

*Uit het laboratorium voor Tandheelkunde der R. U. Groningen*

## Natrium- en Kalium-gehalte van het speeksel bepaald door middel van quantitative Vlamspectroscopie

*door J. N. Tekenbroek en M. G. Woldring*

Een methode wordt besproken om op snelle wijze, geschikt voor serieonderzoek, het kalium- en natrium-gehalte van het speeksel te bepalen. Inclusief de monstername kan daarmee binnen een kwartier het Na- en K-gehalte van het speeksel bepaald worden.

Aangegeven wordt een wijze, waarop zich een monster zuiver parotis-speeksel laat nemen.

Vastgesteld werd o.a., dat door de parotis een zeer natrium-arm speeksel afgescheiden kan worden.

### *Tandcaries*

De tandcaries is te beschouwen als een bacteriële corrosie van het harde tandweefsel, waarbij men in het midden kan laten welke bacteriën bij het eerste ontstaan van caries de hoofdrol spelen en of daarbij de glycolytische dan wel de proteolytische processen op de voorgrond staan.

Er bestaan verschillen in de fijnere histologische bouw en de gaardheid van de minerale en de organische bestanddelen van de tandweefsels, waardoor een verschil in vatbaarheid voor tandcaries tussen individuen te verklaren zou zijn, maar zeker niet in alle gevallen.

Bij het nuttigen van hetzelfde diëet ontstaat in de ene mond een bacterieflora die caries tot gevolg heeft, en in een andere mond een flora die de gebits-elementen niet aantast. Men heeft waargenomen dat een koolhydraatrijk diëet dikwijls een toename van het aantal

zuurvormende bacteriën en een toename van de tandcaries tot gevolg heeft. In de gevallen echter waar dit niet geschiedt en zich een geringere vatbaarheid voor caries demonstreert, kan deze niet verklaard worden door de bovengenoemde verschillen in de samenstelling en histologische bouw der gebitselementen.

Hier moet aan een milieufactor gedacht worden en het is een communis opinio dat de speekselsamenstelling invloed heeft op het ontstaan van tandcaries.

### *Speeksel-onderzoek*

Meerdere onderzoekers hebben getracht een relatie te vinden tussen de tandcaries en de speekselsamenstelling, waarbij voornamelijk het calciumgehalte, het fosfaatgehalte en de pH van het speeksel het onderwerp van onderzoek waren; in de laatste jaren trekken ook de enzymen in het speeksel nadere aandacht. Een goede literatuuropgave omtrent deze onderzoekingen treft men bij *Schmidt-Nielsen*<sup>1)</sup>.

De physiologische handboeken behandelen het speeksel als de eerste in de rij der spijsverteringssappen. Daarbij wordt dan opgemerkt, dat de gl. parotis een zuiver sereus, de gl. sublingualis en submandibularis een gemengd speeksel afscheiden, terwijl de verspreid liggende glandulae labiales, buccales, linguales en palatinae zuiver muceuse kliertjes zijn. Er wordt dan verder gewezen op enkele in het speeksel voorkomende fermenten (o.a. koolhydraatsplitsende) en vermeld wordt als voornaamste taak van het speeksel, het voor doorslikken helpen gereed maken van de spijsbrok. Soms vindt men ook nog vermeld, dat de geardheid van het voedsel invloed heeft op het speeksel. Een in de mond droog en zanderig aanvoelend voedsel prikkelt b.v. tot afscheiding van een dun vloeibaar sereus speeksel, terwijl het eveneens bekend is, dat de smaakprikkel (zoet, zuur, bitter, wrang enz.) de samenstelling, hoeveelheid en de eigenschappen van het speeksel beïnvloeden. De innervatie van de speekselklieren is dan ook ingewikkeld en geschiedt zowel door hersen- als door sympathische zenuwen, die respectievelijk de toevoerende bloedvaten dilateren en contraheren; voor de dagproductie aan speeksel worden waarden opgegeven variërende tussen 1000 en 1500 c.c.

Bij het bepalen van gegevens omtrent het speeksel blijkt, dat deze bij eenzelfde individu weinig constant zijn en zelfs in de loop van de dag sterk kunnen uiteenlopen. Dit wordt niet alleen veroor-

zaakt door het feit, dat de speekselsamenstelling van vele factoren afhangt; het nemen van een kenmerkend speekselmonster namelijk stuit op grote moeilijkheden. Het afzonderlijk opvangen van de afscheidingen uit de verschillende speekselklieren is lastig en het vaststellen van de hoeveelheden, die uit de verschillende speekselbronnen in het totale speeksel terechtkomen, is practisch onmogelijk.

De meeste analytische bepalingen van zowel de anorganische als de organische bestanddelen van het speeksel zijn moeilijk en tijdrovend, de physiologie van de spijsvertering kent geen problemen, waarvan zij de oplossing verwacht door een nadere kennis omtrent de speekselsamenstelling en de huidige kennis van de caries-aetiologie stelt nog niet in staat goed geformuleerde problemen voor het speekselonderzoek op te stellen. Tezamen moedigen deze feiten het verrichten van speekselonderzoekingen niet aan.

Als men zich bij deze stand van zaken met een onderzoek op het nog betrekkelijk weinig betreden terrein van het speekselonderzoek begeeft, dan is een eerste noodzaak, dat men zich in de opzet beperkt, terwijl men er zich van bewust kan zijn, dat het praktische nut van het onderzoek niet direct aanwijsbaar kan zijn.

#### *Minerale bestanddelen van het speeksel*

Omtrent de hoeveelheid der minerale bestanddelen van het gemengde speeksel, geeft de literatuur uiteenlopende opgaven. In tabel I zijn de hoeveelheden naast elkaar gesteld, welke men aangegeven vindt bij Shohl <sup>2)</sup>, Clark en Shell <sup>3)</sup> en bij Badkin <sup>4)</sup>, en tevens ter vergelijking de minerale samenstelling van bloedserum.

TABEL I  
*Minerale bestanddelen van speeksel en bloedserum*

	Shohl		Badkin en Clark-Shell		Serum	
	mgr. %	m.Mol.	mgr. %	m.Mol.	mgr. %	m.Mol.
Na <sup>+</sup>	20	9	18,9	8	335	145
K <sup>+</sup>	100	25,8	63,4	16,3	20	5
Ca <sup>++</sup>	6	3	7,2	3,6	10	5
Mg <sup>++</sup>	2	2	0,7	0,7	2,7	2,2
Cl <sup>-</sup>	40	10	50	14	365	103
P <sup>-</sup>	18	10	15,5	5	15	5
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	10—15	37	7,6	27	29
CNS <sup>-</sup>			10	1,8		
Proteïne					17	19

Uit deze cijfers blijkt in de eerste plaats dat het speeksel sterk hypotonisch is t.o.v. het serum. De molariteit van de kationen en anionen bedraagt bij het speeksel ongeveer 40 m.Mol., bij het serum ongeveer 150 m.Mol. Verder valt het verschil tussen het Na- en K-gehalte van speeksel en serum op; in serum overheerst het natriumgehalte, in speeksel het kaliumgehalte. Omtrent de mogelijke betekenis van het hoge kaliumgehalte in speeksel treft men in de literatuur geen nadere beschouwingen. Het natrium is een onontbeerlijk element voor de glycolyse; de enzymsystemen die bij de koolhydraatafbraak een rol spelen, hebben natrium nodig om werkzaam te kunnen zijn. Zoals hieronder wordt medegedeeld, werd gevonden, dat in sommige gevallen een zeer laag Na-gehalte van het speeksel, 8 mgr./100 cc., voorkomt, en men kan zich afvragen of daardoor de koolhydraatafbraak in de mond, en daarmee mogelijk de caries, geremd kan worden. Of zou de natuur er rekening mede weten te houden, dat de smaak de mens ertoe brengt om, bij het nuttigen van de als regel flauwsmakende koolhydraten, steeds natrium in de vorm van zout aan dit voedsel toe te voegen.?

Nadere gegevens omtrent het Na- en K-gehalte van het speeksel vindt men bij *Brown en Klotz*<sup>5)</sup>. De aan dit onderzoek ontleende cijfers, tabel II, geven een indruk van de schommelingen, die er in het natrium- en kaliumgehalte voorkomen.

TABEL II

*Natrium- en kalium-gehalte van het gemengde speeksel bij achttien proefpersonen (Brown en Klotz)*

Proefpersoon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Natrium mgr. %	83,3	131,1	81,7	23,3	55,6	88,3	69,9	118,2	72,0
Kalium mgr. %	78,9	93,0	90,2	93,2	57,2	75,5	74,1	71,0	69,4
Proefpersoon	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Natrium mgr. %	65,3	17,1	86,4	25,3	40,0	36,9	16,5	18,5	29,4
Kalium mgr. %	76,1	86,8	115,0	85,6	91,3	93,0	75,0	93,0	75,3

*Natrium en kalium bepalingen in speeksel*

Het quantitatief naast elkaar bepalen van natrium en kalium,

zowel langs gravimetrische als langs volumetrische weg, is een moeilijke en tijdrovende analytische opdracht. Hierdoor wordt het op wat ruimere schaal verrichten van deze analyses bij het speekselonderzoek ernstig belemmerd en weinige onderzoekers hebben zich daartoe dan ook aangetrokken gevoeld.

Het lag voor de hand te trachten om het bepalen van natrium en kalium met behulp van vlamfotometrie dienstbaar te maken aan het speekselonderzoek.

### *Vlamfotometrie*

De vlamfotometrie is even voor en gedurende de laatste wereldoorlog als quantitatief analytische methode verder tot ontwikkeling gebracht. <sup>6)</sup>

Voor de landbouwchemie <sup>7)</sup>, die voor de taak staat in grondmonsters, meststoffen en agrarische producten talrijke Na- en K-bepalingen in serie te moeten uitvoeren, heeft aan de ontwikkeling der vlamfotometrie voor de bepaling van deze beide chemische elementen veel bijgedragen. Ook op ander biologisch terrein gaat deze methode nuttige toepassing vinden o.a. voor het bepalen van de minerale samenstelling van bloed <sup>8)</sup>. Door de storingen die kalium en natrium wederzijds op elkaar en die de, in de te onderzoeken stoffen mede aanwezige andere elementen op de vlamfotometrische Na- en K-bepalingen kunnen uitoefenen, is het noodzakelijk, voor ieder orgaan, weefsel, lichaamsvloeistof, kortom voor ieder biologisch materiaal, waarvan men het Na- en K-gehalte bepalen wil, het toepassen van deze methode afzonderlijk na te gaan.

Voor de minder chemisch georiënteerde lezer volgt hieronder eerst een korte uiteenzetting over het principe der vlamfotometrie.

Algemeen bekend is het verschijnsel, dat als men in een vlam, b.v. van een Bunsenbrander, een weinig van een natriumverbinding brengt, de vlam zich geel kleurt. De hitte van de vlam ontleedt de natriumverbinding in zijn elementen en het vrij gekomen natriumatoom wordt in het heetste gedeelte van de vlam „aangeslagen”. Daarbij wordt door de toegevoerde warmte-energie het buitenste electron van het natrium uit zijn evenwichtstoestand naar een baan gebracht van een hoger energieniveau. Buiten de zone van de vlam, waarin de hoogste temperatuur heerst, keert het aangeslagen electron naar zijn evenwichtstoestand terug. De opgenomen warmte-energie wordt daarbij weer afgestaan en wel in de vorm van een

straling. De frequentie van deze straling en daarmee, ten minste als die frequentie binnen de grenzen van het zichtbare spectrum valt, de kleur van het licht dat uitgestraald wordt, is bij ieder chemisch element verschillend en kenmerkend voor dat element. De bekende gele kleur, die het element natrium, in de vlam gebracht, uitzendt, heeft een golflengte van 5890/5896 Ångström. Kalium b.v. heeft een sterke spectraallijn, die meer in het rode deel van het spectrum gelegen is (golflengte 7665/7699 Ångström). Hoe meer er van een bepaald element in een vlam gebracht wordt, des te groter is de intensiteit van de kenmerkende kleur van het beschouwde element in de vlam. In deze intensiteit heeft men een maat voor de aanwezige hoeveelheid van het element. Voor het meten van deze intensiteit laat men het door de vlam uitgezonden licht gaan door selectieve kleurfilters, die zo gekozen worden, dat zij alleen het licht doorlaten van de golflengte, welke kenmerkend is voor het te bepalen chemische element. Voor de natriumbepaling zal men een kleurfilter gebruiken, dat alleen licht doorlaat met een golflengte van 5890/5896 Ångström, de golflengte van het gele natriumlicht. De intensiteit van het door de kleurfilters doorgelaten licht meet men met behulp van een fotocel; de sterkte van de daarin opgewekte foto-electrische stroom wordt met een galvanometer bepaald. De vloeistof, waarvan men het gehalte aan een of ander element b.v. natrium of kalium wil bepalen, wordt verstoven en als een nevel door de aan de brander toe te voeren lucht naar de vlam gebracht. De afgelezen galvanometeruitslagen worden vergeleken met de uitslag van op dezelfde wijze verstoven standaardoplossingen met bekend natrium- en kaliumgehalte en door interpolatie vindt men dan de gezochte hoeveelheden van deze elementen in de onderzochte vloeistof.

#### *De gebruikte apparatuur en de opstelling*

Aangezien het hier een tot nog toe niet gevolgde methode bij het speekselonderzoek betreft, is een nadere omschrijving van de gevolgde werkwijze noodzakelijk. (De thans volgende uiteenzettingen over de gebruikte apparatuur en de verantwoording van de gevolgde werkwijze zullen zich mogelijk wat aan de aandacht van de minder chemisch georiënteerde lezer onttrekken).

Gebruikt werd een vlamfotometer volgens Dr. L a n g e, welk apparaat uitvoerig besproken is in de publicatie van R i e h m <sup>9)</sup>. Om het nuttige effect van de daarin aanwezige verstuiver te ver-

hogen, werd een metalen bolletje op enkele millimeters afstand van de verstuiver-opening aangebracht. In tegenstelling met de beschrijving van deze vlamfotometer in de oorspronkelijke publicatie van R i e h m, was een dergelijk bolletje in de geleverde verstuiver niet aanwezig. Door het wederom aanbrengen van dit hulpmiddel bij de verstuiving bevonden wij, dat de nevelvorming en daarmee de galvanometeruitslag ongeveer 20 % groter werd.

Het vloeistofverbruik van de verstuiver werd verminderd door het verlengen van de aanzuigcapillair met een roestvrij-stalen injectienaald, lang 5 cm, diameter 0,5 mm. De galvanometeruitslag verminderde daardoor wel, maar het bracht het voordeel, dat met een geringere hoeveelheid vloeistof, dus kleiner monster kon worden volstaan.

Tussen de verstuiver en de brander werd een wijdmondse stopfles van 250 ml. ingeschakeld, om de gelijkmatige menging van nevel en lucht te bevorderen, hetgeen de galvanometerinstelling rustiger maakte.

De perslucht werd verkregen uit een bombe en onder constante druk naar de verstuiver gevoerd, terwijl als verbrandingsgas het gewone stadsgas werd gebruikt. Het constant houden van de gasdruk werd door het inschakelen van twee rubberballons (strandballen) in de gasleiding naar de brander bereikt. De bij de bepalingen gebruikte gas- en luchtdruk bedroegen resp. 20 mm. water en 0,3 atm; de lengte der vlam was ongeveer 9 cm.

Voor de Na- en K-bepaling werd aan het gebruik van lichtgas de voorkeur gegeven boven acetyleen. Door de lagere temperatuur van de gasvlam wordt minder en zelfs praktisch geen storing ondervonden van het in het speeksel mede aanwezige calcium, waarvan de aanslagenergie te hoog ligt voor de temperatuur der gasvlam.

Voor de kaliumbepaling werd gebruikt het Schottse Rotfilter R.G. 8 (S c h o t t), voor de natriumbepaling een Lumetron nauwbandfilter M 589. (Het bij de vlamfotometer te leveren interferentie-filter F.V. 589 van de firma Schott was nog niet in ons bezit).

De in het toestel aanwezige seleencil heeft een diameter van 37,5 mm en als meetinstrument diende een Kipp galvanometer A 75, welk meetinstrument een rustiger instelling geeft dan de bij de vlamfotometer geleverde Multiplex-galvanometer, die minder gedempt is en daardoor de kleine schommelingen in de emissie van de vlam minder integreert.

### *Methode van bepalen en te bereiken nauwkeurigheid*

De speekselmonsters worden 1 : 10 met gedestilleerd water verdund, en als zij troebel zijn, hetgeen bij gemengd stimulatiespeeksel het geval kan zijn, worden de reeds verdunde monsters door een avrij filter gefiltreerd.

Voor een enkele Na- of K-bepaling is 3 cc. verdund speeksel nodig. Om de aflezingen in triplo te kunnen uitvoeren moet men over  $3 \times 2 \times 3 = 18$  cc. verdund speeksel beschikken. Een speekselmonster van 2,5 cc., dat tot 25 cc. wordt verdund, is voor beide bepalingen dus voldoende.

De voor de natriumbepaling gebruikte reeks van twaalf standaardoplossingen bevatten opklimmend met 1 mgr. van 1 tot en met 12 mgr. natrium per 100 cc. Rekening houdende met de speekselverdunding 1 : 10 komt de natriumschaal, omgerekend op onverdund speeksel, overeen met de volgende natriumhoeveelheden in het speeksel:

10-20-30-40-50-60-70-80-90-100-110 en 120 mgr. Na/100 cc.

Voor de kaliumbepaling werd, eveneens omgerekend op onverdund speeksel, de volgende reeks van standaardoplossingen gebruikt 50-55-60-65-70-75-80-85-90-95-100-105-110-115-120 mgr. K/100 cc.

Bij iedere natrium- en kaliumbepaling wordt het te onderzoeken, verdunde, speekselmonster verstoven tussen de twee meest nabij gelegen standaardoplossingen. Een monster, waarin b.v.  $\pm 53$  mgr. Na/100 cc. voorkomt, wordt verstoven tussen de standaardoplossingen met resp. 50 en 60 mgr. Na/100 cc., waarna door interpolatie het gezochte natriumgehalte gevonden wordt.

Een halve minuut na het begin van iedere verstuiving heeft zich het evenwicht in de vlam ingesteld en kan afgelezen worden. \*)

De goede reproduceerbaarheid en de grootte der afleesfouten van de aldus uitgevoerde natrium- en kaliumbepalingen komt tot uiting in tabel III. Van eenzelfde speekselmonster werd twaalfmaal zowel het natrium- als het kaliumgehalte bepaald.

### *Storing van Natrium en Kalium op elkaar*

Van belang was, na te gaan, in hoeverre natrium en kalium in de verhoudingen waarin zij in het speeksel kunnen voorkomen, elkaar

\*) Na enige ervaring met de bepaling en de wijze van aflezen te hebben opgedaan kan de vroeger aangegeven wijdmondse stopfles van 250 m.l. tussen de verstuiver en de brander eventueel verwijderd worden, waardoor de instelling zich reeds in enkele seconden voltrekt.



TABEL III  
Natriumbepaling

Na-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % Na	60 89	70 99	60 86 <sup>5</sup>	70 96 <sup>5</sup>	60 86 <sup>3</sup>	70 96 <sup>8</sup>	60 86 <sup>5</sup>	70 91 <sup>5</sup>
	93 <sup>5</sup> 64,5		91 <sup>5</sup> 64,0		90 <sup>5</sup> 64,0		90 <sup>4</sup> 63,9	
Na-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % Na	60 109	70 122	60 107	70 118 <sup>5</sup>	60 102 <sup>5</sup>	70 114 <sup>5</sup>	60 103	70 115
	115 64,6		112 <sup>5</sup> 65,0		108 <sup>3</sup> 64,9		109 65,0	
Na-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % Na	60 102	70 113 <sup>5</sup>	60 108	70 121	60 101	70 112	60 106	70 118 <sup>5</sup>
	117 <sup>3</sup> 64,8		114 64,6		106 <sup>5</sup> 65,0		111 <sup>7</sup> 64,8	

Gemiddeld 64,61 ± 0,36 mgr. % Na. Grootste afwijking 0,76 mgr. %

Kaliumbepaling

K-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % K	80 126 <sup>5</sup>	85 134	80 129	85 135	80 129 <sup>5</sup>	85 135 <sup>5</sup>	80 128 <sup>5</sup>	85 135 <sup>5</sup>
	129 81,7		130 80,8		131 81,3		130 <sup>5</sup> 81,4	
K-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % K	80 128	85 134 <sup>5</sup>	80 129	85 134 <sup>5</sup>	80 128 <sup>5</sup>	85 135	80 127 <sup>5</sup>	85 134 <sup>5</sup>
	130 81,5		130 81,0		130 81,2		130 81,8	
K-Stand. opl. galv. uitslag mgr. % K	80 129 <sup>5</sup>	85 135	80 127	85 134	80 128 <sup>5</sup>	85 135	80 128	85 135 <sup>5</sup>
	131 81,2		129 <sup>5</sup> 81,7		131 81,9		129 <sup>5</sup> 81,0	

Gemiddeld 81,33 ± 0,30 mgr. % K. Grootste afwijking 0,57 mgr. %

wederzijds storen bij de bepalingen en tevens of de andere, in het speeksel aanwezige bijmengsels, calcium, fosphaat en organische bestanddelen, de natrium- en kaliumbepalingen storen. In speeksel kunnen volgens de literatuur 20 tot 120 mgr. % natrium, 50 tot 120 mgr. % kalium voorkomen, terwijl daarnaast, met veel minder schommelingen, in het speeksel ten hoogste 7 mgr. % Ca, 18 mgr. % phosphor (als HPO<sub>4</sub>' en H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>') en 0,5 % organische stof (voornamelijk mucoproteïnen) aanwezig zijn.

Om de wederzijdse invloed van natrium en kalium na te gaan, werd aan de standaardoplossingen van de natrium- en kaliumschaal respectievelijk stijgende hoeveelheden kalium en natrium toege-

voegd, zodat alle verhoudingen waarin deze beide elementen naast elkaar voorkomen, in het speeksel, konden worden nagegaan. Tabel IV geeft de uitkomsten van deze proeven.

TABEL IV  
*Inloed van kalium op de natriumbepaling*

Stand, oplossing Na (mgr. %)	20	40	60	80	100	gem. verschil
Toegevoegd 60 mgr. % K	20,6	40,2	59,9	80,7	100,2	+ 0,32
„ 70 mgr. % K	20,7	40,5	60,6	80,7	100,2	+ 0,54
„ 80 mgr. % K	20,6	40,7	61,2	80,8	100,8	+ 0,82
„ 90 mgr. % K	20,6	40	61,1	81,2	100,9	+ 0,78
Gem. verschil in mgr. % Na	+ 0,62	+ 0,38	+ 0,70	+ 0,85	+ 0,52	+ 0,65

*Inloed van de natrium op kaliumbepaling*

Stand, oplossing K (mgr. %)	60	70	80	90	100	gem. verschil
Toegevoegd 20 mgr. % Na	58,8	69,5	78,8	89,0	99,5	— 0,88
„ 40 mgr. % Na	59,8	68,0	79,0	89,5	98,0	— 1,14
„ 60 mgr. % Na	59,2	69,0	78,5	89,0	100,0	— 0,86
„ 80 mgr. % Na	59,2	69,5	79,0	88,5	98,5	— 1,16
„ 100 mgr. % Na.	59,0	69,3	78,5	89,0	98,0	— 1,24
Gem. verschil in mgr. % K	— 0,80	— 0,94	— 1,24	— 1,00	— 1,20	— 1,06

De aanwezigheid van kalium in een hoeveelheid waarin het naast natrium in het speeksel aanwezig kan zijn, vermeerderd de uitkomst van de natriumbepaling met gemiddeld 0,63 mgr. Na per 100 cc. (berekend op onverdund speeksel). De storing is gelijkmatig; stijgende hoeveelheden kalium geven geen verhoging van de storing, die van praktische betekenis is. Als een juiste handelwijze drong zich op, om aan alle standaardoplossingen van de natriumschaal een hoeveelheid kalium toe te voegen en wel de gemiddelde hoeveelheid die in het speeksel te vinden is, zijnde 80 mgr. kalium per 100 cc onverdund speeksel.

Op zijn beurt stoort natrium de kaliumbepaling, waardoor gemiddeld 1,06 mgr. K per 100 cc. te weinig in het speeksel bepaald zou worden. Ook hier kan opgemerkt worden dat deze storing binnen de wisselingen, die het Na- en K-gehalte van het speeksel hebben, practisch gelijk mag worden aangenomen. Om dezelfde redenen als bij de natriumschaal, werd besloten om de geconstateerde storing zoveel mogelijk te elimineren door aan alle standaardoplossingen van de kaliumschaal een gemiddelde hoeveelheid natrium

toe te voegen en wel 50 mgr. Na per 100 cc. (berekend op onverdund speeksel).

Het ligt niet in het bestek van deze publicatie om theoretisch op de oorzaak van deze storingen en die van andere bijmengsels in te gaan. Opgemerkt zij slechts, dat het in de vlam bereikte evenwicht bij de dissociatie van de verbindingen kan worden verschoven, een deel van het uitgezonden licht kan door het andere element geabsorbeerd worden, in de kleurfilters kan een oorzaak gevonden worden, terwijl ook de verstuiving en daarmee de hoeveelheid nevel die in de vlam terecht komt, door een bijmengsel beïnvloed kan worden.

*Storing van Calcium, Phosphor en organisatorische bestanddelen op de bepalingen van Natrium en Kalium.*

Aangezien de hoeveelheden calcium, phosphor en de organische bestanddelen in het speeksel minder aan schommelingen onderhevig zijn en in deze praktisch als constant aangenomen mogen worden, kon, bij het nagaan van de mogelijke storingen dezer bijmengsels, volstaan worden met het toevoegen van een constante hoeveelheid van deze stoffen. Aan de standaardoplossingen van de kalium- en natriumschaal werden respectievelijk toegevoegd een hoeveelheid calcium, als  $\text{CaCl}_2$ , overeenkomende met 7 mgr. Ca in 100 cc. speeksel, phosphor, als sec. ammoniumphosfaat, overeenkomende met 18 mgr. P per 100 cc. speeksel en organische stof, in de vorm van 4 delen glucose en 1 deel glutaminezuur tezamen gelijk aan 0,5 % van het onverdunde speeksel. In de tabellen V (zie volgende bladzijde) zijn de uitkomsten verenigd van deze onderzoeken naar de storing van de genoemde stoffen op de natrium- en kaliumbepaling.

De gevonden storingen zijn over het algemeen niet groot, alleen de kaliumbepaling wordt door calcium in een wat grotere mate beïnvloed. Evenals bij het natrium en kalium werd ook hier de gedragslijn gevolgd om de storingen zoveel mogelijk te elimineren door aan alle standaardoplossingen respectievelijk toe te voegen (omgerekend op onverdund speeksel) 7 mgr. % Ca (als  $\text{CaCl}_2$ ), 18 mgr. % P (als sec. ammoniumphosfaat) en 0,5 % organische stof (als glucose).

*De verstuiwing*

Bij het verstuiwen van de te onderzoeken vloeistoffen en van de standaardoplossingen rijzen enkele vragen die een nadere beschouwing vereisen.

TABELLEN V

*Inloed van calcium op de natriumbepaling*

Stand.opl. Na mgr. % . . .	20	30	40	50	60	70	80	90	100
na toev. 7 mgr. % Ca <sup>1)</sup> . .	20,6	30,5	40,3	50,3	60,7	70,4	80,7	90,0	100,4
Vershil . . . . .	+0,6	+0,5	+0,3	+0,3	+0,7	+0,4	+0,7	0,0	+0,4
Gemiddeld . . . . .	+ 0,43 mgr. Na per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> Ca toegevoegd als CaCl<sub>2</sub>

*Inloed van calcium op de kaliumbepaling*

Stand.opl. K mgr. % . . .	60	65	70	75	80	85	90	95	100
na toev. 7 mgr. % Ca <sup>1)</sup> . .	59,6	64,2	68,2	73	78	83	88	92,5	98
Vershil . . . . .	-0,4	-0,8	-1,8	-2,0	-2,0	-2,0	-2,0	-2,5	-2,0
Gemiddeld . . . . .	- 1,72 mgr. kalium per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> Ca toegevoegd als CaCl<sub>2</sub>

*Inloed van phosphor op de natriumbepaling*

Stand.opl. Na mgr. % . . .	20	30	40	50	60	70	80	90	100
na toev. 18 mgr. % P <sup>1)</sup> . .	19,8	29,9	40,1	49,96	59,96	69,9	80,15	89,9	99,7
Vershil . . . . .	-0,2	-0,1	+0,1	-0,04	-0,04	-0,1	+0,15	-0,1	-0,3
Gemiddeld . . . . .	- 0,1 mgr. natrium per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> P toegevoegd als (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

*Inloed van phosphor op de kaliumbepaling*

Stand.opl. K mgr. % . . .	50	55	60	70	80	90	100	110	120
na toev. 18 mgr. % P <sup>1)</sup> . .	49,4	54,2	59,95	69,15	80	89,2	100	109,5	119,75
Vershil . . . . .	-0,6	-0,8	-0,05	-0,85	0	-0,8	0	-0,5	-0,25
Gemiddeld . . . . .	- 0,43 mgr. kalium per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> P toegevoegd als (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

*Inloed van organische stof op de natriumbepaling*

Stand.opl. Na mgr. % . . .	20	30	40	50	60	70	80	90	100
na toev. 0,5% org. stof <sup>1)</sup> . .	21,0	30,6	40,2	50,2	60,1	70,3	79,7	90,0	100,0
Vershil . . . . .	+1,0	+0,6	+0,2	+0,2	+0,1	+0,3	+0,3	0	0
Gemiddeld . . . . .	+ 0,23 mgr. natrium per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> 0,4% glucose en 0,1% glutaminezuur

*Inloed van organische stof op de kaliumbepaling*

Stand.opl. K mgr. % . . .	50	55	60	70	80	90	100	110	120
na toev. 0,5% org. stof <sup>1)</sup> . .	49,05	54,6	59,45	69,5	78,5	89,5	99	109	118,5
Vershil . . . . .	-0,95	-0,40	-0,55	-0,5	-1,5	-1,0	-1,0	-1,0	-1,5
Gemiddeld . . . . .	- 0,68 mgr. kalium per 100 cc. onverdund speeksel								

<sup>1)</sup> 0,4% glucose en 0,1% glutaminezuur

Kan het verschil in viscositeit en oppervlaktespanning tussen de te onderzoeken vloeistoffen en de standaardoplossingen de hoeveelheid vloeistof beïnvloeden, die als nevel in de vlam terecht komt? Indien dit het geval is, dan kan men zonder meer geen juiste uitkomsten verwachten.

Van een viertal proefpersonen, wier speeksel, klinisch beoordeeld wat betreft de viscositeit en „draderigheid”, sterk uiteenliep, werd de viscositeit en de oppervlaktespanning bepaald van het 1 : 10 verdunde speeksel. Ter vergelijking werden dezelfde gegevens bepaald van een tweetal standaardoplossingen. Bovendien werden de hoeveelheden, die de verstuiver per minuut van de verschillende vloeistoffen verbruikt, bepaald.

Tabel VI geeft de doorstroomtijden, bepaald met behulp van een Ostwald viscosimeter, en als maat voor de oppervlaktespanning het aantal druppels uit de Stalagmometer van Traube en Lebenev. De door terugweging gevonden hoeveelheid vloeistof, die door de verstuiver werd gebruikt, is tevens opgegeven.

Grote verschillen in viscositeit, in oppervlaktespanning en in de door de verstuiver gebruikte hoeveelheden vloeistof blijken er tussen de bij het speekselonderzoek betrokken vloeistoffen niet te bestaan.

TABEL VI

*Viscositeit, oppervlaktespanning en hoeveelheid verstoven vloeistof*

	Viscositeit *) (doorstroomtijd)			Oppervlaktespanning **) (aantal druppels)			Verstuiving gr. in 10 min.	
	temp.	tijd	gem.	temp.	druppels	gem.	gram.	gem.
Gedest. water	20	15'41''	15'31''	20	101,5	101,2	34,3	34,0
	20	15'22''		20	100,9		33,7	
Speeksel 1	20	16' 5''	16' 3''	20	101,8	101,6	33,3	33,6
	20	16' 1''		20	101,5		33,9	
Speeksel 2	20	15'32''	15'37''	20	100,0	99,6	33,7	33,7
	20	15'42''		20	99,2		33,8	
Speeksel 3	20	16'18''	16'34''	20	101,8	101,7	33,5	33,6
	20	16'50''		20	101,6		33,8	
Speeksel 4	20	15'47''	15'39''	20	102,0	101,6	33,5	33,7
	20	15'31''		20	101,1		33,9	
Standaard 50 mgr. K/100 cc.	20	16'45''	15'41	20	101,3	101,4	33,6	33,4
	20	15'36''		20	101,5		33,1	
Standaard 120 mgr. K/100 cc.	20	15'43''	15'35''	20	102,5	102,5	33,4	33,2
	20	15'28''		20	102,5		32,8	

\*) Viscosimeter van Ostwald.

\*\*) Stalagmometer van Traube c.s.

Moeilijker is het juist bepalen van de hoeveelheid der verstoven vloeistof, welke tenslotte als nevel in de vlam komt. De verstuiver gebruikt, zoals tabel VI hierboven aangeeft, ongeveer 3,35 cc. vloeistof per minuut. Een ruwe bepaling toonde aan, dat slechts 4% van deze aangezogen hoeveelheid als nevel in de vlam komt, de rest slaat tegen de wanden van het verstuivervat neer en vloeit af. \*) Het is denkbaar, dat de oppervlaktespanning de nevelvorming beïnvloedt en een verschil daarin tussen standaardoplossingen en te onderzoeken vloeistof zou de juistheid van de bepaling afbreuk doen. Alhoewel, zoals hierboven kon worden aangegeven, geen grote verschillen in oppervlaktespanning tussen de bij dit onderzoek betrokken vloeistoffen bestaan, werd ter nadere oriëntering de volgende proef genomen.

Van een willekeurige kaliumoplossing werd, naast het kaliumgehalte, de oppervlaktespanning met de stalagmometer van T r a u b e c.s. bepaald.

Vervolgens werden aan 50 cc. van deze oplossing ter verlaging van de oppervlaktespanning respectievelijk 1, 3 en 5 druppels van een de oppervlaktespanning verlagende stof (Desogeen) toegevoegd. Tabel VII geeft de uitkomsten van deze proef.

TABEL VII  
*Invloed van de oppervlaktespanning op de kaliumbepaling*

	Oppervlaktespanning (stalagmometer van T r a u b e c.s.)			Kaliumgehalte in mgr./100 cc onverdund	
	temp.	druppels	gem.	duplo	gem.
Kaliumoplossing	20	101,2	101,2	80,9	80,5
	20	101,1		80,2	
Kaliumoplossing + 1 druppel Desogeen	20	126,5	126,2	80,9	80,9
	20	125,8		80,9	
Kaliumoplossing + 3 druppels Desogeen	20	157,2	157,7	81,2	80,8
	20	158,2		80,4	
Kaliumoplossing + 5 druppels Desogeen	20	176,5	172,3	80,5	80,5
	20	178,0		80,4	

Een vrij aanzienlijk verschil in oppervlaktespanning, veel groter

\*) Het exact bepalen van het rendement der verstuiving stuit op vele moeilijkheden. Bij onze pogingen om met zelf gemaakte verstuivers het rendement der verstuiving op te voeren, werd de indruk verkregen dat bij het stijgen van dit rendement de verstuiving gevoeliger wordt voor verschillen in de samenstelling tussen de standaardoplossingen en de te onderzoeken oplossingen.

althans dan bij dit onderzoek voorkomt, beïnvloedt, feitelijk tegen de verwachting in, de juistheid van de bepaling niet. (Vermeldenswaard is de volgende ervaring. Voor het schimmelvrij houden van de standaardoplossing werd getracht dit door het toevoegen van wat thymol te bereiken. Zowel de natrium- als de kaliumbepaling werden hierdoor beïnvloed en ongeveer 2 à 3 mgr./100 cc. lager. Het thymol was volkomen vrij van natrium en kalium; de aanwezigheid van thymol in de standaardoplossingen beïnvloedt waarschijnlijk op de een of andere wijze de nevelvorming. De verstuiving en de nevelvorming bieden tal van problemen voor de vlamfotometrie in het algemeen, die zeker een nader onderzoek waard zouden zijn. \*) Voor het conserveren der standaardoplossingen wordt thans sublimaat in een concentratie van 1/20.000 gebruikt, nadat nagegaan was, dat deze toevoeging de natrium- en kaliumbepaling niet beïnvloedt).

#### *Extra toevoeging van Natrium en Kalium*

Teneinde vast te stellen met welke absolute juistheid de natrium- en kaliumbepalingen in speeksel volgens deze methode uitgevoerd kunnen worden, werd de volgende reeks van proeven genomen.

80 cc. van de standaardoplossing, die overeenkomt met 75 mgr. K per 100 cc. onverdund speeksel, werden met 20 cc. gedest. water verdund tot 100 cc. De aldus verkregen oplossing komt dus overeen met  $\frac{80}{100} \times 75 = 60$  mgr. K/100 cc. onverdund speeksel.

Een andere 80 cc. van dezelfde kaliumstandaardoplossing werd tot 100 cc. verdund met 20 cc. van een kaliumoplossing, die per 10 cc. 1 mgr. kalium bevat. Aan de hier verkregen 100 cc. oplossing was dus een absolute hoeveelheid van 2 mgr. kalium toegevoegd, of, rekening houdende met de verdunning 1 : 10 en wederom uitgedrukt in betrekking tot onverdund speeksel,  $10 \times 2 = 20$  mgr. K/100 cc. Op dezelfde wijze werd met een speekselmonster gehandeld, waarvan dus twee verdunningen gemaakt werden, één met zuiver gedest. water en één met een Kaliumoplossing, die 1 mgr. K per 10 cc bevat.

\*) Na het afsluiten van het thans gepubliceerde deel van dit onderzoek werd de beschikking gekregen over een interferentiefilter voor Lithium. Dit stelde in staat om met behulp van een inwendige Lithium-standaard verschillen in de verstuiving tussen de standaardoplossingen en de te onderzoeken oplossingen in cijfers vast te stellen. Indien dergelijke verschillen zich voordoen kunnen de uitkomsten van de Na- en K-bepalingen in overeenstemming daarmee gecorrigeerd worden. In een volgende publicatie wordt hierop terug gekomen.

Nagegaan werd hoeveel van deze extra toegevoegde 20 mgr. kalium met behulp van de hier geschetste methode van kaliumbepaling werd teruggevonden. Voor het nagaan van de betrouwbaarheid der natriumbepaling werd op analoge wijze gehandeld. Hier werd 20 mgr. Na/100 cc. (berekend op onverdund speeksel) respectievelijk aan een natriumstandaardoplossing van bekende samenstelling en aan een speekselmonster toegevoegd, om wederom vlamfotometrisch te kunnen bepalen hoeveel van het extra toegevoegde natrium wordt teruggevonden.

Bij deze proeven werden de verdunningen in triplo gemaakt en de bepalingen in duplo uitgevoerd. Het hierbij gevonden cijfermateriaal, dat in extenso in de tabellen VIII wordt vermeld, wijst

#### TABELLEN VIII

##### A. *Natrium, toegevoegd aan natriumstandaardoplossing*

Oplossing Ia, Ib en Ic zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. Na-standaardoplossing 64 mgr. Na/100 cc. met 10 cc. ged. water.

Zij bevatten (betrokken op onverdund speeksel) 51,2 mgr. Na/100 cc.

Oplossing IIa, IIb en IIc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. Na-standaardoplossing 64 mgr. Na/100 cc. met 10 cc. ged. water + 1 mgr. Na.

Zij bevatten (betrokken op onverdund speeksel) 71,2 mgr. Na/100 cc.

	duplo		gem.	Tot. gem.	
Oplossing Ia	51,7	52,3	52,0	51,7	<i>Toegevoegd</i> 71,2 — 51,2 = 20,0 mgr. Na/100 cc.
„ Ib	51,4	52,0	51,6		
„ Ic	51,3	51,9	51,6		
Oplossing IIa	71,3	71,6	71,4	71,4	<i>Teruggevonden</i> 71,4 — 51,7 = 19,7 mgr. Na/100 cc.
„ IIb	71,2	71,4	71,3		
„ IIc	71,8	71,3	71,5		

##### B. *Natrium toegevoegd aan speekselmonster, 1 : 10 verdund*

Oplossing IIIa, IIIb en IIIc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. speekselmonster (1 : 10), met 10 cc. ged. water

Oplossing IVa, IVb en IVc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. speekselmonster (1 : 10), met 10 cc. gedest. water + 1 mgr. Na

Berekende toevoeging 20,0 mgr. Na/100 cc. (betrokken op onverdund speeksel)

	duplo		gem.	Tot. gem.	
Oplossing IIIa	76,2	76,9	76,5	77,1	<i>Toegevoegd</i> 20,0 mgr. Na/100 cc.
„ IIIb	77,4	77,4	77,4		
„ IIIc	77,4	77,1	77,3		
Oplossing IVa	97,4	97,4	97,4	97,4	<i>Teruggevonden</i> 97,4 — 77,1 = 20,3 mgr. Na/100 cc.
„ IVb	97,6	97,6	97,6		
„ IVc	97,3	97,2	97,2		



C. *Kalium toegevoegd aan kaliumstandaardoplossing*

Oplossing Va, Vb en Vc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. kaliumstandaardoplossing 75 mgr. K/100 cc. met 10 cc. gedest. water

Zij bevatten (betrokken op onverdund speeksel) 60 mgr. K/100 cc.

Oplossing VIa, VIb en VIc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. kaliumstandaardoplossing 75 mgr. K/100 cc. met 10 cc. gedest. water + 1 mgr. K.

Zij bevatten (betrokken op onverdund speeksel) 80 mgr. K/100 cc.

	duplo		gem.	Tot. gem.	
Oplossing Va	60,0	60,0	60,0	60,0	<i>Toegevoegd</i> 80 — 60 = 20,0 mgr. K/ 100 cc.
„ Vb	60,0	60,0	60,0		
„ Vc	59,8	60,0	59,9		
Oplossing VIa	80,0	80,0	80,0	80,1	<i>Teruggevonden</i> 80,1 — 60,0 = 20,1 mgr. K/ 100 cc.
„ VIb	80,4	80,0	80,2		
„ VIc	80,0	80,0	80,0		

D. *Kalium toegevoegd aan speekselmonster 1 : 10 verdund*

Oplossing VIIa, VIIb en VIIc zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. speekselmonster (1 : 10) met 10 cc. gedest. water

Oplossing VIIIa, VIIIb en VIIIC zijn gemaakt door verdunning van 40 cc. speekselmonster (1 : 10) met 10 cc. gedest. water + 1 mgr. K.

Berekende toevoeging 20,0 mgr. K/100 cc. (betrokken op onverdund speeksel)

	duplo		gem.	Tot. gem.	
Oplossing VIIa	68,6	68,6	68,6	68,7	<i>Toegevoegd</i> 20,0 mgr. K/100 cc.
„ VIIb	68,7	68,9	68,8		
„ VIIc	68,7	68,6	68,6		
Oplossing VIIIa	89,4	89,6	89,5	89,4	<i>Teruggevonden</i> 89,4 — 68,7 = 20,7 mgr. K/100 cc.
„ VIIIb	89,4	89,2	89,3		
„ VIIIC	89,0	89,8	89,4		

op een voldoende, zelfs goede, mate van nauwkeurigheid, die met de vlamfotometrische bepaling van natrium en kalium in speeksel bereikt wordt.

Bij de natriumbepaling wordt van de toegevoegde 20 mgr. Na/100 cc. in de standaardoplossing 19,7 en in het speekselmonster 20,3 mgr. Na/100 cc. teruggevonden. Bij de kaliumbepaling wordt van de toegevoegde 20 mgr. K/100 cc. in de standaardoplossing 20,1 en in het speekselmonster 20,7 mgr. K teruggevonden. Deze nauwkeurigheid is ruim voldoende voor de bepalingen in het speeksel en staat niet achter bij de moeilijke en tijdrovende gravimetrische of volumetrische bepalingen van deze elementen, waaraan door de veelheid van handelingen tal van foutenbronnen verbonden zijn.

Samenvattend kan worden vastgesteld, dat de vlamfotometrische natrium- en kaliumbepaling van speeksel snel, in 15 minuten, en voldoende nauwkeurig, tot op  $\pm 1$  mgr. per 100 cc., kan worden uitgevoerd. Een speekselmonster van 2,5 cc. is toereikend om daarin, onder een verdunning 1 op 10, de beide bepalingen te verrichten.

Teneinde met deze methode praktische ervaring op te doen voor het kunnen aanzetten van een serie-onderzoek bij een groter aantal personen, werd een oriënterend onderzoek gedaan bij vijf proefpersonen.

#### *Monstername Speeksel*

Het eerste probleem, dat bij het toepassen der methode nader beschouwd moet worden, betreft de monstername van het speeksel.

Men kan uitgaan van het gemengde speeksel, dat in twee vormen genomen kan worden, namelijk als rustspeeksel en als stimulatiespeeksel. Het rustspeeksel verkrijgt men door bij de proefpersoon, rustig zittend in de behandelingsstoel, het speeksel zich op de mondbodem te laten verzamelen, het stimulatiespeeksel, door op een of andere wijze, meestal door kauwen op paraffine, de speekselvloed van de patiënt te vermeerderen. Het afzonderlijk opvangen van het speeksel uit de verschillende speekselklieren stuit op moeilijkheden. De gl. sublingualis en de gl. submaxilaris hebben hun uitvoeropeningen te dicht bij elkaar op de papilla salivalis inferior, zodat het gescheiden opvangen hunner secretie niet mogelijk is. De grote beweeglijkheid van de mondbodem maakt ook het gezamenlijk opvangen van deze beide speekselsecreties moeilijk. De verspreid liggende speekselkliertjes van het mondslijmvlies lenen er zich in het geheel niet toe om in enigszins voldoende hoeveelheid hun secretie in zuivere en ongemengde toestand te kunnen verkrijgen. De parotis biedt de beste mogelijkheden en om het zuivere parotisspeeksel op te vangen werd op de volgende wijze gehandeld.

Een dunne reageerbuis, diameter 10 mm, lang 10 cm, afgesloten met een rubberkruk, werd van een merkstreep voorzien op de vloeistofhoogte, waarbij de inhoud 2,5 cc. is. Door de tweemaal doorboorde rubberkruk gaan een tweetal dunne roestvrij-stalen buisjes (diameter 1,2 mm). Het ene korte buisje is met een lang stuk ventielslang verbonden met de speekselzuiger van de unit, het tweede langere roestvrij-stalen buisje is aan zijn uiteinde wat omgebogen en voorzien van een rubbernapje, diameter 15 mm. Dit rubber-

napje wordt op de uitvoeropening der parotis gezet en zuigt zich in het wangslimvlies vast. Door het lichte gewicht van het buisje en toebehoren blijft dit door de zuigkracht aan de wang hangen en hindert de patiënt, als beide parotisuitgangen van een dergelijk buisje voorzien zijn, niet in het uitvoeren van kauwbewegingen. Het parotisspeeksel vloeit onvermengd en in glasheldere toestand in het reageerbuisje. Afhangende van de speekselvloed bij de proefpersonen vangt men in 1 tot 5 minuren 2,5 cc. zuiver parotisspeeksel op, wanneer men de patiënt op paraffine laat kauwen. Zonder stimulering duurt het langer, vaak meer dan een half uur, alvorens men 2,5 cc. verzameld heeft.

Met de hier geschetste wijze van monsternamen kan men op vrij eenvoudige en goed reproduceerbare wijze een voor de proefpersoon representatief speekselmonster nemen.

#### *Oriënterend onderzoek bij vijf proefpersonen*

Gedurende vier dagen werd van 5 proefpersonen, de eerste dag tweemaal, de drie andere dagen 4 maal, het natrium- en kaliumgehalte van een op de aangegeven wijze verkregen parotis-speekselmonster bepaald. De gevonden waarden zijn in tabel IX verzameld, waarin de Romeinse cijfers I, II, III, IV en V de vijf proefpersonen aanduiden.

Naast het natrium- en kaliumgehalte is bij iedere proefpersoon de gemiddelde tijd vermeld, welke nodig was om 2,5 cc. speeksel te verzamelen. Men vindt er een maat in voor de speekselvloed van de proefpersoon. De beide laatste dagen werd ook het gemengde stimulatiespeeksel van de proefpersonen onderzocht. De proefpersonen met de hoogste en de laagste natriumgehalten in het parotisspeeksel hadden ook de hoogste en laagste percentages in het gemengde speeksel.

Uit dit summiere cijfermateriaal blijkt wel reeds, dat het verschil in natriumgehalte van het parotisspeeksel tussen de individuen markanter is dan in het kaliumgehalte. Het bijzonder lage natriumgehalte bij proefpersoon II staat tegenover het zeer hoge natriumgehalte bij proefpersoon IV. Klinisch beoordeeld behoort proefpersoon IV tot de patiënten met een hinderlijk grote speekselvloed, terwijl proefpersoon II een geringe speekselvloed heeft. Dit klinisch oordeel vindt een bevestiging in het verschil in tijd, die beide proefpersonen nodig hadden om 2,5 cc. parotisspeeksel te produceren.

TABEL IX

*Natrium- en kaliumgehalte in mgr./100 cc. van het parotisspeeksel bij vijf proefpersonen*

Proefpersoon			I		II		III		IV		V		
	da- tum	uur	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	
Parotis- speeksel	31/3	11	31	105	6	88	27	110	85	82	—	—	
		15	—	—	6	98	29	116	70	93	39	102	
	3/4	10	69	86	8	93	56	99	96	91	24	84	
		12	54	98	5	99	43	108	150	105	13	91	
		14	42	110	6	107	43	114	170	104	8	98	
		16	42	110	6	100	25	118	175	118	11	89	
	4/4	10	39	103	17	96	29	92	102	93	27	99	
		12	38	102	4	95	48	105	96	82	10	106	
		14	16	121	3	98	46	123	120	112	10	98	
		16	32	108	7	109	30	106	130	107	17	91	
	5/4	10	53	108	10	92	50	102	140	87	25	104	
		12	55	110	15	97	42	104	150	92	16	101	
		14	25	113	8	102	31	102	160	107	26	105	
		16	19	106	10	103	38	110	160	95	23	107	
	gemiddeld			39	106	8	98	38	108	129	98	19	98
	gemengd speeksel	4/4		35	107	9	88	31	85	55	85	19	95
		5/4		16	83	7	74	26	75		80	18	80
	gem. tijd nodig om 2,5 cc. parotisspeeksel te produceren			3'25"		4'30"		4'10"		1'30"		3'40"	

II was de langzaamste en IV de snelste speekselproducent, resp. met  $4\frac{1}{2}$  en  $1\frac{1}{2}$  minuut.

Dat het verschil in natriumgehalte tussen de proefpersonen significant is, blijkt reeds bij oppervlakkige beschouwing der cijfers en behoeft geen nadere berekening. Het zeer lage natriumgehalte van II werpt een licht op het merkwaardige vermogen van de parotis om uit het zo natriumrijke bloedserum (330 mgr. %) een speeksel af te scheiden, waarin bij één monster zelfs slechts 3 mgr. % Na voorkomt. Voor de physiologie van de speekselklieren opent de hier beschreven onderzoekingsmethode en methode van monsternamen een mogelijkheid voor verder onderzoek.

Het verkregen cijfermateriaal is te gering om conclusies te rechtvaardigen. Het ligt in de bedoeling om, zodra uitsluitsel verkregen



Proefpersoon

I

II

datum  
4 April  
Kulp-agar

datum  
5 April  
Kulp-agar

datum  
4 April  
bouillon-agar

datum  
5 April  
bouillon-agar

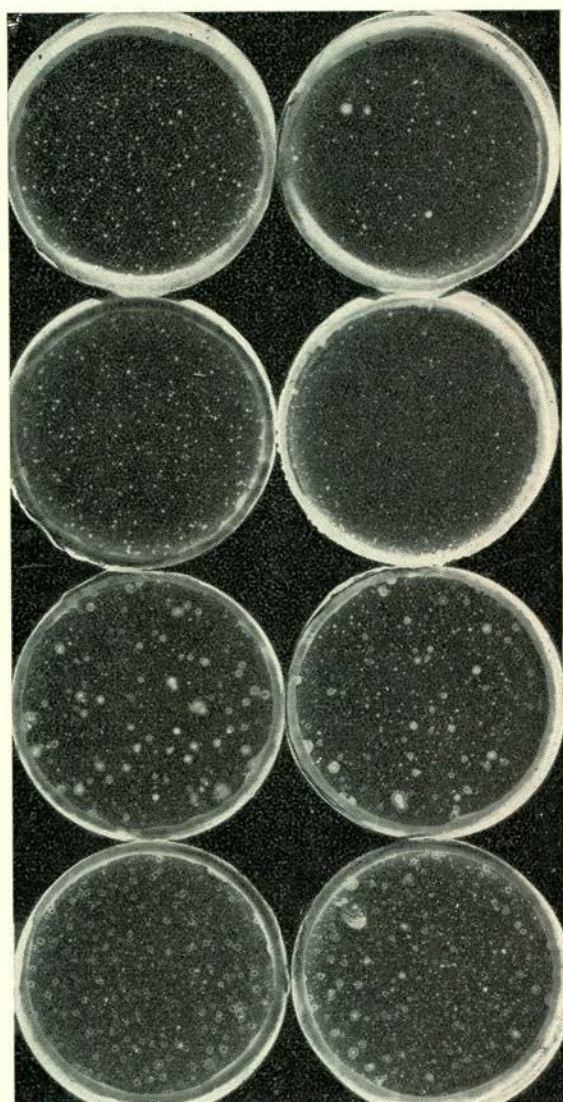


fig. 1

Van de vijf proefpersonen vindt men in de verticale rijen onder elkaar van boven naar beneden gaande eerst de twee Kulp-agar platen geënt met het speckselmonster van twee opéénvolgende dagen. Vervolgens de twee bijbehorende bouillon-agar platen.

Het verschil in het aantal zuurvormende en het „totale” aantal bacteriën tussen de proefpersonen onderling is bij een vluchtige beschouwing der afbeeldingen reeds waarneembaar.

Proef-  
persoon

III

IV

V

dat.  
4/4  
Kulp-  
agar

dat.  
5/4  
Kulp-  
agar

dat.  
4/4  
bouillon-  
agar

dat.  
5/4  
bouillon-  
agar

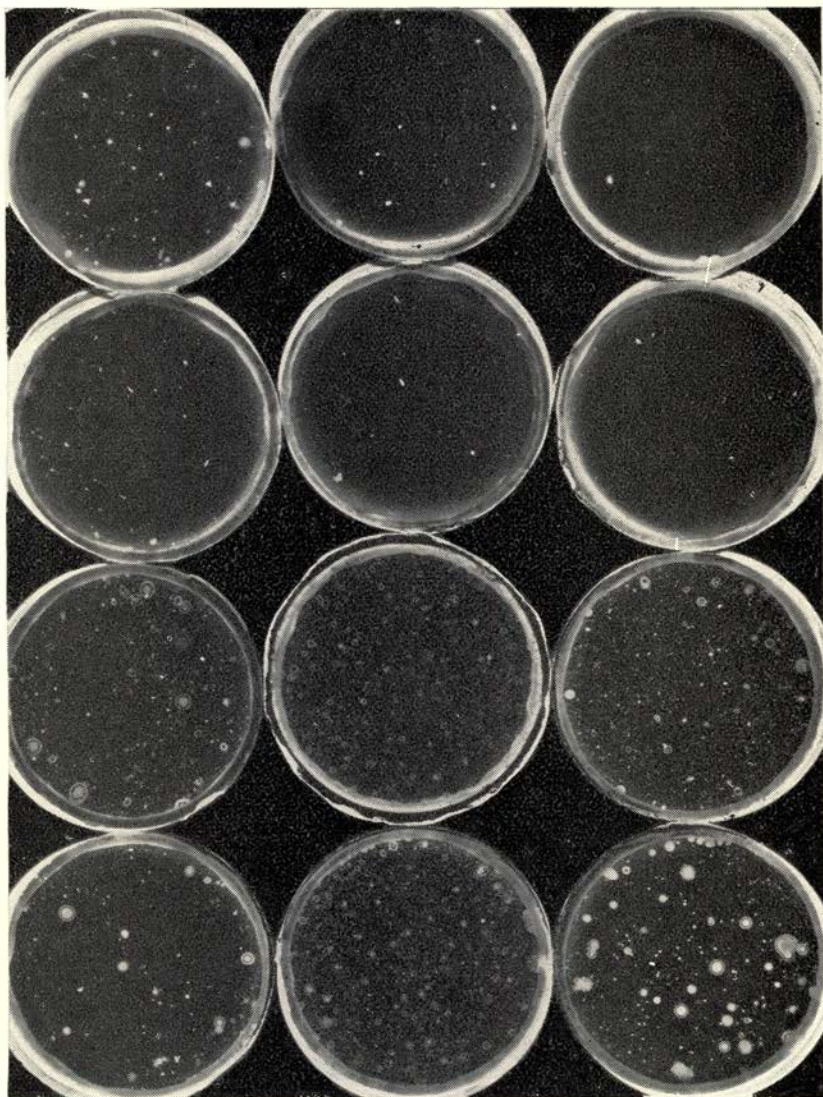


fig. 2.  
(vervolg fig. 1)





is omtrent het vlamfotometrisch bepalen van calcium (en mogelijk ook magnesium) in het speeksel, waarvan de mogelijkheden thans nagegaan worden, dit onderzoek over een groot aantal patiënten uit te breiden.

*Nadere gegevens omtrent de proefpersonen*

Waar van de vijf bij het hier gepubliceerde onderzoek betrokken proefpersonen allerlei gegevens omtrent hun vatbaarheid voor caries enz. in overvloed bekend zijn, kan het mogelijk sommigen interesseren, deze gegevens gesteld te zien naast de hier gepubliceerde natrium- en kaliumgehalten van hun parotisspeeksel.

In tabel X zijn deze gegevens verzameld.

TABEL X

Proefpersoon . . . . .	I	II	III	IV	V	
Geslacht . . . . .	v	v	m	m	v	
Leeftijd . . . . .	19	20	31	27	26	
Aantal zuurv. bacteriën per 100.000 a) „totaal”-bacteriën . . . . .	140	90	5	0	0	
Zuurvorming in vivo (pH) . . . .b)	5,7	6,0	5,7	6,4	6,1	
Zuurvorming in vitro (pH) . . . .c)	5,5	5,9	5,6	5,7	5,9	
Klinische beoordeling . . . . .d)	4	4	3	1	2	
Serum	Na mgr. % . . . . .e)	337	320	326	297	325
	K mgr. % . . . . .	19,3	18,0	17,7	22,3	19,7
Parotisspeeksel	Na mgr. % . . . . .	39	8	38	129	19
	K mgr. % . . . . .	106	98	108	98	98

a) Bij de bacterietellingen, waarvoor resp. op bouillon-agar en op een wat gewijzigde tomaten-agar volgens K u l p werd gekweekt, is gebruik gemaakt van een nog niet gepubliceerde techniek die in staat stelt zeer snel de platen te gieten, te enten, te tellen en het bovendien mogelijk maakt op eenvoudige en goedkope wijze de resultaten fotografisch vast te leggen. De bijgevoegde fotografische beelden, fig. 1 en fig. 2, geven (hopelijk ook op de afdrukken van de cliché's) een indruk hoe deze resultaten op sprekende wijze zijn aan

te houden, zodat zij te allen tijde met latere en vroegere bepalingen bij dezelfde persoon vergeleken kunnen worden.

b) De zuurvorming in vivo is bepaald met behulp van de reeds gepubliceerde methode dienaangaande. (Tijdschr. v. Tandh. 1948 afl. 11, November).

c) De bij de zuurvorming in vitro opgegeven pH betreft de colorimetrisch bepaalde zuurgraad, die een met een 5 % glucose-oplossing gevuld buisje na enting met speeksel bereikt, indien het 3 uur in een waterbad van 37° wordt geschud.

d) De klinische beoordeling berust op het „caries-verleden” van de proefpersoon, welke te vinden is in het aantal caviteiten, vullingen, extracties (D.F.M.) gevonden bij het klinische mondonderzoek en gewaardeerd in verband met leeftijd van de proefpersoon.  
0 — cariesvrij; 1 — geringe caries; 2 — matig caries; 3 — caries; 4 — veel caries; 5 — zeer veel caries.

e) Het natrium- en het kaliumgehalte van het bloedserum zijn eveneens vlamfotometrisch bepaald, in een serumverdunding 1/50, volgens een methode waarbij een inwendige lithiumstandaard wordt toegepast; 0,2 cc. onverdund serum is reeds voldoende voor het uitvoeren van beide bepalingen. Door deze geringe hoeveelheid behoeft voor het nemen van de bloedmonsters geen venapunctie te worden gedaan.

#### SAMENVATTING

Een methode werd beschreven om met behulp van vlamfotometrie op snelle wijze, geschikt voor serie-onderzoek, het natrium- en kaliumgehalte van speeksel te bepalen.

Een betrekkelijk klein speekselmonster, 2,5 cc., is voldoende voor beide bepalingen, welke, inclusief de monsternamen, binnen 15 minuten kunnen worden uitgevoerd.

Een methode werd beschreven om een zuiver en helder parotis-speekselmonster op te vangen.

Een oriënterend onderzoek wees er op, dat er tussen de proefpersonen grotere verschillen bestaan in het natriumgehalte van het parotisspeeksel dan in het kaliumgehalte, en tevens dat er een zeer laag natriumgehalte in het parotisspeeksel kan voorkomen.

## SUMMARY

A method, suited for serial analysis, is given to measure the sodium and the potassium-content of saliva by flame-photometry.

For this determination only 2,5 ml of saliva is wanted and its performance included the taking of the sample requires 15 minutes.

The method used to collect a sample of pure parotis-saliva is described.

Between the individuals there is a greater difference in the sodium percentage than in the potassium percentage of the saliva.

The parotis can excrete a saliva with a very low sodium-content.

## LITERATUUR

- 1) B. Schmidt-Nielsen. The Solubility of tooth substance in relation to the composition of saliva. (Copenhagen) 1946, blz. 24.
- 2) A. T. Shohl. Mineral Metabolism. 1939 blz. 62.
- 3) B. P. Badkin. The physiology of the salivary glands. in: S. M. Gordon, Dental Science and Dental Art. London 1938.
- 4) G. W. Clark en J. S. Shell. The influence of diet upon the inorganic constituents of human saliva. Dent. Cosmos 1927, blz. 500.
- 5) J. B. Brown en J. N. Klotz. Sodium, potassium and Calcium in Saliva secreted at widely varying rates. Journ. Dent. Res. 1937, blz. 19.
- 6) H. Lundegaardh. Die quantitative Spectralanalyse. 1929—1934.  
A. C. van Schuffelen. De quantitative analyse met vlamspectra en hare nauwkeurigheid. (Diss. Utrecht) 1940.  
A. Häslér. Beitrag zur Kenntnis der quantitativen Flammenspektroskopie. (Diss. Zürich) 1940.  
S. D. Boon. Vlamfotometrie. (Diss. Amsterdam) 1945.  
W. R. Domingo en W. Klyne. A Photoelectric flame photometer. Biochem. J. 1949 blz. 400.
- 7) E. Rauterberg und E. Knippenberg. Kaliumbestimmung auf flammenphotometrische wege. Zeitschr. Bodenkunde und Pflanzenernährung, 1941 Heft  $\frac{5}{6}$  blz. 364—384.  
H. Riehm. Bestimmung des pflanzenaufnehmbaren Kalis nach Egner bei Massenuntersuchungen unter besondere Berücksichtigung eines speziellen Flammenphotometers. Zeitschrift Bodenkunde und Pflanzenernährung. 1942, Heft 4 blz. 246—256.
- 8) P. M. Hald. The flame photometer for the measurement of sodium and potassium in biological materials. J. Biol. Chem. 1947, blz. 499.
- 9) H. Riehm. Bestimmung von Natrium, Kalium und Calcium in Flammenphotometer nach Riehm-Lange. Zeitschr. Analyt. Chemie. 1948 Heft  $\frac{2}{3}$  blz. 249.

Groningen

April 1950