30. 秋谷七郎, 本橋信夫: 有機酸摂取による尿成分の変化について (第1報)

有機酸摂取が尿 pH 値及び乳酸量に及ぼす影響について

Shichiro Akiya and Nobuo Motohashi: Studies on the Effect of Organic Acids on the Change of Urine Components. I. Effect of Organic Acids on the pH Values and Lactic Acid Contents in Urine.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo*)

In an attempt to find some effects, if any, of a few organic acids on metabolism, various changes appearing in the urine of the writer himself after ingestion of various organic acids were followed. With the constant diet of noodles, ingestion of citric or acetic acid was found to elevate the pH value of the urine, which attained the maximum 2 hours after taking such acid. At the same time, the amount of lactic acid in the urine was found to be markedly decreased. The same tendencies were not so marked in the case of the ingestion of tartaric and lactic acids. Considering from such results, it is thought that the ingestion of citric or acetic acid somehow affected the progress of the Krebs cycle in the body, probably effecting better oxidation of pyruvic acid, with attendant decrease of the formation of lactic acid from pyruvic acid, and the elevation of urine pH by the decrease of acid substances in the urine.

(Received August 8, 1955)

著者等は第2次大戦中潜水艦内において味噌の防黴剤として、クエン酸を添加混用したところ、防黴効果と共に乗員の健康状態が著しく向上し、長時間の潜航にも耐え得た事実を知り、クエン酸が人体代謝に何等かの影響を及ぼすものと考えクエン酸摂取による著者等の人体実験を開始した。その後 Krebs 学説の完成を知り、主としてクエン酸の投与と尿中に現われる諸変化との関係を追求めんとして本実験を行つた。Krebs cycle に関与する有機酸が *in vitro* でピルビン酸の酸化を促進するものであれば^{1,2)}、生体はその有機酸の摂取により生体内酸化に影響を及ぼされることが想像される。また若しこの有機酸の摂取が Krebs cycle の進行を促進せしめるならば、この cycle が炭水化物のみならず蛋白質^{3,4,5)} 及び脂質^{6,7,8)} の代謝と密接に関連している以上この代謝が完全に行われて生体は正常な生活現象を呈すべきであると考えた。ここに着目して著者等は健康時に食餌条件を一定としクエン酸を摂取するとき尿の pH 値が上昇することを多数の被験者について認めることができた。この有機酸摂取による尿 pH 値の上昇は一見矛盾せる現象の如くであるが、尿の性状、組成が個人の生活条件、健康状態に鋭敏に支配され生体内物質代謝の様相を如実に反映すること及びクエン酸が Krebs cycle に関与する有機酸であること等を併せ考えると、興味ある事実といわねばならない。更に著者等は各種有機酸を摂取し、その尿に出現する性状及び組成の変化について摂取しない場合と比較検討し、ここに認められる両者の差異をクエン酸その他有機酸の生体内物質代謝に及ぼした影響であると考え、それらの実験的結果より生体内における Krebs cycle 説にもとづいた考察を行つた。

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

- 1) H. A. Krebs, W. A. Johnson: *Enzymologia* **4**, 148(1937).
- 2) H. A. Krebs: *J. Biol. Chem.* **34**, 775(1940).
- 3) S. Sokin, R. Levin: "Carbohydrate Metabolism," 54(1946).
- 4) J. V. Taggart, R. B. Krakaur: *J. Biol. Chem.* **177**, 641(1948).
- 5) J. L. Still, M. V. Buell, W. E. Knox, D. E. Green: *J. Biol. Chem.* **179**, 831(1949).
- 6) A. L. Graffin, D. E. Green: *J. Biol. Chem.* **176**, 951(1948).
- 7) H. A. Krebs, L. V. Eggleston: *C. A.* **42**, 5101(1948).
- 8) H. A. Lardy, C. A. Elvehjem: *Ann. Rev. Biochem.* **14**, 1(1945).

実験方法

採 尿 著者等は自身の健康時に一般的な生活条件を一定に保つため運動及び労働を禁じ生活環境の同一化をはかり、その変動を可及的最小限に止めた。更に食餌条件を一定にするため通常市販に供されている“うどん”^{*} 600 g を昼食時に摂取してこれを対照とし、実験においては“うどん”摂取直後にクエン酸等有機酸を水溶液として飲用し、この間に飲用する水分は 200 cc に限定。摂取後直ちに排尿し、可及的安静を保ちつつ以後 1 時間毎に採尿、検体とした。今回は主として 2 時間後の尿を実験に供したが、尿量は大体 100~150 cc で著しい量的変動はなく、すべて尿特有臭があり、澄明な帯黄色を呈し濁濁その他の異常を認めず。

尿の比重及び pH 値の測定 尿の比重は 15° における比重を尿比重計を用いて測定。実験尿は何れも比重 1.010~1.020 の間を示した。尿 pH 値は比重の測定と同時に東洋沔紙製 pH 試験紙及びガラス電極 pH 計の両者を併用。

尿中乳酸の定量 尿を Warkany⁹⁾ 法で前処理後、Friedeman^{10,11)} 法により乳酸を測定。尿 25 cc をとり 20% 燐タングステン酸ソーダ溶液 45 cc、25% 硫酸 5 cc を加え暫時放置後遠心分離して上澄液 60 cc をとる。これに水酸化カルシウム 5 g を加え、更に 10% 硫酸銅溶液を 75 cc となるまで加えてよく攪拌、1 時間放置。遠心分離、上澄液 50 cc をとりその 10 cc につき乳酸を定量。この検液 10 cc に硫酸・硫酸マンガン溶液 (10 N 硫酸中に硫酸マンガン 10% を含有) 10 cc を加えて直火で加熱沸騰、0.01 N KMnO_4 を滴下しつつ乳酸の酸化により生じた CH_3CHO を蒸留、受器に 1% 酸性亜硫酸ソーダ溶液 10 cc を入れ留出する CH_3CHO を吸収固定。反応液が KMnO_4 溶液を脱色しなくなれば、5 分間煮沸して蒸留を完了。受器中の過剰の酸性亜硫酸ソーダは澱粉溶液を指示薬として 0.1 N ヨード溶液で微藍色を呈するまで滴下して除き、更に重炭酸ソーダ飽和溶液 10 cc を加えてアルデヒド・酸性亜硫酸ソーダ附加物を分離し、ここに生じた酸性亜硫酸ソーダ 0.01 N をヨード溶液で滴定。0.01 N ヨード溶液 1 cc は 0.45 mg 乳酸に相当。

Table I. pH Value of Urine

	hr. 0	0.5	1	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5
N 600 g	6.00	6.00	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80
N 600 g+ NaHCO_3 5 g	6.20	6.40	6.60	6.80	7.00	7.00	6.60	6.60	6.40	6.20
N 600 g+Citric acid 2 g	6.00	6.00	6.20	6.20	6.40	6.20	6.20	6.00	6.00	
N 600 g+Citric acid 5 g	6.00	6.00	6.20	6.20	6.40	6.20	6.20	6.00	6.00	
N 600 g+Citric acid 5 g + NaHCO_3 2 g	6.20	6.40	6.60	6.80	7.00	6.80	6.60	6.40	6.20	
N 600 g+Acetic acid 2 g	6.00	6.20	6.40	6.60	6.80	6.60	6.40	6.20	6.00	
N 600 g+50% Lactic acid 2g	5.80	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	5.80	5.80	
N 600 g+Tartaric acid 4 g	6.00	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	

N: Noodles

Fig. 1. pH Value of Urine

1. N 600 g
2. N 600 g+ NaHCO_3
3. N 600 g+Citric acid 2 g
4. N 600 g+Citric acid 5 g
5. N 600 g+Citric acid 5 g+ NaHCO_3 2 g
6. N 600 g+Acetic acid 2 g
7. N 600 g+50% Lactic acid 2 g
8. N 600 g+Tartaric acid 4 g

実験結果

尿 pH 値の時間的变化 “うどん” 600 g 摂取を対照とし、これと同時に重炭酸ソーダ 5 g、クエン酸 2 g、

* “うどん” 100 g の一般成分は、水分 72.0 g、蛋白質 3.2 g、脂質 0.1 g、糖質 24.3 g、繊維質 0.2 g、灰分 0.2 g、カルシウム 5 mg、燐 61 mg、鉄 3 mg、ビタミン A 不含、ビタミン B_1 0.08 mg、ビタミン B_2 0.02 mg、ビタミン C 不含である。

9) Warkany: Biochem. Z. **184**, 474(1927).

10) E. Friedeman, M. Cotonio: J. Biol. Chem. **73**, 335(1927).

11) E. Friedeman, A. Kendal: J. Biol. Chem. **82**, 23(1929).

クエン酸 5 g, クエン酸 5 g+重炭酸ソーダ 2 g, 酢酸 2 g (クエン酸 5 g に対する酢酸の mol 比), 50%乳酸 2 g 及び酒石酸 4 g を摂取した各場合の摂取直後より 4 時間後に至るまで 30 分毎に採尿しその pH 値を測定. 各例何れも 3 回ずつ実験を行いその平均結果を Table I, Fig. 1 に示した.

尿中乳酸量の時間的变化: “うどん” 600 g 摂取を対照とし, これと同時にクエン酸 5 g+重炭酸ソーダ 2 g 及び酢酸 2 g+重炭酸ソーダ 1 g を摂取した各場合の尿について, 1, 2, 3 時間後の 3 回にわたり乳酸量を定量 (Table II, Fig. 2).

Table II. Lactic Acid Contents in Urine Excreted after a Lapse of 1, 2, and 3 hrs.

Urine		Total urine (cc.)	Specific gravity	pH	Lactic acid (mg./100 cc.)		Mean value
Time							
N 600 g	1 hr.	130	1.020	5.80	8.41 8.56	8.50	8.52
	2 hrs.	120	1.020	6.00	9.31 9.49	9.56	9.42
	3 hrs.	110	1.020	6.00	9.39 9.24	9.18	9.27
N 600 g	1 hr.	110	1.015	6.40	3.22 3.25	3.40	3.29
Citric acid 5 g	2 hrs.	100	1.015	7.00	2.49 2.45	2.38	2.44
NaHCO ₃ 2 g	3 hrs.	110	1.015	6.80	2.80 2.72	2.69	2.73
N 600 g	1 hr.	120	1.018	6.60	3.95 3.78	3.91	3.88
Acetic acid 2 g	2 hrs.	110	1.015	7.00	2.58 2.60	2.53	2.57
NaHCO ₃ 1 g	3 hrs.	120	1.015	6.80	3.12 3.21	3.06	3.13
N : Noodles							

N : Noodles

Fig. 2.

Lactic Acid Contents in Urine Excreted after the Lapse of 1, 2 and 3 hrs.

1. N 600 g
2. N 600 g + Citric acid 5 g + NaHCO₃ 2 g
3. N 600 g + Acetic acid 2 g + NaHCO₃ 1 g

2 時間後における尿中乳酸量 “うどん” 600 g 摂取を対照とし, これと同時に重炭酸ソーダ 3 g, クエン酸 3 g, クエン酸 2 g+重炭酸ソーダ 2 g, クエン酸 5 g+重炭酸ソーダ 2 g, 酢酸 2 g, 50%乳酸 2 g, 50%乳酸 4 g+重炭酸ソーダ 1 g 及び酒石酸 4 g+重炭酸ソーダ 2 g を摂取した各場合について摂取後 1 時間に 1 回排尿し, 2 時間後に採尿してその乳酸量を定量 (Table III, Fig. 3).

Table III. Lactic Acid Contents in Urine Excreted after the Lapse of 2 hrs.

	pH	Specific gravity	Lactic acid mg./100 cc. urine	Mean value
N 600 g	6.00~6.20		10.10	10.25
			10.15	
			10.50	
N 600 g + NaHCO ₃ 3 g	6.80~7.00	1.012~1.015	8.00	7.68
			7.70	
			7.34	

N 600 g+Citric acid 3 g	6.40~6.60	1.015	3.94 3.76 3.63	3.77
N 600g+Citric acid 2 g +NaHCO ₃ 2 g	6.80	1.018~1.020	3.64 4.25 4.60	4.26
N 600 g+Citric acid 5 g +NaHCO ₃ 2 g	7.00	1.013~1.018	2.28 2.50 2.35 2.19	2.33
N 600 g+Acetic acid 2 g	6.80~7.00	1.012~1.015	2.66 2.41 2.67	2.60
N 600 g+50% Lactic acid 2 g	6.00~6.20	1.015	4.94 5.39	5.16
N 600 g+50% Lactic acid 4 g +NaHCO ₃ 1 g	6.40~6.60	1.010~1.015	6.58 6.39 6.11	6.36
N 600 g+Tartaric acid 4 g +NaHCO ₃ 2 g	6.40	1.018~1.020	5.26 4.91 5.13	5.10

N : Noodles

Fig. 3. Lactic Acid Contents in Urine Excreted after the Lapse of 2 hrs.

1. N 600 g
2. N 600 g+NaHCO₃ 3 g
3. N 600 g+Citric acid 3 g
4. N 600 g+Citric acid 2 g+NaHCO₃
5. N 600 g+Citric acid 5 g+NaHCO₃
6. N 600 g+Acetic acid 2 g
7. N 600 g+50% Lactic acid 2 g
8. N 600 g+50% Lactic acid 4 g+NaHCO₃ 1 g
9. N 600 g+Tartaric acid 4g+NaHCO₃ 2 g

考 察 尿 pH 値の時間的变化は重炭酸ソーダ 5 g, クエン酸 2 g+重炭酸ソーダ 2 g, 酢酸 2 g を摂取した場合に直線的に上昇し, 摂取後 2 時間で pH 6.8~7.0 の最高値を示し, 以後再び直線的に下降する. クエン酸 2 g 及び 5 g の場合は 1.5 時間より 3 時間にかけて pH 6.4~6.5 を保ち以後下降する. 乳酸及び酒石酸の場合は対照と同様に変化を認めない. クエン酸又は酢酸による尿 pH 値の上昇は, “うどん,” 摂取直後のみならず食間にこれを摂取しても認められること, 重炭酸ソーダを摂取しない場合でも認められること及び “うどん” が非常に消化され易い食品であること等を考慮すれば, 単に食品摂取後の胃液分泌によるいわゆる alkaline tide に由来するものとは考えられない. 尿中乳酸量の時間的变化は, 対照が 2 時間後に 10 mg/100 cc に達するに対しクエン酸又は酢酸を摂取すれば pH 値の上昇と共に 4 mg/100 cc 以下に減少する. このように摂取後 2 時間において尿中乳酸量が減少するものであれば, 如何なる酸による場合が最も減少率が高いかを検討したがクエン酸 5 g 又は酢酸 2 g の摂取が最も著明で乳酸及び酒石酸でも尿中乳酸の減少は認められるがクエン酸又は酢酸に及ばない. クエン酸又は酢酸の摂取により尿 pH 値が上昇するので, 重炭酸ソーダ摂取による尿 pH 値上昇の場合について尿中乳酸量を定量したが著明な減少は見られない. 著者等は このクエン酸又は酢酸を同一条件下に摂取した場合に見られる尿 pH 値の上昇及び乳酸量の減少等の現象を次のように考察した. クエン酸は直接 Krebs cycle に関与する有機酸として cycle の反応系内入り, また酢酸はこれと可逆的に移動する “active acetyl” 即ち acetyl coenzyme A の生成を経てピルビン酸とオキサロ酢酸からクエン酸への縮合反応の賦活により順次 Krebs cycle の反応系内に入り, この両者によつて遂にはオキサロ酢酸の生成を増し再びこれがピルビン酸と縮合するに至る. これを循環することによりピルビン酸の酸化がより円滑に行われ, その結果としてピルビン酸から乳酸の生成量が減少し, 従つて尿中乳酸排泄の減少, 更に尿中酸性物質の減少による pH 値の上昇となつたものであろう. このようにクエン酸又は酢酸の摂取により Krebs cycle に影響を与えた結果であると

考えれば, これらの現象を合理的に説明することができる. Ochoa^{12,13)} は既にピルビン酸とオキザロ酢酸の縮合によるクエン酸の生成に acetyl coenzyme A の存在が必要であることを報告し, また Lipmann¹⁴⁾ は実際にこの縮合反応に cocarboxylase 及び coenzyme A の関与を証明した. この “active acetyl” を以て示される acetyl coenzyme A 結合体の発見により, これを経て酢酸 2 分子が縮合してコハク酸となる Krebs cycle の新経路もその実在が確定的と考えられるに至った. これらより著者等の摂取した酢酸は “active acetyl” を経てコハク酸となり, 遂にはオキサロ酢酸を生成し, ピルビン酸の酸化に利用されたとも考えられる. このようにクエン酸又は酢酸の摂取が, 生体内の Krebs cycle に影響を与え, 生体内物質代謝に利するところがあつたと考えれば, 当初に記した潜水艦乗員とクエン酸添加味噌との関係も極めて妥当なことと思われる. また酒石酸及び乳酸の摂取によつても尿中乳酸量に若干の減少が見られるが, これはクエン酸又は酢酸の摂取の場合と異なり恐らく酒石酸及び乳酸が生体内で分解された結果生ずる物質の二次的な影響によるものであろうと推察している.

結 論 著者等はクエン酸等二, 三の有機酸を摂取することにより生体内物質代謝に何等かの影響を与えるのではないかと考え, 各種の有機酸を摂取して人体実験を行い尿に現われる諸変化を追求した. “うどん” を摂取して実験した結果, クエン酸又は酢酸の摂取により尿 pH 値が上昇することを発見し, その pH 値が 2 時間後に最も上昇すること及び同時に尿中乳酸量が著しく減少する傾向が認められ, 酒石酸及び乳酸の摂取ではこれらの傾向がクエン酸又は酢酸の場合に及ばない. これらの結果より, クエン酸又は酢酸の摂取によりそれぞれ体内の Krebs cycle の進行に影響を与え, ピルビン酸の酸化がより円滑に行われ, ピルビン酸より乳酸生成の減少従つて尿中乳酸排泄の減少, 更に尿中酸性物質の減少による pH 値の上昇が起ると考えた.

東京大学医学部薬学科

12) J. R. Stern, S. Ochoa: J. Biol. Chem. **179**, 491(1949).

13) J. R. Stern, B. Shapiro, S. Ochoa: Nature **116**, 403(1950).

14) G. D. Novelli, F. Lipmann: J. Biol. Chem. **182**, 213(1950).