20	5.55	5.70	6.65
95	10.00	11.05	11.70	12.80

b). 3% dextrin-0.65% Ringer's solution.

pressure (kg/cm ² .)	1	500	1000	1500
charging voltage (-volts)				
-0.00	0.20	0.20	0.25	0.25
05	0.35	0.45	0.50	0.55
10	0.95	0.65	0.75	1.00
15	0.95	1.00	1.05	1.05
20	1.20	1.25	1.20	1.25
25	1.25	1.25	1.25	1.25
30	1.30	1.30	1.30	1.25
35	1.35	1.30	1.30	1.25
40	1.35	1.35	1.30	1.25
45	1.35	1.35	1.30	1.25
50	1.35	1.35	1.30	1.25
55	1.35	1.35	1.30	1.25
60	1.35	1.35	1.30	1.30
65	1.40	1.35	1.35	1.30
70	1.45	1.35	1.35	1.35
75	1.55	1.45	1.50	1.45
80	1.75	1.75	1.90	1.95
85	2.85	3.05	3.25	3.35
90	5.20	5.40	5.75	6.10
95	10.20	10.75	11.45	12.10

c). 1% dextrin-0.65% Ringer's solution.

pressure (kg/cm ² .)	1	500	1000	1500
charging voltage (-volts)				
-0.00	0.10	0.15	0.20	0.30
05	0.25	0.40	0.30	0.55
10	0.80	1.05	0.60	1.05
15	0.95	1.15	0.90	1.15
20	1.40	1.45	1.35	1.30
25	1.45	1.45	1.40	1.40
30	1.45	1.45	1.45	1.40
35	1.45	1.50	1.45	1.40
40	1.45	1.50	1.45	1.40
45	1.45	1.50	1.45	1.40
50	1.45	1.50	1.45	1.40
55	1.45	1.50	1.45	1.40
60	1.45	1.50	1.45	7.45
65	1.45	1.50	1.45	1.45
70	1.50	1.55	1.45	1.50
75	1.55	1.65	1.55	1.60
80	1.75	2.00	1.95	2.15
85	2.80	3.20	3.30	3.50
90	5.20	5.75	5.80	6.20
95	10.30	11.00	11.35	11.75

Fig. 11. Influence of high pressure on C-V curve of 1% dextrin in 0.65% Ringer's solution.

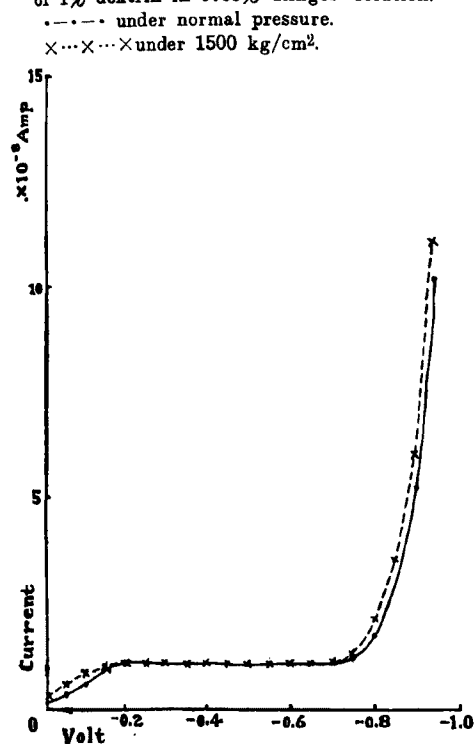
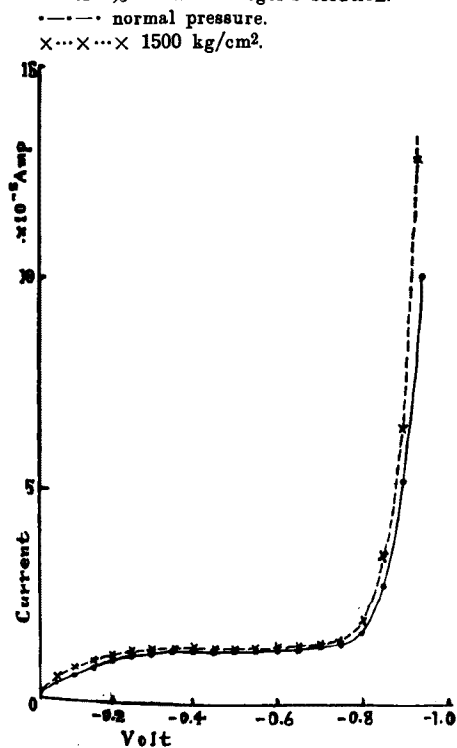


Fig. 12. Influence of high pressure on C-V curve of 5% dextrin Ringer's solution.



のことから高水圧下に於ける組織の酸素消費の測定に際して、若干の膠質の存在は測定に支障がないと見なしてよく、電流電圧曲線に対しては、加圧はむしろ膠質添加の影響を少なくする如く働くように考えられる。圧力及び温度による種々の物質の粘性の変化についても、近年かなりの研究が行われているが、加圧下の膠質液の場合は一義的に粘性の変化で説明し得ぬので、膠質による電極面の汚染であろうとする考えを、高圧下の場合にあてはめれば、私の実験温度範囲では、膠質溶液内酸素の拡散速度の減少乃至は電極面汚損による酸素吸着反応の阻害は加圧によつて増すことなく、高い負電圧に於ては却つて減弱する方向に働くと言える。

3) 常圧下及び高水圧下に於ける電流電圧曲線に及ぼす炭酸ガス溶存の影響

常圧下の Oxigraph 測定に於て浅野らは炭酸ガスと酸素とを任意に混合しながら Ringer 氏液を通しつつ炭酸ガス溶存による影響を調べ、炭酸ガスにより限界電流値は減衰しやすくなる成績を得、電極への酸素吸着が阻害されるのであらうと考えた。私

Fig. 13. C-V curve of 0.65% Ringer's solutions of various CO₂ concentrations under normal pressure.

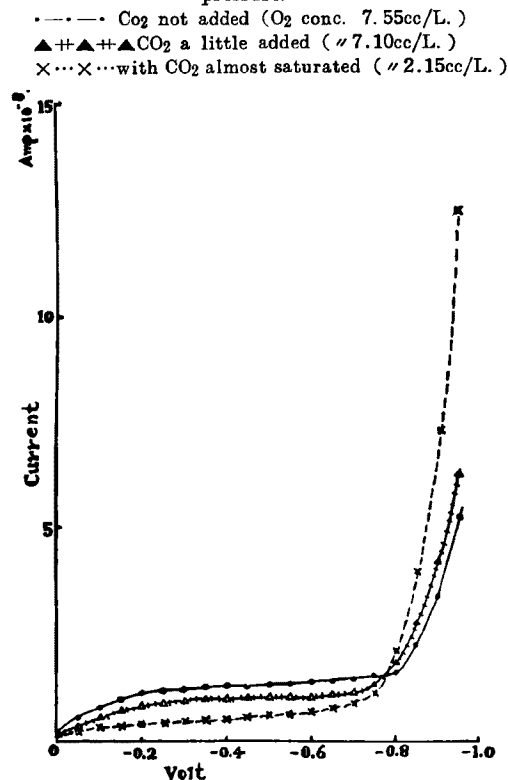
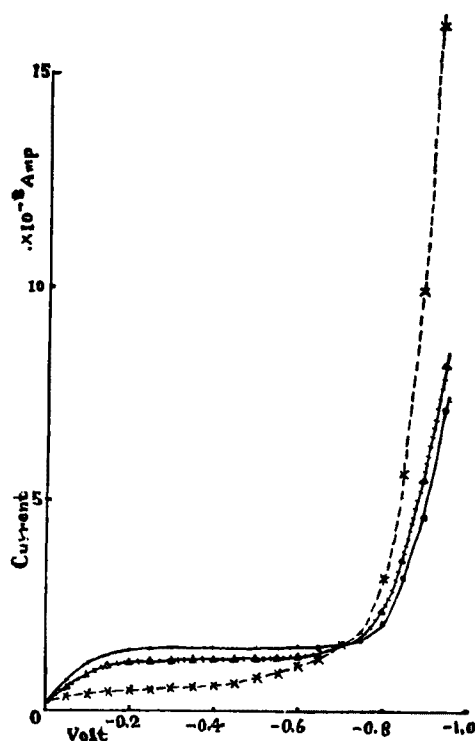


Fig. 14. C-V curve of 0.65% Ringer's solutions of various CO₂ concentrations under 1500 kg/cm².
 ····· CO₂ not added (O₂ conc. 7.55 cc/L.)
 ▲+▲+▲ CO₂ a little added (7.10 cc/L.)
 ×····×····× with CO₂ almost saturated (2.15 cc/L.)



の実験装置では高水圧下に於てガスを正確に混合し通気することが不可能な点から、予備実験として常圧下に於ても炭酸ガスのみを Ringer 氏液中に通し第13図の如き成績を、加圧下に於ては第14図の如き成績を得た。それによると加圧によつて液の限界電流値はやや増大し、その程度は溶存炭酸の多く酸素の少いほど大きい。又すべて最終電流上昇は増大するが、分解電圧の正電位側への移動は、殆んど炭酸ガスで液を飽和した場合に始めて見られ、Ringer 氏液の緩衝能の強いことを示している。要するに高圧下の溶存酸素測定は、限界電流値の安定をまつて開始すれば、若干の溶存炭酸の変動では障碍されないものと考え得る。

4) 常圧下及び高圧下に於ける電流電圧曲線に及ぼす再結晶卵 Albumin の影響

Recrystallized egg albumin を 0.65% Ringer 氏液に 0.1% の割合に溶かし、これと対照としての Albumin 無添加 0.65% Ringer 氏液との電流電圧

Fig. 15. Influence of egg albumin on C-V curve of 0.65% Ringer's solution.
 ····· Ringer's solution.
 ×····× 0.1% egg albumin Ringer's solution.

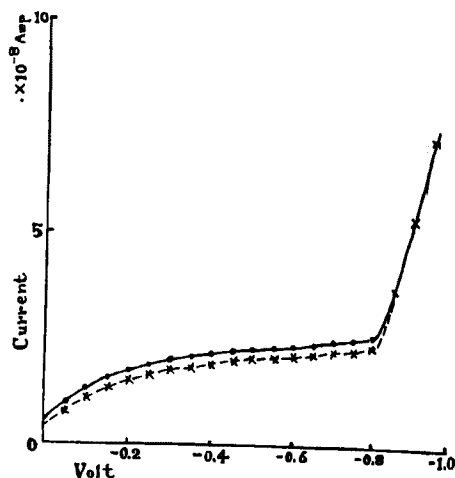
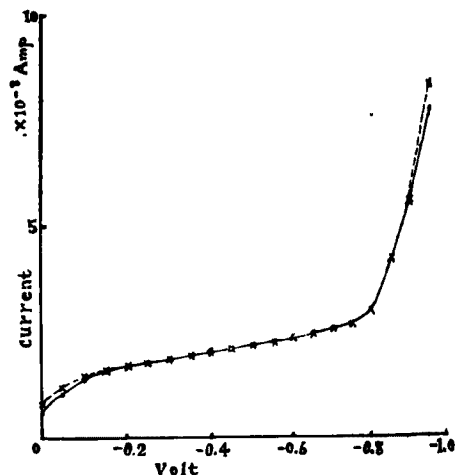


Fig. 16. Influence of high pressure on C-V curve of 0.1% egg albumin Ringer's solution.
 ····· normal pressure
 ×····× 1500 kg/cm²



曲線を比較すると (第15図), Albumin を添加したものの方が限界電流値は低下して、膠質添加の場合と同じく電極の汚染を来すためと考えられる。1500 kg/cm² の加圧では (第16図) 圧による影響は殆んどみられない。

Ringer 氏液の代りに塩酸性溶液では加圧により Albumin の変性が促進され、また中性溶液に於ても超高圧の下では Jolly²⁵⁾、俣山²⁶⁾ らの報告からして Albumin の変性が起るものと考えられる。

考 察

私は先¹⁾に高圧実験に Polarographic Method を導入し得て従来困難であつた加圧下での直接測定を行うことにより、主として加圧による溶液の物理化学的变化を中心として研究した。その結果 1500 kg/cm² までの加圧は緩衝液の緩衝能に認められるほどの影響を及ぼさぬこと、加圧により受ける非緩衝液の pH の変動は、圧により解離し得る弱電解質の量に応じて変動すると思われること、高圧下では一般に解離度が増大し、還元反応が起りやすくなると考えられること、種々の濃度の塩溶液に及ぼす加圧の効果は、特に稀薄な溶液で著明であること等、従来の仮説、理論を或程度裏付けたのである。

本編に於て私は高水圧下での組織酸素消費の実測に際しての諸問題について、実験ならびに考察を試みた。Bridgman^{27,28)}の報告によると、塩化銀の面心立方型より体心立方型への転移は吾々の実験範囲の加圧では起らないし、加圧による白金及び銀の電気抵抗の変化は、温度変動による影響に比べると遙かに小さく、加圧による電極自身の変化は考慮に入れなくてよい。一連の実験の開始に際して最も懸念されたのは、常圧下で限界電流の安定性を得るために加える正負の加電圧が、高圧下に於ても通用するかと言うこと、又常圧下での限界電流値変動より酸素消費量を読みとる換算式が、加圧下にもあてはまるかどうかと言う点であつた。前者については少くとも私の実験範囲の高圧では、加圧後限界電流値を安定するために加電圧を変える必要はない。常圧下で使用した加電圧で充分安定である。後者の換算式については次のことが言える。既に述べたように、加圧によりその圧力に比例して限界電流値は上昇するのであるから、加圧下での酸素消費による限界電流値の減少は、先の増加率に応じて、見かけの上で大きく現われて来る。従つて換算に際しては、圧による限界電流値増大に対する補正が必要であるが、これは加圧中の変動を数値的に読みとるのに必要なものであつて、加圧前後の限界電流値から加圧前後の変化を数値的に読みとる場合にはその労が省けるわけである。溶液の諸条件を変えた場合についての個々の問題についての考察は各々の項で述べて来たところであるからここには再言しない。これらを要するに、高水圧下に於ても、種々の点について上記の如き若干の注意、補正を行えば、本方法を用いて常圧下に於けると同様に、溶存酸素量の消長を測定し

得る。

総 括

高水圧下で微小固定白金電極 Polarography を応用改良した Oxigraph を使用して、液体の溶存酸素の測定を行うについて予備実験を施し、次のような成績を得た。

1) 高水圧下では溶液の酸素波限界電流値は増大し、その度合は圧の強さに比例する。又振動波は一般に大となる。

2) 1500 kg/cm² までの加圧では、緩衝液の酸素還元波の電位は影響されない。

3) 高水圧下に於ても、常圧下に於けると同じ正負加電圧で、限界電流値の安定性及び再現性は変わらない。

4) 加圧すると、溶存酸素量に比例して、限界電流値の一時的上昇を来す。

5) 温度変動の限界電流値に及ぼす影響は、加圧下に於ても常圧下の場合とほぼ同一程度である。

6) Dextrin の如き膠質を 1～5% の割合に加えた Ringer 氏液では、高水圧下に於ても常圧下に於ても、膠質が濃厚であるほど、限界電流値は低下し、膠質溶液では限界電流値の加圧による上昇は、膠質を加えぬ場合に比し少ない。しかしながら、高水圧下では、最終電流上昇の増大は却つて Dextrin 濃厚なものに於て大きく、この点では加圧は膠質添加の影響を減弱する如く働くと考えられる。

7) Ringer 氏液の如き緩衝液中に溶存炭酸が若干存在しても、加圧下に於て分解電圧の正電位側への移動は起らず、組織酸素消費測定の際、生成される炭酸ガスの影響は考慮に入れなくてよい。

8) 中性溶液に於ては、蛋白添加の影響は、高水圧下に於ても膠質添加の場合とほぼ同じである。

これらのことから、高水圧下に於ても、本方法による溶存酸素量の測定は、若干の補正を行えば可能である。

稿を終るにあたり終始御懇切に御指導、御校閲を賜つた恩師林教授に深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は第 8 回日本生理学会中四国地方会 1956.11 及び第 66 回岡山医学会総会 1957.2 に於て発表した)

本研究は文部省科学研究費の援助による。

主 要 文 献

- 1) K. Hayasi & I. Kôno : Jap. J. Physiol., 8, 246, 1958.
- 2) M. Mochizuki : Monograph series of Res. Inst. Appl. Electr., 2, 35, 1951.
- 3) M. Mochizuki & H. Bartels : Pflügers Archiv, 261, 152, 1955.
- 4) 切替 : 応電研彙報, 5, 141, 1953.
- 5) 浅野, 切替, 田中 : 同誌, 7, 41, 1955.
- 6) 浅野, 切替 : 同誌, 6, 255, 1954.
- 7) 浅野 : 同誌, 7, 27, 1955.
- 8) 浅野, 田中 : 同誌, 7, 48, 1955.
- 9) 田中 : 日本口腔科学会雑誌, 4, 293, 1955.
- 10) 田中 : 臨小児医学, 4, 43, 1956.
- 11) 安曾, 藤永 : 応電研彙報, 8, 144, 1956.
- 12) H. Bürger, D. Lübbers u. Th. Ockenga : Pflügers Archiv, 265, 172, 1957.
- 13) 菊地 : 電気化学, 23, 490, 1955.
- 14) L. B. Rogers, H. H. Miller, R. B. Goodlich & A. F. Stehnez : Annal. Chem., 21, 777, 1941.
- 15) 館 : ポーラログラフイー, 1954.
- 16) 品川 : ポーラログラフ分析法, 1943.
- 17) 三宅, 松居 : 水の化学的分析法, 1943.
- 18) 菅原, 三宅 : 化学実験学第一部地球化学, 1942.
- 19) 柴田 : 無機化学全書Ⅱ, 1954.
- 20) B. B. Owen & S. R. Brinkley : Chem. Review, 29, 525, 1941.
- 21) F. O. Drenkman : Pflügers Archiv, 262, 169, 1956.
- 22) G. G. Nahas, E. H. Morgan & E. H. Wood : Amer. J. Physiol, 163, 737, 1950.
- 23) 今井 : ポーラログラフ討論会講演要旨集, 33-35, 40, 1955.
- 24) D. C. Grahame : Chem. Review., 41, 441, 1941.
- 25) M. Jolly : Prog. in Biophysics and Biophysic. Chem, 5, 168, 1955.
- 26) R. Kiyama & T. Yanagimoto : Rev. of Physic. Chem., of Jap., 21, 141, 1951.
- 27) P. W. Bridgman : Proc. Am. Acad., 72, 63, 1937.
- 28) P. W. Bridgman : The Physics of High Pressure, G. Bell & sons. Ltd., London, 1952.

Oxigraphic Studies on the Influence of High Hydrostatic Pressure upon the Oxygen Consumption of Tissues.

Part 1. Studies on the Oxigraphic Measurement of Dissolved Oxygen in solutions under Normal and High Hydrostatic Pressures.

By

Ikuko Kôno

Department of Physiology, Okayama University Medical School.
(Director; Prof. K. Hayasi, M.D.)

In this part of studies, an improved stationary platinum electrode polarograph named Oxigraph was proved to be applicable to measure dissolved oxygen of solutions under high hydrostatic pressure. Experimental results are as follows;

1) Under high hydrostatic pressure, limiting current value concerning oxygen wave of solution increases its degree in proportion to the strength of applied pressure. The oscillation of limiting current value widens under high pressure generally.

2) Under high pressure up to 1,500 Kg/cm², the electrical potential inducing oxygen reduction wave is not influenced in buffer solution.

3) When the same charging potential as at normal pressure is charged, the stability and reproducibility of limiting current value does not alter at high pressure up to 1,500 Kg/cm².

4) At the moment of the application of high hydrostatic pressure, a transient increment of limiting current value is observed in proportion to both dissolved oxygen amount and pressure intensity.

5) Under high pressure, the influence of temperature on the limiting current value resembles to that under normal pressure.

6) In glutinous solution such as 1—5% dextrin-Ringer's solution, the limiting current value decreases in proportion to the concentration of glutinous substance both under normal and high hydrostatic pressure. The increment of limiting current value of glutinous solution under high pressure is inferior to that of Ringer's solution only. On the other hand, the increase of final ascendent under high hydrostatic pressure is dominant in glutinous solution. Hence, it seems that high pressure minimizes the influence of mixed glutinous substance.

7) In buffer solution such as Ringer's solution, the influence of carbon dioxide dissolved a little is negligible for the measurement of limiting current under high pressure, too.

8) In neutral solution, the influence of added protein resembles that of dextrin under high pressure also.
