唾液 pH の加熱による変化

曾 水 全

日本歯科大学 生化学教室 (指導 三代幸彦教授)

〔受付: 昭和49年5月10日〕

抄録: 唾液内の諸現象では pH の影響を無視できない。唾液振盪 pH については三浦の報告があるので、著者は加熱 pH の実態と機序を調べた。その結果、1) 唾液加熱 pH は上昇因子と下降因子に左右されること、2) 開放加熱では上昇型唾液や下降型唾液がみられるが、3) 閉鎖加熱ではすべての唾液が下降型になること、4) 上昇因子は NaHCO_3 であり、発現因子としてガスの発散 (CO_2 逃出) を必要とすること、5) 下降因子はリン酸カルシウムであり、ガスの出入は関与しないこと、6) 加熱 pH の変化には、 NaHCO_3 とカルシウムの含有比が重要であり、上昇型唾液には NaHCO_3 が多く含まれるが、下降型唾液には少ないと思われること、7) このほか尿素やタンパクも唾液を酸性にしたときには上昇因子になり得ること、などが明らかにされた。振盪 pH や加熱 pH の測定によって、唾液のアルカリ予備、カルシウム、尿素の状況を同時に把握できると期待される。

唾液を加熱することは、唾液研究における基本的操作のひとつであり、滅菌、濃縮、耐熱性の検討などのために行なわれる。その方法としては、試験管やフラスコなどに入れた唾液を湯浴中で開放加熱するのが普通であるが、ときに栓をしての閉鎖加熱もある。しかしいずれにしても、これらの加熱操作によって唾液 pH はかならず変化する。

唾液の pH は、タンパクやカルシウムの動態などの物理化学的ないし生理学的現象、微生物による代謝や酵素活性などの生化学的現象において非常に重要な因子である。したがって、pH の変化は唾液内で起こる諸現象に影響するところが多い。とくに *in vitro* での唾液実験で留意する必要がある。

本報告は、加熱による唾液 pH 変化の諸相と機序を追究したものである。

I 加熱と唾液 pH

唾液は、放置するだけでも、pH の上昇を起こす。その機構としては、腺内唾液に過飽和状態で

溶け込んでいた CO_2 が、唾液分泌と同時に圧の低下によって逃出しはじめるためとされている。そして三浦¹⁾は、唾液 pH の上昇を促進する目的で振盪操作を加え、そのときの pH 上昇の機序を調べ、つぎのように結論している。すなわち、 NaHCO_3 、 H_2CO_3 のほかに酸性物質の存在が関与し、振盪時には空気と唾液との接触が増すために CO_2 の逃出が促進されるが、このときの pH 上昇の引金役をするのは、唾液の酸性タンパクや第一リン酸塩の存在であるという。

ところで、唾液を開放系で加熱すると、温度上昇や流動増強などによって CO_2 逃出が促進される筈であり、常識的にも pH は当然上昇するものと期待される。多くの研究者もそのように考えているようであるが、島田²⁾はこの問題に実際に取り組み、唾液によっては下降する例のあることを知り、加熱 pH を測定するための基礎的研究を行っている。しかし、閉鎖加熱の場合や pH 変化の機序には言及していない。加熱による唾液 pH の変化という有り触れた現象であるが、まだその機序については確認されていないようである。

Rise and fall of saliva pH by heating.

Suizen SO (Department of Biochemistry, Nippon Dental College, Fujimi, Chiyodaku, Tokyo)

* 東京都千代田区富士見1-9-20 (〒102)

Jap. J. oral Biol., 16: 289-309, 1974.

実験方法

1) 唾液採取

水道水と歯ブラシで口腔内をよく清掃したのち、脱イオン水で数回含嗽する。自然に流出してくる全唾液（ヒト）を試験管にとり、かるく振盪して均質にする。この操作で唾液 pH はわずかに上昇する。

2) 加熱操作

i) 開放加熱：唾液を容量14mlのスピッツグラス数本に満たすか、あるいは目盛付試験管（外径1.7 cm, 内径1.4 cm, 長さ18.5 cm）の1本に7~8 ml とり、98°Cの湯浴中に栓なしでつける。98°Cを選んだのは、湯浴の沸騰をさけるためであり、このとき管内の温度は93~95°Cになる。加熱温度が90°C以上であれば、加熱 pH はほぼ同じ値になるという²⁾。

ii) 閉鎖加熱：唾液を数本のスピッツグラスに満たし、湯浴につけて2~3分後（温度が一定になったとき）に栓をして加熱を続ける。

3) 冷却と pH 測定

pH 測定のためには、加熱唾液を一旦冷却する必要がある。加熱と冷却との組み合わせには、i) 開放加熱・開放冷却、ii) 閉鎖加熱・閉鎖冷却、iii) 開放加熱・閉鎖冷却、iv) 閉鎖加熱・開放冷却があるが、ここでは i)~iii) の方法を主として用いた。

加熱を開始してから30分おきに試験管を取り出して水冷（開放加熱・開放冷却）、ないしスピッツグラス1本あてを取り出して栓をしたまま水冷（閉鎖加熱・閉鎖冷却）あるいは改めて栓をして水冷（開放加熱・閉鎖冷却）する。室温と同程度になってから、東亜電波製ガラス電極 pH 計 HM-5 A 型で pH を測定する。試験管法（開放加熱・開放冷却）の場合には、ついで湯浴中に再び戻して加熱し、このようなことを30分おきに繰り返す。

実験成績

1) 加熱 pH の型分類

試験管による開放加熱・開放冷却（試験管法）で唾液 pH の加熱変化を追跡すると、大きくわけて2型の経過をたどる。図1に示すように、pH

図1 唾液を加熱したときの pH 変化の3型（開放系）

が上昇するもの（上昇型）と、はじめから下降するもの（下降型）がある。同一個人でも、普通は上昇型であるのに、ときに下降型になることがあるが、一般的に下降型唾液は初期 pH が低い傾向にあった。なお、両者の中間型として、上昇ついで下降する例（上昇下降型）もあるが、ここでは一応上昇型に入れることにする。図1は、島田論文²⁾から代表的なものを選んで配列したものである。

振盪 pH と加熱 pH のもっとも大きい違いは、振盪時にはすべての例において上昇がみられたのに¹⁾、加熱時には上昇のほか下降例があるということである。しかも、加熱 pH が上昇をしめす例では、その最高 pH は振盪 pH のそれよりも一般に高い（加熱 pH が下降する例では振盪 pH よりも低くなる）²⁾。このような点からみても、振盪 pH にくらべて加熱 pH はより複雑な現象であることが窺える。とくに、加熱 pH が下降する場合でも、振盪 pH は上昇するという現象は、それらの pH 変化の機序になにか違いのあることを示唆する。

2) 開放加熱と閉鎖加熱

前項の図1は、個体が異なる場合あるいは同一個体でも異なる時期の唾液についてまとめたものである。しかも、開放加熱・開放冷却の方法による。加熱 pH の機序を知るには、同一唾液について加熱方法を変えてみる必要がある。

図 2 唾液における開放加熱と閉鎖加熱

唾液をスピッツグラスに満ちし、開放加熱と閉鎖加熱を行ない、そのときの pH 推移を比較した。冷却はともに閉鎖冷却とした。図 2 にしめすように、同一唾液であっても、開放加熱では上昇型になるのに、閉鎖加熱では下降型になった。これは、加熱方法が異なるときは全く逆の推移をしめすこと、すなわち加熱 pH の上昇因子と下降因子が常に同じ唾液中に共有されていることをしめすものである。しかも、加熱による pH 上昇にあつてはガスの発散 (CO_2 逃出と思われる) が関与し、pH 下降にあつてはガスの出入とは無関係な変化が起きていることが示唆された。問題はこれらの因子を明らかにすることである。

3) 初期 pH を人為的に変えた場合の加熱 pH

i) 上昇型唾液

上昇型唾液の初期 pH を酸あるいはアルカリによって変化させ、ついで試験管法による開放加熱・開放冷却で加熱 pH を求めた。図 3 は初期 pH を NaOH で上げた場合および HCl で下げた場合の成績である。酸として H_2SO_4 を用いても結果は全く同じであった。図に明らかなように、NaOH によって初期 pH を 8 以上にした場合は、加熱による pH 上昇は起こりにくく、はじめはむしろ下降した。他方、唾液に酸を加えて初期 pH を下げておいた場合、 $[\text{OH}^-]$ の増加は少なくなった。すなわち、初期 pH 7.38 (無添加), 6.09, 5.30, 4.25 の加熱 150 分における $[\text{OH}^-]$ の増加は、それぞれ 2.32×10^{-6} , 1.27×10^{-8} , $0.80 \times$

図 3 上昇型唾液の初期 pH を NaOH あるいは HCl で変えたときの加熱 pH (開放系)

10^{-8} , 1.07×10^{-9} であった (しかし、これを pH 変化でみると、初期 pH 6 付近のとき上昇が少なくなるが、初期 pH をさらに下げた場合には加熱 pH が一見よく上昇するようにみえる)。

つぎに、初期 pH がそれほど変わらない程度にわずかに酸を加える実験を行なった。図 4 は、酸として乳酸を微量に加えて初期 pH をわずかに下げた場合の成績であるが、唾液 pH は加熱によって逆に下降をしめた。これは図 3 の成績からは予想できない結果であるが、乳酸のかわりに、酢酸、HCl, H_2SO_4 を用いても同じ結果がえられた。そこでさらに、あらかじめ酸を加えて初期 pH を 4 くらいに下げたのち、アルカリによって中性付近に戻して加熱してみた。その成績を図 5 にあげたが、図に明らかなように、唾液の初期 pH を H_2SO_4 によって 4.25 にした場合は図 3 と同様に加熱 pH は上昇していた。しかし、これを NaOH で pH 7.32 に戻してから加熱した場合には逆に下降がみられた。

唾液の加熱 pH に 2 種類の相反する因子 (上昇因子と下降因子) があるとして、図 3 の成績によると、これら両因子の作用する程度は初期 pH によって左右され、それぞれに好適な pH があるらしいことが窺える。下降因子についてはまだよくわからないが、図 3, 図 4, 図 5, を総合してみ

図4 上昇型唾液の初期 pH を乳酸添加でわずかに下げた場合の加熱 pH (開放系)

図5 上昇型唾液の初期 pH を H_2SO_4 で下げたのち $NaOH$ で中性に戻したときの加熱 pH (開放系)

ると、上昇因子には少なくとも2種類があり、ひとつは酸やアルカリに対して不安定なため中性ないし微弱アルカリ性を好適な pH とするもの、他のひとつは酸性においてそれほど不安定でないものということになる。

さきに図2において、下降現象はガスの出入とは無関係であるらしいが、上昇現象はガスの発散と関連することを述べた。しかし、上昇因子には

図6 上昇型唾液の初期 pH を H_2SO_4 で下げた場合の閉鎖加熱 pH

少なくとも2種類あるらしいことがわかったので、あらためて初期 pH 酸性の場合について閉鎖加熱を行なった。

唾液を H_2SO_4 で酸性にして、スピットグラス法で閉鎖加熱・閉鎖冷却したときの成績を図6にしめた。対照として開放加熱・開放冷却の成績を、また比較のため同一唾液の酸処理なしのものについての成績を併記した。図の下段が唾液をあらかじめ H_2SO_4 で初期 pH 4.23にしたときの加熱 pH、上段が酸処理をしなかった同一唾液(初期 pH 7.38)の加熱 pH をしめす。この後者の方、すなわち無処理唾液は図2と同じ操作を施したものであり、その場合と類似の成績を与えている。しかし、 H_2SO_4 処理唾液は開放加熱でも閉鎖加熱でも加熱 pH が上昇している。すなわち、酸性においても作用を現わす上昇因子は、ガスの出入がなくとも起こるものようである。この点前述のもうひとつの上昇因子とは異なっている。ただし、pH 上昇程度は開放加熱にくらべて閉鎖加熱の方がやや低かった。もうひとつの上昇因子が少し残っているのであろうか。

このように加熱 pH を上昇させる唾液因子には、ガスの出入からみても、2種類あることが推

測された。これに対し、加熱 pH の下降現象の方はガスの出入とは無関係なことがすでに示唆されているので、つぎに下降型唾液を用いて、初期 pH 変化の影響を調べた。

ii) 下降型唾液

図 7 は、下降型唾液の初期 pH を、NaOH あるいは HCl によって変えたのち試験管法で開放加熱したものである。初期 pH を NaOH で上げておいても、加熱 pH は下降した。しかし、 $[H^+]$ の増加程度はの場合減少するのであり、180 分加熱の場合、初期 pH 7.04 (無添加)、7.59、8.03 に対し、 $[H^+]$ 増加はそれぞれ 2.8×10^{-7} 、 0.43×10^{-7} 、 0.17×10^{-7} であった。他方、HCl で初期 pH を下げておいた場合には、加熱 pH は逆に上昇した。初期 pH が低いときには、酸性でも作用する上昇因子が関与するので、下降因子の好適な pH を推測することはできなかった。

図 7 下降型唾液の初期 pH を NaOH あるいは HCl で変えたときの加熱 pH (開放系)

つぎに、初期 pH を乳酸で 5.8 にしたのち NaOH を添加してもとに戻し、ついで加熱したときの成績を図 8 にあげた。これは図 5 に対応する実験であるが、一旦下げた初期 pH を上げることによって、加熱 pH の下降が著明になった (無処理唾液における 150 分加熱時の $[H^+]$ の増加が $0.49 \times$

図 8 下降型唾液の初期 pH を乳酸で下げたのち NaOH で中性に戻したときの加熱 pH (開放系)

10^{-7} であるのに対し、乳酸・NaOH 処理唾液のそれは 5.2×10^{-7} であった)。下降型唾液でもおそらく上昇因子を少しは含んでいる。そのひとつが乳酸処理によって破壊され、そのために下降因子の作用が発現されやすくなったものと思われる。

考察と小括

唾液を開放加熱したときの pH 変化には、図 1 のような型 (上昇型、下降型) がある。しかし、閉鎖加熱した場合には上昇型も pH 下降を起こす (図 2)。これは、唾液中に上昇因子と下降因子が同時に含まれることをしめす。上昇因子の多い唾液は開放加熱で pH が上昇し、少ない唾液は下降するのであろう。ただし、開放加熱のときの pH 下降は徐々に進行するのに対し、閉鎖加熱のときの pH 下降は加熱初期に一挙に起こり以後は不変である。開放加熱においては、おそらくわずかながら存在する上昇因子の下降妨害があるのではなからうか。もっともこの場合、上昇因子が加熱によって次第に崩壊する必要があるかもしれない (後述の II 章を参照)。

唾液を加熱した場合の pH 上昇が開放加熱でしか起こらないことはまた、上昇現象がガスの逃出と関連することをしめす (図 2)。振盪 pH の研究¹⁾から類推して、それは CO_2 の逃出と思われ

る。 CO_2 の逃出は唾液の炭酸-重炭酸塩緩衝系に変化を与えるから、当然 pH の変動が起こる。ところで、重炭酸塩は炭酸よりも強い酸によって崩壊する。そこで、唾液の初期 pH を種々に変えて開放加熱で pH 推移を追った。まず、酸をわずかに加えただけで上昇型が下降型に変わることを(図4)、また一旦初期 pH を下げたのち再びもとに戻して加熱しても下降型になっていること(図5)から、唾液の重炭酸塩が有力な上昇因子であることが窺えた。しかし、初期 pH 酸性の場合は、これだけでは説明不能の現象がある。この場合は、唾液の重炭酸塩は消失している筈であるのに、加熱 pH はよく上昇した(図3)。通常の唾液 pH (中性付近)の場合、この因子はあまり関与しないようであるが、人為的に初期 pH を下げて加熱したため、偶然その存在が知られた。要するに、唾液を加熱したときの pH 上昇因子には、少なくとも2種類があることになる。ひとつは、開放加熱のときにガスの発散(CO_2 の逃出)と関連して、中性ないし微弱アルカリ性で作用を現わす因子であり、酸に対する反応からみて重炭酸塩と思われる。通常の唾液にあっては、これが加熱 pH の上昇に関与している。他のひとつは、唾液をあらかじめ酸性にしたときの加熱において作用を現わす因子であり、開放加熱でも閉鎖加熱でも加熱 pH の上昇に関与するが(図6)、通常の唾液においてはあまり考慮しなくてよいと思われる。なお、唾液に NaOH を添加して加熱した場合については、次章で考察する予定である。

他方、加熱 pH の下降現象はガスの出入とは関係がなく(図2)、開放加熱、閉鎖加熱をとわず出現した(図1, 2)。また、中性ないしアルカリ性で起こるが(図7)、酸性での態度は不明であった。しかし、通常の唾液において開放加熱 pH に関与し、上昇因子と競い合うことが明らかである。ただし、通常の唾液を閉鎖加熱した場合には下降因子の独演になり、加熱 pH は下降するものと説明される。唾液を加熱したときには、カルシウムの不溶化の起こることが、高橋³⁾によって調べられている。この現象は、リン酸塩の存在様式に変動が起こることを示唆する。加熱唾液の下降因子は、唾液内でのリン酸塩ひいてはリン酸

緩衝系の変動を起こす物質と考えられる。

緩衝能をもつ唾液が pH 変化を容易に起こす原因としては、緩衝系のバランスがくずれることを考えるのが、一番理解しやすい。緩衝剤の存在下では、それ以外の物質が変化しても、pH には影響が及びにくいと思われる。唾液を加熱したときの pH 変化も緩衝系の変動によると考えられ、上昇が炭酸-重炭酸塩系の崩壊に原因するとして、下降はリン酸塩系の崩壊が主であるらしいことを考察した。おそらく下降因子はリン酸カルシウムであろう。

II 加熱 pH のモデル実験

前章の唾液加熱の実態調査によって、pH 上昇因子のうちガスの発散と関連している物質は NaHCO_3 であり、下降因子はリン酸カルシウムではないかと予想された。これらのことをさらに確かめるためと、ガスの出入とは無関係なもうひとつの上昇因子を探るために、モデル実験を行なうことにした。予想されるおもな変化因子は緩衝系を構成する物質であり、唾液緩衝系でもっとも作用が大きいのは、もちろん炭酸-重炭酸塩系であるから、まず最初に NaHCO_3 について、ついでリン酸塩およびタンパクその他について検討した。

実験方法

1) スピッツグラス法による加熱

NaHCO_3 水溶液などの試料を数本のスピッツグラス(容量14 ml)に満たして98°Cの湯浴につけ、そのまま加熱(開放加熱)、あるいは2~3分後に栓をして加熱(閉鎖加熱)する。経時的に1本あて取り出し、栓をしたまま(閉鎖冷却)、あるいは栓なし(開放冷却)で水冷する。

2) 試験管法による加熱

前章と同様に、目盛付試験管を用いて、開放加熱・開放冷却する。

3) 試料調製

脱イオン水を用いて調製する。

4) pH の測定

前章と同じ。

実験成績

1) NaHCO_3 水溶液の加熱

10 mg/100 ml の NaHCO_3 (旭硝子, 東京) を数本のスピッツグラスに満たし, 開放加熱・開放冷却および閉鎖加熱・閉鎖冷却した。

図9に示すように, 閉鎖加熱の場合には pH の上昇は非常に小さかった。しかし, 開放加熱の場合には pH はよく上昇し, NaHCO_3 の存在下での CO_2 逃出が加熱 pH の上昇に大きな役割を果たすことが確認された。

図9 NaHCO_3 水溶液の加熱 pH (開放加熱と閉鎖加熱の比較)

ただし, 加熱時間が一定以上のときは, ともに pH が若干下降をしめた。そこで, 濃度が関係あるか否かを知るために, 種々の濃度の NaHCO_3 水溶液について試験管法で調べた。

図10に示すように, NaHCO_3 の存在によって, 加熱 pH はどの濃度においても上昇した。 $[\text{OH}^-]$ の増加も濃度が高いほど明らかに大きい。しかし, 低濃度の場合には, 最高値に達してのち下降した。したがって, 高濃度の場合は図1の上昇型, 低濃度の場合は上昇下降型に似た経過である。なお, 図の 0.4 mg/100 ml NaHCO_3 のときの初期 pH が 7 より低いのは, 脱イオン水が CO_2 を含むためである。

2) Na_2CO_3 水溶液の加熱

NaHCO_3 は水溶液中で一部が加水分解してい

図10 NaHCO_3 の濃度と加熱 pH (開放系)

る ($\text{NaHCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NaOH} + \text{H}_2\text{CO}_3$)。したがって, その水溶液は弱アルカリ性をしめす。ところが 65°C 以上に加熱すると,

の反応が起こって, Na_2CO_3 が生成される⁹⁾。以上を総括すると, $2\text{NaHCO}_3 \rightleftharpoons \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3$ ということになる。開放加熱では CO_2 の逃出があるから, この反応は右にむかって進行しやすくなる。すなわち, 加熱 pH の上昇には, CO_2 の逃出と同時に NaHCO_3 が Na_2CO_3 になることも与かるものと思われる。振盪 pH とは基本的に異なる点のひとつであろう。そこでさらに, Na_2CO_3 を加熱してみることにした。

図11は 3.3 mg/100 ml Na_2CO_3 (小宗化学, 東京) をスピッツグラス法で開放加熱・閉鎖冷却および閉鎖加熱・閉鎖冷却したときの成績である。開放加熱においては加熱とともに pH が急激に低下した。

また, 図12は 2.8 mg/100 ml Na_2CO_3 を開放加熱・開放冷却したときの pH 変化を, 加熱なしの室温開放放置したものと比較した成績である。 Na_2CO_3 水溶液は CO_2 を吸収しやすく, 加熱しなくとも図の破線のように pH が低下するが, 加熱したものではありません。その下降が非常に急激であった。

図1や図10において, 開放加熱したときに一旦上昇した pH がやがて下降する現象には, Na_2CO_3 の生成が関与しているように思われる。

図 11 Na_2CO_3 水溶液の開放加熱と閉鎖加熱の比較

図 12 Na_2CO_3 水溶液の pH 低下 (開放系)

3) 加熱による CO_2 の逃出

唾液もそうであるが、ここに用いる脱イオン水には炭酸が含まれ、これで調製された NaHCO_3 水溶液は緩衝液になっている。この炭酸も加熱によって発散する筈である。

スピッツグラス数本に脱イオン水を入れ、 98°C の湯浴中で開放加熱する。同時に追加用としての脱イオン水を湯浴中に別に用意しておき、スピッツグラスからの蒸発分を補う。時間を追ってスピッツグラス 1 本あてを取り出し栓をして水冷する。ついで $0.2\text{ g}/100\text{ ml}$ NaHCO_3 の 0.2 ml を加

1. 開放加熱水で NaHCO_3 液をつくり, 閉鎖冷却後に pH 測定
2. NaHCO_3 水溶液を開放加熱し, 閉鎖冷却後に pH 測定

図 13 加熱水からの CO_2 逃出

え pH を測定する (図13の実線)。また他方、 $2.8\text{ mg}/100\text{ ml}$ NaHCO_3 を数本のスピッツグラスに分注し、同じ湯浴中で加熱する。経時的に湯浴から 1 本あて取り出し、栓をして水冷したのち pH を測定する (図13の破線)。

図の実線のように、加熱水でつくった NaHCO_3 水溶液の pH は、30分加熱のものですでに一定の pH 値に達している。脱イオン水からの加熱による CO_2 逃出は、30分の加熱で一応完了していることになる。図の破線は、 NaHCO_3 水溶液自身を加熱したときの成績であるが、加熱初期の pH 上昇は実線にくらべて遅れている。しかし、加熱60分以後は実線よりも高くなった。実線の NaHCO_3 濃度は、実施法を参酌すると、破線の場合よりやや高目 ($2.9\text{ mg}/100\text{ ml}$ くらい) の筈であるから、実際には実線と破線の加熱60分以後の pH 差はもっと大きいと思われる。加熱初期の CO_2 逃出による pH 上昇は NaHCO_3 が存在するときは遅れているけれども、長期加熱で pH がより高くなるのは、 Na_2CO_3 生成の影響が現われることを示唆するものであろう。

4) NaHCO_3 水溶液の初期 pH の変化

図 3 の唾液の実験に対応するものとして、 $5\text{ mg}/100\text{ ml}$ NaHCO_3 の初期 pH を HCl で種々に変

図 14 NaHCO_3 水溶液の初期 pH を NaOH や HCl で変えた場合の加熱 pH (開放系)

え、それぞれの加熱 pH を試験管法で比較した。その成績は図14のようであり、初期 pH が低いと（とくに pH 4.0のとき）、加熱 pH の上昇はみられなくなった。これは図3の唾液の場合とは非常に違っている。初期 pH を酸性にしたときに唾液の加熱 pH が上昇するのは、 NaHCO_3 以外の物質によるとした前章の推論を裏付けるものである。図14の場合は、 H_2CO_3 と NaHCO_3 だけからなる単純な系である。酸によって初期 pH を下げるといことは、次式のように、 NaHCO_3 の消失を意味している。

NaHCO_3 が消失すれば、加熱による pH 上昇が起りにくくなるのは当然である。

また、図において、 NaHCO_3 に NaOH を加えて初期 pH を上げた場合、加熱 pH は下降している。これは図3の唾液に NaOH を添加した実験において加熱初期には pH が下降気味であり、上昇が起りにくくなることと関連する現象であろう。 NaHCO_3 に NaOH を添加すると NaHCO_3 が減少ないし消失することは、前出の(1)式から類推される。そして Na_2CO_3 液の加熱と同様になり、下降するのであろう。

5) その他の物質と加熱 pH

唾液は NaHCO_3 の単純な液ではない。多くの物質が含まれている。他方、 NaHCO_3 水溶液の濃度を 1 mg/100 ml 以下にしても、それだけでは加熱 pH の下降現象は現われない。また前項のように、初期 pH を下げたときの態度は唾液とは非常に異なっている。加熱による pH 上昇には、確かに NaHCO_3 が主役を演ずると思われるが、そのほかの細かい点はまだよくわかってはいない。そこで、 NaHCO_3 水溶液を基本として、これに種々の物質を添加したときの加熱 pH を主として試験管法で追究した。

i) アルブミン

牛血清アルブミン (COHN fraction V, 第一化学, 東京) は、その水溶液を加熱したとき pH の上昇をしめす。500 mg/100 ml 水溶液を 2 昼夜冷蔵庫内で脱イオン水に対して透析し、0.1 M NaCl の等量と混和し、そのまま加熱および微量の NaOH を加えて中性としたのち加熱した。その成績を図15にしめす (NaCl 水溶液自体は加熱しても pH 変化をしめさなかった)。図のように、加熱 pH は上昇をしめした。なお、タンパクの沈殿による混濁は初期 pH 7.03の方がもちろん少ない。

図 15 牛血清アルブミン水溶液の加熱 pH (開放系)

また、0.1 M NaCl 4 ml, 10 mg/100 ml NaHCO_3 2 ml, 脱イオン水 2 ml あるいは 1 g/100 ml 牛血清アルブミン透析内液 2 ml の混液をつくる。これらを加熱したときの成績を図16にあげた。 NaHCO_3 をふくまないときの成績は図15の初期

図 16 NaHCO_3 水溶液の加熱 pH に対する牛血清アルブミン添加の影響(開放系)

図 17 尿素水溶液の加熱 pH(開放系)

pH 7.03である。図のようにアルブミンを添加した場合の加熱 pH は、無添加の場合よりも高くなった。ただし、初期 pH をそろえるために、アルブミンの場合は微量の NaOH を使用しているから、正確な比較は無理である。

ii) 尿素

17 mg/100 ml 尿素 (小宗化学, 東京) を加熱したときの成績を図17にしめす。これによると、尿素水溶液は加熱によって pH 上昇を起こすことがわかる。しかし、調製後日時(約30日)を経過した古い尿溶液は、微生物による分解を受けて NH_3 を生成しているらしく、初期 pH が高くなり、加熱 pH が上昇するとはいうものの、新鮮液にくらべてその程度は小さかった。またつぎに脱

図 18 NaHCO_3 水溶液の加熱 pH に対する尿素の影響(開放系)

イオン水 6 ml, 25 mg/100 ml NaHCO_3 2 ml, 100 mg/100 ml 尿素 2 ml あるいは脱イオン水 2 ml を混合し、加熱 pH を求めた。図 18 のように、尿素有添加した場合には、 NaHCO_3 のみのときより加熱 pH の上昇は大になった。 $[\text{OH}^-]$ の増加からみても、明らかに尿素添加の方が大である。

ところで、 NaHCO_3 水溶液 (2 mg/100 ml) の場合には、これに乳酸を加えて pH を 4.4 に下げ、ついで NaOH によってもとに戻して加熱すると、pH 上昇はみられなくなった (図19)。これに対し、尿素水溶液 (17 mg/100 ml 水溶液を NaOH で中性にしたもの) の場合は、同様に処理し加熱しても依然として pH 上昇をしめした (図20)。 NaHCO_3 は唾液と似た態度をしめすが、尿素はそうでないことがわかる。

他方、尿素水溶液の初期 pH を NaOH で種々に変えたときの加熱 pH をみると (図21)、初期 pH が低いほど加熱 pH の上昇は非常に大であった。初期 pH が 8 以上のときは、加熱 pH はほとんど不変であった。しかし、 $[\text{OH}^-]$ の増加にはそれほど差はなく、初期 pH 8.27, 6.69, 5.52 の加熱120分間における増加は、それぞれ 0.65×10^{-6} , 1.65×10^{-6} , 2.10×10^{-6} である。

iii) 塩化カルシウムおよびリン酸塩

7.5 mg/100 ml $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (小宗化学, 東

図 19 NaHCO_3 水溶液 (2 mg/100 ml) の初期 pH を乳酸で下げたのち NaOH で中性に戻したときの加熱 pH (開放系)

図 20 尿素水溶液 (17 mg/100 ml, NaOH で中性) の初期 pH を乳酸で下げたのち再び中性に戻したときの加熱 pH (開放系)

京) の水溶液は加熱によって pH が上昇し, 2.5 mM の $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (E. Merck, Darmstadt) や $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (大成化学, 東京) の水溶液は加熱によって pH が漸次下降した。しかし, 2.5 mM KH_2PO_4 (E. Merck) の水溶液は加熱しても pH 変化をしめさなかったが, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (E. Merck) の水溶液は加熱によってやや pH が下降した。

ところで, 唾液 pH の点から興味のあるのは, リン酸塩とカルシウムである。 Na_2HPO_4 に CaCl_2

図 21 尿素水溶液 (17 mg/100 ml) の初期 pH を NaOH で上げたときの加熱 pH (開放系)

を混合して加熱した場合, Na_2HPO_4 単独の場合と pH 下降は同程度であったが, 加熱 pH 不変の KH_2PO_4 に CaCl_2 を混合して加熱すると, pH はやや下降するようになった。前者では CaHPO_4 が, 後者では $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ が生成されると思われる。双方ともに加熱によって pH 下降をしめす物質である。

さて前述のように, CaCl_2 水溶液は加熱によって pH 上昇があるが, リン酸緩衝液 (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4) は無論 pH 変化をしめさない。しかるに, 双方を混合すると, 加熱 pH は逆に低下するのである。図 22 は, pH 7.2 の 25 mM リン酸緩衝液の 5 ml に, 25 mg/100 ml $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の 5 ml および脱イオン水 15 ml を加えた混液を加熱したものである。終濃度は, リン酸塩が 5 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ が 5 mg/100 ml である。

図に明かなように, 加熱によって pH は急激に下降している。しかも, この pH 下降現象は図 23 のように, 初期 pH が高い場合ほど一見大きかった。もっとも, $[\text{H}^+]$ の変化からみると, 初期 pH が低い場合ほど大である (たとえば, 初期 pH が 8.91, 8.17, 7.32 (無添加) の場合について $[\text{H}^+]$ の 90 分間加熱による増加は, それぞれ 0.51×10^{-8} , 0.89×10^{-8} , 4.4×10^{-8} になる)。図 23 は, 終濃度がリン酸緩衝剤 (pH 7.2) で 6 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ で 7.5 mg/100 ml の混液についての成績であり, 初期 pH の変化には, 乳酸あるい

図 22 リン酸緩衝液に CaCl_2 を加えたときの加熱 pH(開放系)

図 23 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の初期 pH を NaOH あるいは乳酸で変えたときの加熱 pH(開放系)

は NaOH を使用した。

図22, 23の成績は、カルシウムを添加することによってリン酸カルシウムが生成され、そのために加熱 pH が下降することを示唆する。事実、加熱によって初期 pH が6以上の場合には、混濁が明らかに生じた。リン酸カルシウムの型は pH によって異なるが、水溶液が加熱によって pH 下降をしめすことは前に述べた。これらの現象は、 CO_2 逃とは無関係であり、下降型唾液の機序を示唆するものである。このような系に NaHCO_3 が加味されるとどうなるかを図24に示す。終濃

図 24 NaHCO_3 水溶液に CaCl_2 , リン酸緩衝剤を添加したときの加熱 pH(開放系)

度は NaHCO_3 2.5 mg/100 ml, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7.5 mg/100 ml, リン酸緩衝剤(pH 7.2) 6 mM である。図のように、 NaHCO_3 とリン酸緩衝剤の混液の場合には、後者の緩衝能が働くためか、pH 上昇は起こりにくかった。しかし、これにさらに CaCl_2 が共存する場合には、加熱時に混濁と pH 下降がみられた。

この現象を、 $\text{NaHCO}_3 \cdot$ リン酸緩衝剤の混液(終濃度は前者 2.5 mg/100 ml, 後者 4 mM) について $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の添加量を種々に変え、さらに詳しく調べたのが図25である。図のように、 CaCl_2 が多いほど加熱時の混濁と同時に pH 下降が著明になった。

また、リン酸緩衝剤(終濃度 6 mM) と $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (終濃度 7.5 mg/100 ml) の濃度を一定とし、 NaHCO_3 の濃度を変えた。図26のように、 NaHCO_3 が無いときは加熱 pH は下降するが、その添加量が増すほど加熱 pH の上昇が著明になった。

つぎに、 NaHCO_3 および $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の濃度を一定とし(終濃度は前者 2.5 mg/100 ml, 後者 7.5 mg/100 ml), リン酸緩衝剤の濃度を変えたときの成績を図27に示す。緩衝剤を無添加の場合には、加熱 pH は上昇する。しかし、緩衝剤を添加すると、加熱 pH の下降が現われた。ただしリ

図 25 NaHCO_3 ・リン酸緩衝液に CaCl_2 を加えたときの加熱 pH(開放系)

図 26 CaCl_2 ・リン酸緩衝液に NaHCO_3 を加えたときの加熱 pH(開放系)

図 27 CaCl_2 ・ NaHCO_3 液にリン酸緩衝剤を加えたときの加熱 pH(開放系)

図 28 添加物自身の閉鎖加熱 pH

ン酸緩衝剤の濃度が増すと、緩衝能が大になるので、pH 変化が起こりにくいようである。

iv) NaHCO_3 以外の物質の閉鎖加熱

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ とリン酸緩衝剤の混液（終濃度は 5 mg/100 ml と 5 mM）、16.6 mg/100 ml 尿素、200 mg/100 ml 牛血清アルブミンのそれぞれを、閉鎖加熱、閉鎖冷却のスピッツグラス法によって調べた。

図28にしめすように、 CaCl_2 ・リン酸緩衝液は加熱によって pH が下降した。尿素液や牛血清

アルブミン液は加熱によってともに pH が上昇した。これらの成績は、前述の開放加熱時に類似の成績であり、いずれもガスの逃出とは無関係な pH 変化であることがわかった。

6) 全混合液の加熱 pH と初期 pH

以上のモデル実験の結果から、加熱 pH の上昇因子としては NaHCO_3 と尿素有 2 因子、pH の下降因子としてはリン酸カルシウムが見い出されたことになる。これだけで唾液に関するすべてを説明することはできないとは思わないが、少なくとも

図 29 高 NaHCO_3 , 低リン酸緩衝剤, 低尿素混合液の加熱 pH (開放系)

図 30 低 NaHCO_3 , 高リン酸緩衝剤, 高尿素混合液の加熱 pH (開放系)

も初期 pH を変化したときの唾液の態度とどの程度の類似がみられるかを調べた。

図29は, 100 mg/100 ml NaHCO_3 , 40 mg/100 ml 尿素, 50 mg/100 ml $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2.5 mM

リン酸緩衝液の各 2 ml あてを混合した場合の, 試験管法による加熱 pH を求めたものであり, 図 3 のモデル実験である。両図をくらべると, NaOH 添加の場合でも, HCl 添加の場合でも, ほぼ類似の成績を与えていることがわかる。

また図30は, 20mg/100 ml NaHCO_3 , 60 mg/100 ml 尿素, 50 mg/100 ml $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 mM リン酸緩衝液の各 2 ml あてを混合し, 図29と同様に加熱 pH を求めたものである。図 7 のモデル実験にあたるが, 両図は, NaOH 添加の場合でも, HCl 添加の場合でも, ほぼ類似している。

考察と小括

以上の諸実験によると, NaHCO_3 の存在は開放加熱 pH の上昇 (図 9) を, リン酸塩とカルシウムの存在は開放および閉鎖加熱における pH 下降 (図22~28) を起こすことがわかった。後者の場合は NaHCO_3 の共存により (図26), 前者の場合はリン酸塩およびカルシウムの共存により (図24), 加熱 pH 変化が妨げられた。

このほか, タンパク (図15) や尿素 (図17) も加熱 pH の上昇因子であるが, NaHCO_3 と異なる点は閉鎖加熱でも pH 上昇がみられることである (図28)。また, タンパクや尿素が NaHCO_3 と共存するときは, 加熱 pH の上昇は大になった (図16, 18)。

加熱 pH の上昇にガスの出入が必要なことは, 閉鎖加熱では pH 上昇が起こりにくいことから明らかであるが (図 9), おそらく CO_2 の逃出が重要と思われる。また, NaHCO_3 の存在が必要なことは, 図14からも推定される。すなわち, NaHCO_3 を酸によって分解すると, pH 上昇が起こりにくくなり, 初期 pH 4 では上昇がみられなくなった。これは三浦¹⁾の振盪 pH の成績と一致し, 酸によって NaHCO_3 が消失したものと思われる。ところで, NaHCO_3 水溶液を加熱すると Na_2CO_3 が生成され, これは NaHCO_3 よりも塩基性が強い。したがって, NaHCO_3 水溶液の加熱による pH 上昇には, CO_2 の逃出のほか Na_2CO_3 の生成が関与すると思われる。しかし, Na_2CO_3 自身の水溶液は開放加熱によって pH 下降をしめすから (図11), NaHCO_3 水溶液の加熱であって

も、 Na_2CO_3 量が多くなると、加熱 pH は下降しはじめることが予想される。 NaHCO_3 に NaOH をあらかじめ添加して初期 pH を上げた場合には加熱 pH ははじめから下降し (図14)、また前章の唾液加熱 (図1) に上昇下降型が現われているが、この Na_2CO_3 生成が関係しているのではなからうか。図1の完全な上昇型唾液にしても、加熱時間をもっと長くすれば、やがて下降がみられるものと考えられる。

他方、第二リン酸塩やリン酸カルシウムは加熱によって漸次 pH 下降をしめし、またリン酸塩とカルシウムの混液についてその初期 pH を変えた場合、加熱 pH の下降がすべての pH 領域において現われた (図23)。この加熱 pH 下降現象は閉鎖加熱でもみられ、ガスの出入とは無関係であることがわかった (図28)。

リン酸緩衝剤と CaCl_2 の混液を加熱したときの pH 下降は、加熱初期に下降して以後は不変である (図22, 28)。これは開放加熱でも閉鎖加熱でもみられる特徴であり、前章の唾液閉鎖加熱における経過と全く同じ現象である (図2)。このような現象を説明するのに好都合な事象としては、リン酸カルシウムの沈殿がある。10 mM リン酸緩衝液 (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4), 2.5 mM CaCl_2 , 脱イオン水の各 1 ml 混液 (pH 7.45) を 95°C で 10 分間開放加熱すると、カルシウムの 92% (原子吸光分析法)、リンの 16% (Allen-中村法) が沈殿した。この成績からみると、加熱初期にカルシウムのほとんど全部が沈殿してしまうことになる。しかし、加熱 pH の下降は、初期 pH が酸性の場合にも現われ、このときはカルシウムの沈殿は肉眼的に非常に少ない (混濁が生じにくい)。したがって、不溶化そのものが pH 下降の原因ではなく、リン酸カルシウムの生成それ自体が下降の主因と思われる。緩衝液自身は加熱 pH の変化に対しては阻止的であるから、リン酸カルシウムの生成があってはじめて下降的に作用するのであるが、リン酸カルシウムが沈殿してしまえば以後 pH 変化は起こらなくなる。

最後に、 NaHCO_3 , リン酸塩 (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4), CaCl_2 , 尿素有の混合液を用いて、 NaOH や HCl によって初期 pH を変えたときの加熱

pH 推移を調べたところ (図29, 30)、唾液の場合 (図3, 7) と類似の成績が得られた。

III 唾液に pH 変化因子を添加したときの加熱 pH

前章において、唾液の加熱 pH 変化に関与すると思われる物質を選び、その加熱 pH を調べたので、これらを唾液に追加したときの作用をつぎに知りたいと考えた。

実験方法

唾液に尿素などを加え、前章の試験管法 (開放加熱・開放冷却) によって、加熱 pH の変化を追った。

実験成績

1) 尿素の添加

尿素は微弱ではあるが塩基性の物質であり、前述のように、その水溶液は加熱によって pH 上昇をしめす。しかし、尿素を唾液に加えても、その加熱 pH に上昇作用が加味されない場合があった。図31は、唾液の初期 pH をあらかじめ H_2SO_4 で 4.11 に下げ、これの 8 ml に尿素結晶 2 mg を添加して加熱したときの成績である。尿素は、唾液の加熱 pH 上昇に加味され、添加時には上昇が増大した。これに対し、図32は、加熱 pH の上昇型および下降型の各唾液に、酸処理をすることな

図 31 初期 pH を H_2SO_4 で下げた唾液に尿素を添加したときの加熱 pH (開放系)

図 32 尿素添加唾液の加熱 pH(開放系)

く、尿素を添加したときの成績である。唾液 4 ml あてに 28 mg/100 ml 尿素水溶液あるいは脱イオン水を 4 ml あて加えて加熱したものである。唾液の尿素量は約 14 mg/100 ml であるから。尿素液添加試料は無添加の約 3 倍の尿素量になっている。図にしめすように、尿素添加から期待される筈の上昇増大はほとんどみられなかった。これは、唾液に尿素結晶を直接添加 (唾液 8 ml に 2 mg 加えたので 25 mg/100 ml 相当) した場合にも、全く同様であった。

pH の上昇は、理論的にみて、初期 pH が低いほど一見大きく現われる。たとえば図 21 のようである。しかし実際には、 $[\text{OH}^-]$ の差はたいしてない。したがって、図 31 では尿素添加の影響が一見大きくみられたのに、図 32 ではほとんどみられないという現象には、このことも関係しているであろう。しかし、図 18 にしめたように、 NaHCO_3 水溶液に添加した場合には添加の影響が大きく現われている。pH 中性付近の唾液の場合には、なにか共存物質の妨害があるのかもしれない。

唾液中の尿素は、本来は加熱 pH 上昇因子であるが、通常の唾液 (初期 pH がほぼ中性) では、その作用は発揮されないものと思われる。

2) アルブミンの添加

図 33 は、唾液 4 ml に 500 mg/100 ml 牛血清アルブミンあるいは脱イオン水の 4 ml を混和したときの成績である。前章の図 15 にしめたように、アルブミン自体は加熱 pH 上昇因子である。しかるに図 33 のように、唾液に添加された場合

図 33 牛血清アルブミンを添加した唾液の加熱 pH(開放系)

図 34 NaHCO_3 添加唾液の加熱 pH(開放系)

は、尿素と同様に上昇に加担することがなかった。

3) NaHCO_3 の添加

アルブミンや尿素と違って、 NaHCO_3 を唾液に添加すると pH 上昇が増大した。たとえ下降型唾液であっても、これに NaHCO_3 を添加した場合には、上昇型への変換が起こった (図 34)。図 34 は、下降型唾液 4 ml に種々の濃度の NaHCO_3 水溶液あるいは脱イオン水の 4 ml を加えたときの加熱 pH をしめす。図の実線に付記した濃度は、添加 NaHCO_3 の終濃度である。

この成績は、下降型唾液には NaHCO_3 含有量が少なかったことを示唆する。下降因子であるリ

図 35 CaCl₂ 添加唾液の加熱 pH(開放系)

ン酸塩やカルシウム含有量の個体差にくらべて、アルカリ予備である NaHCO₃ 含有量の個体差は大きいものと思われる。

4) CaCl₂ の添加

つぎに CaCl₂ について調べたところ、図35のようになった。上昇型唾液の 4 ml に 4 mg/100 ml CaCl₂・2 H₂O あるいは脱イオン水の 4 ml を混和加熱したものである。図のように、上昇型であったものが下降型に変化した。Ⅱ章 5) の iii) のように、CaCl₂ 自体は本来は加熱 pH の上昇因子であるが、リン酸塩と共存するときは下降因子になる。唾液中にはリン酸塩が含まれているから、CaCl₂ の添加はリン酸カルシウムの増加を招き、そのために下降型に変化すると解される。

5) リン酸塩の添加

上昇型の唾液 7 ml に Na₂HPO₄・2 H₂O ある

図 36 リン酸塩添加唾液の加熱 pH (開放系)

いは CaHPO₄・2 H₂O を 2 mg あて添加溶解させたときの加熱 pH を図36にあげた。90分加熱による [OH⁻] の増加を図から計算すると、

無添加 (対照) : 1.44×10^{-7}
Na₂HPO₄ 添加 : 1.57×10^{-7}
CaHPO₄ 添加 : 0.50×10^{-7}

であった。Na₂HPO₄ 添加は無添加 (対照) と大差ないが、CaHPO₄ 添加では [OH⁻] 増加が抑制されることがわかった。ちなみに、Na₂HPO₄ も CaHPO₄ もそれ自体は加熱 pH 下降因子であるが、CaHPO₄ は唾液中でも下降的に作用することが窺える。

また、リン酸緩衝剤を 0.5~5 mM に添加したときの加熱 pH を図37に示す。これは上昇型唾液 4 ml あてに、1~10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4~7.5) あるいは脱イオン水の 4 ml を加えたものである。図のように、リン酸緩衝剤が加えられると、pH 上昇が遅れ、かつ上昇の度合も少なくなった。

- 唾液 4 ml に対して
- 1. 水 4 ml
 - 2. 1 mM リン酸緩衝液 4 ml
 - 3. 2 mM "
 - 4. 4 mM "
 - 5. 10 mM "

図 37 リン酸緩衝剤添加唾液の加熱 pH(開放系)

唾液カルシウム量はその唾液についてはきまっているので、Na₂HPO₄ をあらたに追加しても加熱 pH 上昇には影響が少ないと思われる。しかし、リン酸緩衝剤として加えた場合には、その緩

衝能のために、pH 変化が抑制されるものと考えられる。

考察と小括

前章に述べたように、尿素やアルブミンは単独では加熱によって pH 上昇をしめす物質である。しかし通常の唾液中では上昇因子としてはほとんど作用しなかった (図32, 33)。これに対し、 NaHCO_3 は唾液中でも上昇因子として働くことが確かめられた (図34)。

他方、 CaCl_2 や CaHPO_4 の添加は、唾液の加熱 pH 上昇を抑え、下降的に作用することがわかった (図35, 36)。しかし、 Na_2HPO_4 の添加はほとんど影響を及ぼさず (図36)、リン酸緩衝剤の添加は加熱 pH の変化に対し抑制的に作用した (図37)。これらの現象からみて、唾液の加熱 pH が下降するのには、リン酸カルシウムが主要な因子であることがわかる。

全唾液に含まれる無機リン量は10~20 mg/100 ml であり⁶⁾、その80%が透析性という⁷⁾。そのすべてが緩衝系を構成するとして、その濃度は数 mM にあたるが、緩衝能に与かる部分はもっと少ないものと考えられる。リン酸のイオンとしては PO_4^{3-} 、 HPO_4^{2-} 、 H_2PO_4^- の各型があり、これは唾液 pH に左右される。他方、カルシウムは数 mg/100 ml 含まれる³⁾。種々のリン酸カルシウムの Ca/P (重量比) からみて、このカルシウムがすべてリン酸カルシウムであるとすれば、唾液リンの約20%がこれに与かる計算になる。しかし実際には、リンの約5%だけがカルシウム塩として存在するという⁷⁾。しかし、加熱した場合には、カルシウムを原子吸光分析法、リンを Allen-中村法で調べてみると、96°C でのわずか10分の加熱でも、前者の73%と後者の15%が沈殿した (唾液の初期 pH 7.40, 初期カルシウム 5.9 mg/100 ml, 初期リン 13.1 mg/100 ml, 沈殿物の Ca/P の重量比 2.09)⁵⁾。さらに加熱時間が長く30分間ともなれば、カルシウムのほとんど全部が沈殿して計算通りにリンの約20%が消失するものと考えられる。すなわち、唾液を加熱するとリン酸カルシウム (その型は pH に左右されるが、通常の唾液の場合は Ca/P の値からみて $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ がおも?)

が増加し、加熱 pH の下降因子になると思われる。その場合、pH 変化に対しては沈殿すること自体は副次的な現象にすぎないことを前章で考察した。

全編の考察

唾液 pH に関する研究は、佐藤 (1927), Doyvensz (1930), 浜野ら (1931), 平田ら (1932), Tempestini (1932), 今野 (1934), Brawley (1935, 1936), 安保 (1936), Siang (1936), Martin (1936), Grossman ら (1937), Englert (1937), 二宮ら (1940), 渡辺 (1940), Wessinger (1941), 額田 (1941), Swerdlove (1942), 渡辺ら (1942), 浅野 (1943), Eisenbrandt (1943, 1944), 黒沢 (1944), 馬 (1944), 飯沼 (1949), 伊藤 (1949), Anderson (1949), 岡田 (1949), Schmidt (1952), Sauerwein (1952), Hafer (1953), Thompson ら (1954), Proutt (1954), Turner ら (1954), 大橋 (1956), Charlton (1956), Sullivan ら (1957), 三原 (1957), 滝口ら (1957), 弘山 (1958), Muracciole ら (1958), Shafer ら (1958), Englander ら (1958), Kleinberg (1958), Chauncey ら (1958), 藤本 (1959), Rosenthal ら (1959), Suhara ら (1959), 柳生 (1959), Sanjana ら (1959), Köhler (1960), 梶本ら (1960), 稲束ら (1960), 飯塚 (1960), Hattayasy ら (1961), Krasse (1961), Mazzarella ら (1961), Lamberts ら (1961), Sauerwein (1951), Kröger (1961), Hunecke (1951), Rozeik (1961), Silimbani (1962), 田中 (1963), Kirsch (1963) など非常に多い⁸⁾。これらのうち、血液アルカリ予備や唾液 CO_2 、ひいてはアシドーシスやアルカローシスとの関連を取り扱っているものに、渡辺⁹⁾、渡辺ら¹⁰⁾、黒沢¹¹⁾、飯沼¹²⁾、Anderson^{13,14)}、伊藤¹⁵⁾、岡田¹⁶⁾、大亀ら¹⁷⁾、Rozeik¹⁸⁾ などがあり、反射唾液で pH が高いことを報告しているものに Suhara ら¹⁹⁾ がある。有名な Zambrini-渡辺の唾液反応 (疲労ないし生体抵抗力の判定試験) も、原理としては唾液 pH をみているのであり、血液アルカリ予備の減少 (アシドーシス) をあらわすものとされている²⁰⁾。また、唾液 pH は採取放置後の CO_2 逃出によって変化するので¹³⁾、

この影響を防止する測定法も種々考案されている^{17,21,22)}。しかし最近三浦¹⁾は、従来の行き方とは全く逆に、CO₂ 逃出を振盪によって促進させたときの窮極の pH (振盪 pH とよぶ) を求め、pH 上昇の引金は唾液酸性物質の存在によることを明らかにしている。おそらく振盪 pH は唾液のアルカリ予備量²³⁾と直接関連すると思われる興味深い。このアルカリ予備は唾液の緩衝能と密接な関係があり、炭酸-重炭酸塩緩衝系は唾液緩衝能の95%を担うという^{24,25)}。

本報告は、1) まず唾液を開放加熱したときの pH 変化は上昇型と下降型にわけられるが、閉鎖加熱ではすべてが下降型になることを明らかにし、2) モデル実験によって、開放加熱の上昇因子は NaHCO₃、その発現因子は CO₂ の逃出であり、閉鎖加熱の上昇因子は尿素およびタンパクであり、開放加熱と閉鎖加熱の下降因子はリン酸カルシウムであることを指摘し、3) 最後に、唾液にこれらの物質を追加したとき、加熱 pH 変化に寄与するか否かを調べたものである。その結果、上昇型唾液には NaHCO₃ (アルカリ予備) が多いこと、下降型唾液にはそれが少なくリン酸カルシウムの作用が優勢になることが推測された。

これに関連する事象として興味深いのは、唾液の NaHCO₃ 量はリンやカルシウム量にくらべて個体差や変動が大きいことである。Mandel の総説⁷⁾によると、刺激唾液の bicarbonate (HCO₃⁻) の平均は耳下腺唾液で20 mEq/l、顎下腺唾液で18 mEq/l であり、血漿の70~75%にあたるが、非刺激耳下腺唾液ではわずかに1 mEq/l であるという。これに対し、phosphate (HPO₄²⁻) や calcium (Ca²⁺) は、非刺激唾液で逆に増加するが、刺激唾液のせいぜい1.5~2.5倍にすぎない。これらの成績はまた、加熱 pH の上昇は刺激唾液で、下降は非刺激唾液で起こりやすいことを示唆する。図1の各型について、さらに確かめてみる必要がある。

歯学における応用面からみた本研究の要点はつぎのようになる。すなわち、1) 閉鎖加熱したときの唾液 pH は下降してすぐに一定値に達する(図2)、2) 酸を加えて加熱したときの唾液 pH

は閉鎖加熱でも上昇する(図6)。唾液のリンはカルシウムにくらべ遙かに多いから、1) の現象は下降因子であるカルシウムの濃度に依存すると思われる。一方2) は初期 pH 酸性のときの上昇因子である尿素やタンパクの濃度に依存すると思われる、これらは唾液の抗酸因子でもある。したがって、1) や2) はいずれも歯石形成や齲蝕の発生などと関連のある現象といえる。なお、開放加熱における唾液 pH の上昇は、アルカリ予備量(pH や緩衝能の主要素) に左右されると思われるが、その量が少ないときには下降因子の影響が現われ、また Na₂CO₃ の加熱時生成によって一定値を維持しないことがあり、一定値を維持するにしても到達に時間を要するなどの欠点がある。このような点では、三浦¹⁾の振盪 pH の方が単純な現象であって、アルカリ予備の追究には振盪 pH が適していると思われる。

三浦の振盪 pH と著者の加熱 pH を組み合わせると、pH はもちろんのこと、アルカリ予備、カルシウム、尿素およびタンパクなど、唾液性状についての情報が一度に得られるものと期待される。口腔臨床化学の一課題として、さらに追究したいと考える。

結 論

唾液を放置あるいは振盪すると pH が上昇する。加熱でも同様であろうと一般に予想されているが、実際には下降する場合がある。

振盪と同様に加熱もまた唾液研究の基本操作のひとつであり、唾液 pH は細菌学的ないし生化学的現象において重要な因子である。本報告は、唾液を加熱したときの pH 変化の種々相と機序を追究したものである。その結果、

1) 加熱 pH が上昇をしめすのは、開放加熱のときだけであり、閉鎖加熱では下降する。すなわち、開放加熱では上昇型および下降型が現われるが、閉鎖加熱においてはすべてが下降型になる。これは、ガスの出入(CO₂ の逃出)は上昇には関与するが、下降には無関係なことをしめす。

2) 唾液を酸によって前処理すると(酸を少し加えて初期 pH をわずかに下げるか、酸性にしたのち中性に戻すと)、上昇型も下降型に変わる。

しかし、酸性のままで加熱した場合には依然として上昇をしめす。これは、加熱 pH の上昇因子に少なくとも2種類あることをしめす。ひとつは酸に対して不安定な物質、他はそれより安定な物質と考えられる。しかも、ガスの出入 (CO_2 の逃) と関係するのは前者である。

3) 上昇現象において、この CO_2 逃と関連するものは NaHCO_3 と思われる。すなわち、この場合の pH 上昇因子は NaHCO_3 であり、発現因子が CO_2 逃と考えられる。さらに、 NaHCO_3 水溶液を加熱したときの pH 上昇からみて、唾液加熱 pH の上昇には NaHCO_3 からの Na_2CO_3 の生成も関与するらしい。

4) 上昇因子のもうひとつは、尿素やタンパクと思われ、とくに尿素が注目される。しかし、これらを唾液に追加しても、加熱 pH の上昇に加味されない。なにか唾液中には妨害物質が含まれるのかもしれない。したがって、通常の唾液 (pH 中性付近) にあっては、尿素やタンパクは上昇因子として働くことはない。ただし尿素は、唾液の初期 pH を下げた場合には効いてくる。

5) 他方下降現象は、リン酸とカルシウムが共存するときに現われ、カルシウムを唾液に追加すると、上昇型でも下降型に変わる。下降因子はリン酸カルシウムといえよう。

6) この下降現象は、ガスの出入とは無関係であり、酸処理によって破壊されることはなく、広い pH 範囲でみられる。しかし、酸性にした唾液の場合には、尿素の存在によって下降が妨害される。

7) NaHCO_3 , 尿素, CaCl_2 , リン酸緩衝剤 (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4) の混合液は、加熱 pH 変化の追究において、唾液のモデルとして使用できる。

8) 加熱 pH の変化には、カルシウムに対する NaHCO_3 の濃度比が重要であり、上昇型唾液には NaHCO_3 すなわちアルカリ予備が多く含まれるが、下降型唾液には少ないことが推測される。

以上の加熱 pH を、三浦の振盪 pH と組み合わせることで検討することによって、唾液のアルカリ予備、カルシウム、尿素の量を同時に推定できると思われる。

御指導、御校閲下さった三代幸彦教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 三浦敏行：振盪による唾液 pH の上昇について。歯科基礎医学会雑誌, 14: 101-117, 1972.
- 2) 島田勝彦：加熱唾液の pH について。歯学, 60: 732-747, 1973.
- 3) 高橋徳治：唾液リン酸カルシウムの不溶化について。歯学, 60: 748-759, 1973.
- 4) 杉山登：化学, 17版, 76頁, 清水書院, 東京, 1954.
- 5) 未発表
- 6) 越智道弘, 望月重次：唾液の無機磷について。歯学, 51: 73-78, 1963.
- 7) MANDEL, I. D.: Relation of saliva and plaque to caries. *J. dent. Res.*, 53: 246-266, 1974.
- 8) 押鐘篤：歯学生化学, 初版, 512-522頁, 763-764頁, 医歯薬出版, 東京, 1966.
- 9) 渡辺巖：人に於ける唾液水素イオン濃度と血液アルカリ予備との密接なる相関性に就いて。東京医学会雑誌, 54: 886-895, 1940.
- 10) 渡辺巖, 豊島時太郎：急激な運動が唾液水素イオン濃度と血液アルカリ予備の相関性に及ぼす影響に就いて。医学と生物学, 1: 22-25, 1942.
- 11) 黒沢正二：数種の薬物が唾液水素イオン濃度と血液アルカリ予備の相関性に及ぼす影響について。歯科学雑誌, 1: 175-190, 1944.
- 12) 飯沼昌夫：実験的アチドーシス及びアルカローシスに於ける唾液水素イオン濃度並に唾液 CO_2 抱容能の相関性について。歯科学雑誌, 6: 263-266, 1949.
- 13) ANDERSON, D. J.: The hydrogen ion concentration of the saliva. I. Factors influencing CO_2 content. *J. dent. Res.*, 28: 72-76, 1949.
- 14) ANDERSON, D. J.: The hydrogen ion concentration of the saliva. II. The relationship between hydrogen ion concentration and rate of flow of saliva. *J. dent. Res.*, 28: 583-588, 1949.
- 15) 伊藤乾次郎：唾液水素イオン濃度と唾液 CO_2 抱容能との緊密な相関性について。歯科学雑誌, 6: 257-259, 1949.
- 16) 岡田平八郎：植物性神経毒注射が唾液水素イオン濃度と唾液 CO_2 抱容能との相関性に及ぼす影響について。歯科学雑誌, 6: 260-263, 1949.
- 17) 大亀廉, 塩野博, 水谷義文：嫌氣的唾液採取法並びに本装置による唾液ガスの測定について。歯科月報, 34: 215-217, 1960.
- 18) ROZEIK, F.: Die Abhängigkeit der Kariesbereitschaft vom sauren und alkalischen Speichel im Tierexperiment. *Dtsch. zahnärztl. Zschr.*, 16: 202-204, 1961.

- 19) SUHARA, R. and ASAKAWA, H. : On the composition of human parotid resting saliva and reflex saliva. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, 1 : 153-157, 1958.
- 20) 金森虎男, 渡辺巖 : ザンブリニ-渡辺法, 疲労判定法 (学術研究会議疲労研究班), 厚生科学叢刊5, 31-34頁, 創元社, 東京, 1947.
- 21) 三原博直 : ガラス電極による唾液 pH の連続測定法について. 歯科医学, 20 : 192-194, 1957.
- 22) SANJANA, M. K., MEHTA, F. S., DOCTOR, R. H. and SHROFF, B. C. : Salivary pH examination amongst Indian children and its relation to the incidence of periodontal disease. *J. Periodont.*, 30 : 238-241, 1959.
- 23) SAND, H. F. : Source of the bicarbonate of saliva. *J. appl. Physiol.*, 4 : 66-76, 1951.
- 24) LEUNG, S. W. : A demonstration of the importance of bicarbonate as a salivary buffer. *J. dent. Res.*, 30 : 403-414, 1951.
- 25) LILIENTHAL, B. : An analysis of the buffer systems in saliva. *J. dent. Res.*, 34 : 516-530, 1955.