

Eine Methode zur titrimetrischen Bestimmung der hauptsächlichsten Factoren der Magenacidität.

Von

Dr. Gustav Toepfer.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium des Dr. E. Freund im k. k. Krankenhause Rudolfstiftung in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 19. December 1893.)

Seit der Zeit, als durch Bidder und Schmidt endgiltig nachgewiesen wurde, dass bei der Verdauung die Salzsäure neben Pepsin den Hauptfactor bildet und nicht die Milchsäure, wie man lange angenommen hat, und seitdem man sich überzeugt hatte, dass die Peptonisation des Eiweisses unter dem Einflusse des Pepsins überhaupt nicht stattfinden kann, wenn nicht vorher oder wenigstens gleichzeitig das Eiweiss unter der Einwirkung der Salzsäure in Acidalbumin übergegangen ist, bildet die Untersuchung der Magenacidität und insbesondere die quantitative Bestimmung des Salzsäuregehaltes eine der wichtigsten Aufgaben, die der Kliniker bei pathologischen Processen des Magens und einer Reihe von Ernährungsstörungen an den medicinischen Chemiker richtet. Wie bekannt, bestimmten Bidder und Schmidt¹⁾ in einer Portion des Mageninhaltes die gesammte Menge des Chlors, in einer anderen Portion bestimmten sie sämmtliche Basen und berechneten aus diesen die Menge Chlor, welche durch die Basen zu Salzen

¹⁾ Bidder und Schmidt: Verdauungssäfte und Stoffwechsel. Leipzig 1852.

gebunden werden konnte. Sie fanden dabei einen grossen Ueberschuss an Chlor, welcher naturgemäss auf die Salzsäure bezogen werden musste. Diese Methode ist bis heute eine der genauesten und allen Anforderungen einer exacten chemischen Untersuchung entsprechende anerkannt, besitzt aber den Nachtheil, dass sie in der praktischen Anwendung (und um diese handelt es sich hauptsächlich) sehr viel Zeit in Anspruch nimmt, eine grosse Uebung in der quantitativ chemischen Untersuchung voraussetzt, ausserdem aber chemische Apparate und Einrichtungen braucht, wie dieselben nur in einem gut eingerichteten chemischen Laboratorium vorhanden sind. Heute dient diese Methode hauptsächlich nur der vergleichenden Controle neuer Methoden, die im Laufe der Zeit angegeben wurden und noch immer angegeben werden.

Eine Reihe von solchen Methoden liegt vor, welche die Untersuchungsergebnisse auf einfacherem und dem untersuchenden Kliniker zugänglicherem Wege zu erreichen ermöglichen.

Um die Brauchbarkeit dieser einfacheren Methoden beurtheilen zu können, ist es vor Allem nothwendig, sich darüber klar zu sein, welche Fragen wir beantwortet wünschen; wir müssen den derzeitigen Standpunkt der Verdauungsphysiologie kennen und von da aus die Leistungsfähigkeit einer solchen Methode beurtheilen.

Die neueren Untersuchungen auf diesem Gebiete haben gezeigt, dass Momente für die Verdauungsthätigkeit des Magens von grosser Bedeutung sind, welche noch vor kurzer Zeit wenig oder gar keine Berücksichtigung fanden. Aus der genauen Kenntniss der einzelnen Phasen des Verdauungsvorganges im Magen hat sich ergeben, dass eine Reihe früher ganz allgemein gehandhabter Methoden zu ganz falschen Vorstellungen bei der Beurtheilung einschlägiger Untersuchungsobjecte geführt haben, und daher den klinischen Anforderungen nicht mehr entsprechen.

Der Begriff des Salzsäuregehaltes des Magensaftes hat im Laufe der letzten Jahre eine verschiedene Deutung erhalten. Ursprünglich fasste man als Salzsäuregehalt des

Magensaftes jene Menge anorganischer Säure auf, welche durch die betreffenden Indicatoren wie Methylviolet, Rosanilin oder Tropaeolin angezeigt wurden.

Aus jener Zeit stammen die Angaben von den Velden's¹⁾ über das Fehlen der Salzsäure bei Magencarcinom und im Beginne jeder Verdauung. Gerade diese letzte Thatsache musste darauf führen, den Standpunkt aufzugeben, dass das Vorhandensein von Salzsäure normal und das Fehlen pathologisch sei. Denn auch im normalen Magensaft können wir demnach eine Phase finden, in der keine Salzsäure vorhanden ist.

Der ganze Litteraturkampf, der sich an jene Angabe von den Velden's schloss, hat an der Richtigkeit dieser Thatsache nichts ändern können. Denn, wenn auch Cahn und Mehring²⁾ durch genaue quantitative Analyse eine Menge solcher Fälle fanden, die in Folge der Farbstoffreaction keine Salzsäure enthielten, deren Chlormengen aber durch anorganische Basen nicht abgesättigt erschienen, und daher die Farbstoffreagentien als trügerisch erschienen, so hat sich andererseits durch Versuche von Honigmann und von Norden³⁾ herausgestellt, dass die solcher Art gefundene Salzsäure nicht als freie zu betrachten sei, da diese Menge an Eiweisskörper und deren Derivate gebunden ist und nicht als freie Salzsäure in Betracht kommt. Dafür sprach auch die Angabe Klemperer's⁴⁾, dass Salzsäure, welche an organische Basen (Amidosäuren) gebunden war, nicht mehr auf Farbstoffreagentien als freie Salzsäure wirkt. Bei solcher Sachlage bezog sich das Interesse nicht blos auf die freie Salzsäure, sondern auf die Verdauungsfähigkeit der Salz-

¹⁾ v. d. Velden: Ueber Vorkommen und Mangel der freien Salzsäure im Magensaft bei Gastrectasie. Deutsch. Arch. f. kl. Med., Bd. 23. Tafel 4, S. 369, 1879.

²⁾ Cahn und v. Mehring: Die Säuren des gesunden und kranken Magens. Deutsch. Arch. f. kl. Med., Bd. 39.

³⁾ Honigmann und v. Norden: Ueber d. Verhalten der HCl im carcinomat. Magen. Zeitschr. f. kl. Med., Bd. 13.

⁴⁾ Klemperer: Zur chem. Diagn. der Magenkrankheiten. Zeitschr. f. kl. Med., Bd. 14.

säure. Salkowski¹⁾ fand, dass in Gemischen von Pepsin-Salzsäure, wo die Salzsäure an Amidosäure gebunden war, die Verdauungsfähigkeit gar nicht beeinträchtigt war.

Andererseits hatten Winter und Hayem²⁾ angegeben, dass gerade nur die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure für die Verdauung wichtig sei, weil nur diese durch ihre Bindung an Eiweisskörper die Peptonisation derselben anbahnt, während ihnen die freie Salzsäure, d. i. diejenige, die kein Eiweiss mehr zur Bindung vorfindet, als unnöthiger Ueberschuss erscheint.

Damit entwickelt sich der Begriff der locker gebundenen Salzsäure, die wir stets neben der freien Salzsäure zu berücksichtigen haben. Das ist der nunmehrige Standpunkt der Frage, der auch in der neuesten und ausführlichsten Arbeit von Lüttke und Martius seinen Ausdruck findet.

Dieser Anschauung liegt, um zu resumiren, folgende Vorstellung vom Ablauf des Verdauungsprocesses zu Grunde: Nach Einführung der Nahrung wird durch die so erfolgte Reizung die Salzsäure im freien Zustande secernirt und zugleich von den vorhandenen Basen, anorganischer oder organischer Natur, und den Eiweisskörpern nach und nach gebunden. Erst nach Absättigung aller dieser erscheint die Salzsäure als freie Salzsäure. Das ist der Ueberschuss. Es ist natürlich, dass die zur Sättigung der anorganischen sowie einiger organischen Basen (Salkowski und Kumagawa³⁾) verbrauchte Menge von Salzsäure für die Verdauungsthätigkeit verloren geht. Der grösste Theil aber bindet sich mit den eingeführten Eiweisskörpern und bildet also den eigentlich in Wirkung getretenen Theil der secernirten Salzsäure. Die weiter abgesonderte Salzsäure bleibt frei und erst nach vollendeter Peptonisation wird auch der zur Bindung mit

¹⁾ Salkowski: Ueber die Bindung der HCl durch Amidosäuren. Virchow's Archiv 1892, Bd. 127.

²⁾ Winter und Hayem: Du chimisme stomacal 1891.

³⁾ Salkowski und Kumagawa: Ueber den Begriff der freien und gebundenen Salzsäure im Magen. Virchow's Archiv, Bd. 122.

den Eiweisskörpern verbrauchte Theil Salzsäure frei, wie es in letzter Zeit Sansoni¹⁾ nachgewiesen hat.

Wir müssen demnach von der gesammten secernirten Salzsäure unterscheiden: 1. Die an anorganische Basen gebundene Salzsäure; diese geht für die Verdauung verloren und wir brauchen sie nicht zu bestimmen. 2. Einen Theil, welcher an gewisse organische Basen (Chinin etc) gebunden ist und als solcher auch physiologisch nicht wirksam ist; auch dieser Theil fällt in den Bereich der Bestimmung nicht. 3. Die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure, die sogenannte locker gebundene. Diese ist physiologisch wirksam, denn das eben, dass sie mit Eiweiss durch Bildung von Acidalbumin die Peptonisation bei Anwesenheit von Pepsin bewerkstelligt, ist das Maass für die von ihr geleistete nützliche Arbeit. Und erst, nachdem diese Arbeit geleistet wurde, erscheint 4. die freie Salzsäure.

Dementsprechend bemühten sich alle Autoren, Methoden zu schaffen, um diese einzelnen Factoren zu bestimmen.

Das von Bidder und Schmidt angegebene Verfahren, das wir oben besprochen haben, ist zu zeitraubend, besitzt aber in Bezug auf den vorerwähnten Stand der Salzsäurefrage auch noch den Fehler, welchen Klemperer der Methode zum Vorwurf macht, dass sie auch die an organische Basen gebundene Salzsäure mitbestimmt.

Hehner und Seemann²⁾ bestimmen die Mengen der organischen Säuren aus dem Gehalt an kohlen-sauren Alkali, des mit Alkali neutralisirten und veraschten Mageninhaltes und beziehen die Differenz zwischen dieser Acidität und der gesammten Acidität auf Salzsäure.

Cahn und Mehring³⁾ destilliren 50 cbcm. filtrirten Mageninhaltes bis $\frac{3}{4}$ desselben übergangen sind, füllen wieder auf 50 cbcm. auf und destilliren nochmals bis $\frac{3}{4}$ des

¹⁾ Sansoni: Berliner klinische Wochenschrift 1892, Nr. 40. u. 42.

²⁾ Seemann: Ueber das Vorhandensein von freier Salzsäure im Magen. Zeitschrift für kl. Medicin, Bd. 5.

³⁾ Cahn und v. Mehring: Die Säuren des gesunden und kranken Magens. Deutsches Arch. f. kl. Med., Bd. 39.

Volumens. Auf diese Weise überleiten sie in das Destillat alle flüchtigen Säuren.

Der Rückstand wird einige Male mit je 500 ccm. Aether ausgeschüttelt, wobei alle Milchsäure in den Aether übergeht. (Hierbei begehen die Autoren einen Fehler, denn auch Salzsäure geht theilweise in den Aether über und wird dann als Milchsäure bestimmt.) Einem so von Milchsäure und flüchtigen Säuren befreiten Mageninhalt wird frischgefülltes Cinchonin bis zur neutralen Reaction zugefügt und dann einige Male mit Chloroform ausgeschüttelt, wobei in das Chloroform das Cinchoninchlorhydrat übergeht. Diese Chloroformauszüge werden eingeengt und im Reste das Chlor als Chlorsilber titirt. Wie wir sehen, eine sehr umständliche und kostspielige Methode.

Hoffmann¹⁾ benützt die Eigenschaft der Salzsäurelösungen, Rohrzucker zu invertiren und bestimmt die Salzsäuremenge aus der Grösse der Aenderung des optischen Drehungsvermögens nach Einwirkung einer Portion Mageninhalt auf eine bestimmte Zuckerlösung.

Jolles und Wallenstein²⁾ geben eine Methode zur quantitativen Bestimmung der freien Salzsäure an, welche darauf beruht, dass Eosin in alkalischer oder neutraler Lösung eine Fluorescenz und im grünblauen Theile des Spectrums zwei Absorptionsstreifen zeigen. Einige Milligramme Salzsäure bringen die Fluorescenz sowie die Absorptionsstreifen zum Verschwinden.

Sjöquist³⁾ überführt durch Hinzufügen von Baryumcarbonat alle freie Säuren in Baryumsalze und versetzt dann, wobei durch Salzsäure entstandenes Chlorbaryum unverändert bleibt. Dieses geht dann bei Extrahiren mit Wasser in das letztere über, während die zu Kohlensäure Baryt verbrannten Baryumsalze der organischen Säuren in

¹⁾ Hoffmann: Erkennung und Bestimmung der Salzsäure im Magensaft. Centralbl. f. kl. Med., 1889, Nr. 46.

²⁾ Jolles: Eine neue Methode zur quant. Bestimmung der freien Salzsäure des Magensaftes. Wiener med. Presse 1890, Nr. 51.

³⁾ Sjöquist: Eine neue Methode, freie Salzsäure im Mageninhalt quantitativ zu bestimmen. Zeitschr. f. physiologische Chemie, Bd. 13.

Wasser unlöslich sind. Aus der Menge des Baryums im Wasserextract ist der Salzsäuregehalt berechenbar. Baryumcarbonat ist zwar im Stande, die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure in Baryumsalz umzusetzen, aber wenn viel Eiweiss vorhanden ist, so geschieht das nicht leicht ganz; ein Theil bleibt nicht umgesetzt. Ausserdem können eventuell vorhandene Phosphate einen Theil des gebildeten Chlorbaryums unlöslich machen und damit den Salzsäurewerth verringern. Die Fehlergrenzen sind demnach sehr gross.

Bourget¹⁾ versetzt ähnlich wie Sjöquist 20–30 ccm. filtrirten Mageninhalt mit Baryumcarbonat, trocknet ein und verascht. Das Chlorbaryum wird mit Wasser extrahirt und mit concentrirter Sodalösung gefällt, darauf filtrirt und der Niederschlag gut gewaschen. Dann wird der Niederschlag in ein Messkölbchen gebracht, mit 10 ccm. 1% Salzsäurelösung gemischt (1 ccm. dieser Salzsäurelösung entspricht 10 ccm. Sodalösung) und dann ein Theil vom Filtrate mit der titrirten Sodalösung zurücktitrirt. Als Indicator dient Phenolphthalein.

Leo²⁾ entfernt zuerst durch Ausschütteln Fettsäure und Milchsäure und titrirt dann in einem Theile die Acidität unter Anwendung von Phenolphthalein, ein anderer Theil wird mit trockenem Calciumcarbonat versetzt, gut durchgemischt und filtrirt, im Filtrat von neuem die Acidität bestimmt. Aus der Differenz kann man die in Chlorecalcium überführte Menge Salzsäure berechnen.

Mintz³⁾ bestimmt nur die freie Salzsäure quantitativ. Dabei verwendet er das Günzburg'sche Reagens. Er verdünnt den Mageninhalt so lange, bis die Phloroglucin-Vanilinreaction ausbleibt. Die Empfindlichkeitsgrenze des

¹⁾ Bourget: Nouveau Procédé pour la recherche et le dosage de l'acide chlorhydrique dans le liquide stomacal. Arch. de méd. exper. 1889, Nr. 6.

²⁾ Leo: Diagnostik der Krankheiten der Verdauungsorgane. Berlin 1890.

³⁾ Mintz: Eine einfache Methode zur quant. Best. d. freien HCl im Mageninhalt. Wien. Kl. Woch. 1889, Nr. 20.

Günzburg'schen Reagens beträgt nach Mintz 0,036 gr. $\frac{0}{1000}$ Salzsäure. Wenn er nun die Verdünnung mit dieser Zahl multiplicirt, erhält er den eigentlichen Werth.

Mörner¹⁾ wendet Congopapier an. Boas²⁾ benützt Congolösung. Beide bestimmen nur die freie Salzsäure. Nachdem aber Congolösung auch für organische Säuren empfindlich ist, begeht man bei dieser Methode öfters Fehler.

Winter und Hayem³⁾ sind die ersten, welche die einzelnen Theile der Salzsäure, d. i. die freie und locker gebundene, getrennt bestimmen. Sie gehen dabei folgendermassen vor: Je 5 ccm. Mageninhalt werden in 3 Tigel gebracht, a, b und c. Im Tigel a wird der Inhalt mit überschüssigem Natriumcarbonat versetzt, sodann alle 3 Tigel über dem Wasserbad getrocknet und im Brutschrank bei 100° bis zur vollkommenen Trockenheit behalten. Der Tigel a wird sodann über freier Flamme leicht geglüht und mit destillirtem Wasser der Rückstand ausgezogen. Sodann wird das vorhandene Chlor mit Silbernitrat ermittelt. Auf diese Weise wird das Chlor der gesammten secernirten Chlormenge ermittelt.

Der zweite Tigel (b) wird, nachdem er vollkommen trocken ist, ebenfalls mit Natriumcarbonat behandelt, geglüht und dann Chlor bestimmt. Die Differenz zwischen a und b ergibt die freie Salzsäure, welche beim Trocknen im Bruttofen sich verflüchtigt.

Der dritte Tigel wird direct nach dem Trocknen geglüht. Die in ihm vorgefundene Chlormenge gehört den Chloriden. Die Differenz aus der Chlormenge des Tigels b und des Tigels c ergibt die an organische Körper gebundene Salzsäure.

In letzter Zeit ist in einer ausführlichen Arbeit von Martius und Lüttke⁴⁾ neben physiologischen Daten über

¹⁾ Mörner: Maly, Jahresber. für Thier-Chemie, Bd. 19.

²⁾ Boas: Beitrag zur Methodik der Salzsäurebestimmung im Mageninhalt. Centralbl. f. kl. Med. 1891, Nr. 2.

³⁾ G. Hayem et Winter: Recherches sur le chimisme stomacal à l'état normal et à l'état pathologique. Bull. méd. 1889, Nr. 95. Du chimisme stomacal, Paris 1891.

⁴⁾ F. Martius und J. Lüttke: Die Magensäure des Menschen. Stuttgart 1892.

die Magensäuren auch eine Methode angegeben worden, welche unabhängig von der von Winter und Hayem angegebenen denselben Zweck verfolgt, die beiden Salzsäuren (die freie und die locker gebundene) nebeneinander quantitativ zu bestimmen.

Sie gehen nach dem Plane von Bidder und Schmidt vor und bestimmen zuerst den gesammten Chlorgehalt nach Volhard und Falck. Sodann bestimmen sie die an Eiweisskörper und organische Basen gebundene Salzsäure durch Verbrennung eines gemessenen Theiles des zu untersuchenden Mageninhaltes. Auf Seite 102 ihrer Arbeit heisst es: Die Salzsäure findet sich im Mageninhalte theils gebunden an Eiweissstoffe, theils frei. Beim Verbrennen solchen Mageninhaltes verflüchtigt sich sowohl die gänzlich freie Salzsäure als auch diejenige Menge, welche an organische Basen gebunden war. Anders verhalten sich die in Betracht kommenden chemischen Verbindungen der Salzsäure mit anorganischen Basen, die beim Verbrennen nicht flüchtig sind, also in der Asche zurückbleiben. Nur bei sehr starkem und anhaltendem Erhitzen auf Rothgluth gelingt es, auch diese Chloride zu verflüchtigen. Durch Substraction des den Chloriden entsprechenden Chlors von der Menge des vorgefundenen gesammten Chlors berechnen sie sodann die freie plus der locker gefundenen Salzsäure. Ausserdem wird mit Phenolphthaleïn die Gesamttacidität bestimmt. Die Differenz zwischen der so bestimmten Gesamttacidität und den oben gefundenen Werthen für die freie plus der gebundenen Salzsäure ergibt die Menge der organischen Säuren.

Die Differenz zwischen diesem letzten Werth und dem Werth für die freien Säuren, welchen man durch Titration mit Tropaeolin OO¹⁾ erhält, stellt die Grösse der freien Salzsäure dar. Die Grösse der locker gebundenen Salzsäure

¹⁾ Tropaeolin OO, das Natronsalz des Sulphanilsäureazodiphenilamins, ist nur für anorganische Säuren empfindlich, für organische Säuren unempfindlich. — Dagegen ist Tropaeolin D, das Natronsalz des Sulphanilsäureazodimethylamins (Methylorange) auch für organische Säuren empfindlich.

ergibt sich naturgemäss durch Abzug des Werthes für freie Salzsäure von dem obengefundenen Werth für die freie plus locker gebundene Salzsäure.

Dieses Verfahren wird gewiss allen Ansprüchen der Genauigkeit entsprechen und gehört nicht zu den langwierigsten. Trotzdem ist dieses Verfahren zu zeitraubend, um den Anforderungen einer Klinik oder eines Krankenhauses zu genügen. Für den praktischen Arzt ist es geradezu undurchführbar. Diese Gründe haben es als wünschenswerth erscheinen lassen, trotz der vielen vorhandenen, nach einer neuen Methode zu suchen, welche gleiche Genauigkeit der Bestimmung mit einfacheren Mitteln und in kürzerer Zeit gestattet. Als besonders zweckentsprechend musste eine Methode erscheinen, welche lediglich mit Hilfe verschiedener Indicatoren die Bestimmung der einzelnen Aciditätsfactoren gestatten würde. Als ein besonders wichtiger Indicator in dieser Beziehung musste ein Farbstoff erscheinen, der nur für freie anorganische Säuren empfindlich war. Als solcher fand sich nach längeren Versuchen Dimethylamidoazobenzol¹⁾.

Dieser Farbstoff zeichnet sich von den bisher bekannten für diesen Zweck verwendeten dadurch aus, dass er weit empfindlicher ist als diese, indem schon ein Tropfen einer $\frac{1}{40}$ Normal-Salzsäurelösung auf 5 ccm. destillirten Wassers die neutrale gelbe Farbe des Indicators in eine röthliche umschlagen lässt. Andererseits geben organische Säuren erst in einer Concentration von über 0,5% röthliche Färbung, welche zudem auch bei viel höheren Concentrationen ausbleibt, wenn selbst ganz geringfügige Mengen von Eiweisskörpern, Pepton oder Mucin vorhanden sind. Die Vorwürfe, welche derartigen Indicatoren bisher gemacht wurden, bezogen sich darauf, dass dieselben doch nicht die Phloroglucinvanilinprobe an Empfindlichkeit ersetzen können. Es wurde deshalb die Verwendbarkeit dieses Indicators durch den Vergleich mit der Günzburg'schen Probe zu erforschen versucht. Zu diesem Zwecke wurden Lösungen einmal von

¹⁾ Dieser Farbstoff wurde in die Acidimetrie von B. Fischer und O. Philipp eingeführt. Anal. Pharm. 23. S. 434.

Salzsäurelösungen und zweitens von Mageninhalt soweit verdünnt, dass eben noch die Reaction von Günzburg zu sehen war. Solche Lösungen ergaben deutliche Dimethylamidoazobenzol-Reaction.

Andererseits wurde auch nachgesehen, ob diese Empfindlichkeit des Farbstoffes mit der physiologischen Verdauungsfuction übereinstimmt. Zu diesem Zwecke wurden 10 Eprouvetten (1—10) mit je 5 ccm. einer 0,5% Eialbumlösung gefüllt und zur ersten 1 Tropfen, zur zweiten 2 und s. w. bis 10 Tropfen einer $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure zugesetzt. Sämmtliche Eprouvetten werden dann mit gleicher Menge Pepsin versehen und in jede eine Fibrinflocke gegeben, sodann bei 37° verdaut. Die Eprouvetten 1—5 zeigten keine verdauende Wirkung auf die Fibrinflocken, in der Eprouvette 6 erste Spuren, in der letzten Eprouvette (10) vollkommene Verdauung. Hierauf wurden von jeder Eprouvette Proben entnommen und sodann mit Phloroglucinvanilinalgemisch einerseits, Dimethylamidoazobenzol andererseits, geprüft. Es zeigte sich, dass die aus No. 6 entnommene Probe die Dimethylamidoazobenzol-Reaction zeigte, während die Phloroglucinvanilin-Reaction ausblieb. Die Proben aus den Eprouvetten 1—5 zeigten mit Dimethylamidoazobenzol keine rothe Färbung.

Aus diesem Uebereinstimmen mit der Phloroglucinvanilinprobe einerseits und überdies aus dem Mangel der Reaction in den 5 ersten Probirgläschen, in denen doch Salzsäure vorhanden war, aber in einem an Eiweiss gebundenen Zustande, schlossen wir, dass dieser Indicator nur für freie Salzsäure empfindlich ist. Dimethylamidoazobenzol musste also als den früher erwähnten Anforderungen entsprechender Indicator angesehen werden.

Für die Bestimmung der weiteren Aciditätsfactoren hat sich nach langen Untersuchungen die Verwendung von Phenolphthalein und Alizarin als zweckentsprechend erwiesen.

Phenolphthalein desshalb, weil es für alle Aciditätsfactoren empfindlich ist und daher zur Titrirung der Gesamtaacidität verwendet werden kann.

Alizarin (alizarinsulphonsaures Natron) deshalb, weil es für alle Aciditätsfactoren empfindlich ist, mit Ausnahme der locker gebundenen Salzsäure und uns also die Differenz zwischen dem Phenolphthaleinwerth und dem Alizarinwerth die Grösse der locker gebundenen Salzsäure angibt. Der Nachweis dieser Thatsache, deren theoretische Grundlage noch klarzulegen ist, wurde dadurch geführt, dass eine grosse Reihe von Bestimmungen erstens künstlicher Gemische, deren Zusammensetzung bekannt war, mit diesen Indicatoren durchgeführt wurde und zweitens eine Reihe von nativen Magensäften untersucht wurde und die erhaltenen Resultate mit den Resultaten nach den mit der Methode Martius-Lüttke erhaltenen verglichen werden.

I. Versuch.

40 ccm. einer 1% Eieralbuminlösung,

5 ccm. einer 5% Essigsäure,

5 ccm. einer 1% Milchsäure,

davon wurden je 5 ccm. titirt mit $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

Titration mit Phenolphthalein = 4,0 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 4,0 »

Differenz = 0.

II. Versuch.

Je 10 ccm. einer 5% Eieralbuminlösung nach Zusatz von je 2 ccm. einer beiläufig 5% Essigsäure wurden mit $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH titirt.

Titration mit Phenolphthalein = 12,2 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 12,2 »

Differenz = 0.

Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ (gelbe Färbung.)

III. Versuch.

Je 8 ccm. einer 5% Eieralbuminlösung nach Zusatz von je 1 ccm. einer beiläufig 5% Essigsäure wurden mit $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH titirt.

Titration mit Phenolphthalein = 6,1 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 6,1 »

Differenz = 0.

IV. Versuch.

Je 10 ccm. einer 5% Serumalbuminlösung wurden nach Zusatz einer beiläufig 5% Essigsäure mit $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH titirt.

Titration mit Phenolphthalein = 6,15 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 6,15 »

Differenz = 0.

Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ.

V. Versuch.

30 ccm. einer 5% Eialbuminlösung,
 10 „ 1/4 Norm.-Essigsäure, deren Gehalt also 0,2992% war, und
 10 „ Aquae destillatae, je 5 ccm. von dieser Mischung werden
 titirt:

mit Phenolphthalein = 2,5 1/10 Norm.-NaOH.
 » Alizarin = 2,5 »

Differenz = 0.

2,5 ccm. 1/10 Norm.-NaOH ergibt einen Gehalt von 0,2995 gr. % Essigsäure. Wir erhalten somit den Werth für die Essigsäure bis auf den Unterschied von 0,0003 pro 100 ccm.

VI. Versuch.

30 ccm. einer 5% Eialbuminlösung,
 10 „ 1/4 Normal-Salzsäure, d. i. 0,9%
 10 „ Aquae destil.,
 der Gehalt an Salzsäure beträgt demnach 0,18 gr. %, je 5 ccm. dieser
 Mischung werden titirt:

mit Phenolphthalein = 2,85 ccm. 1/10 Norm.-NaOH.
 Alizarin = 2,6 »

Differenz = 0,25 ccm. 1/10 Norm.-NaOH,
 d. i. 0,018 gr. % locker geb. Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol — 2,3 ccm. 1/10 Norm.-NaOH, d. i.
 0,165 gr. % freier Salzsäure, also zusammen Salzsäure
 = 0,1836 gr. %.

Aus diesem Versuch geht hervor, dass wir die gesammte zugefügte Salzsäure wieder finden, jedoch ist die Gesamttacidität, die wir mittelst des Phenolphthaleins finden höher, u. z. um 0,3 ccm. einer 1/10-Normal-NaOH. Nachdem nach Zusatz von Essigsäure die Gesamttacidität nicht grösser wurde, als es der zugefügten Säure entsprach, wie wir aus dem Versuch V erschen, so müssen wir annehmen, dass durch Zusatz der Salzsäure aus den verwendeten Eiweisskörpern irgend welche sowohl auf Phenolphthalein wie auch auf Alizarin sauer wirkende Substanzen frei geworden sind. Auf die Natur derselben einzugehen, ist hier nicht der Ort. Für die Methode selbst hat dieser Umstand keine weitere Bedeutung. Denn wenn auch dasselbe bei Einfuhr von Eiweisskörpern in den Magen geschieht, so ist es für die Untersuchung irrelevant, ob die gefundene Gesamttacidität durch Factoren, die im Magen selbst sich

befinden, gegeben ist, oder durch Factoren, die erst aus den Eiweisskörpern durch Einwirkung der Salzsäure entstehen. Andererseits bestimmen auch Lüttke und Martius die Gesamttacidität mittelst Phenolphthalein und begehen somit denselben geringen Fehler.¹⁾

VII. Versuch.

30 cchem. einer 5% Eialbuminlösung,

10 » » $\frac{1}{4}$ Norm.-Salzsäure,

10 » » $\frac{1}{4}$ Norm.-Essigsäure.

In dieser Mischung befinden sich also 0,18 gr. % Salzsäure u. 0,2992 gr. % Essigsäure, je 5 cchem. werden titirt:

mit Phenolphthalein = 5,75 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 5,5 »

Differenz = 0,25 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

d. i. 0,118 gr. % locker gebundene Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol = 2,3 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH, d. i. 0,1656 gr. % freier Salzsäure, beträgt also zusammen Salzsäure = 0,1836 gr. %.

Auch hier erhalten wir für die Gesamttacidität einen grösseren Werth. Die Ursache dieser Erscheinung ist bereits im Versuch V und VI besprochen.

VIII. Versuch.

30 cchem. einer Serumalbuminlösung,

10 » » $\frac{1}{10}$ Norm.-Salzsäure,

10 » » $\frac{1}{10}$ Norm.-Essigsäure.

Gehalt an Salzsäure = 0,18 gr. %, an Essigsäure 0,2992 gr. %, je 5 cchem. von dieser Mischung titirt:

mit Phenolphthalein = 5,8 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH.

» Alizarin = 4,6

Differenz = 1,2 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0864 gr. % locker gebundene Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol = 1,35 cchem. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH, d. i. 0,0972 gr. % freier Salzsäure, zusammen also finden wir 0,1836 gr. % Salzsäure.

Auch hier ist die Gesamttacidität höher, als es den Werthen der zugefügten Säuren entsprechen sollte (vgl. Versuch V, VI, VII).

¹⁾ Es wird demnächst darüber Mittheilung gemacht werden, worauf sich diese Differenz bezieht.

Sämtliche Titrierungen der nachfolgenden Reihe wurden mit $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH ausgeführt.

1. Mageninhalt (Erbrochenes) 20 ccm., je 5 ccm. davon werden titriert:
mit Phenolphthalein = 0,55 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

» Alizarin = 0,55 »

Differenz = 0.

Gesamttacidität = 0,0396 ‰ in Salzsäure ausgedrückt. Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ.

Keine locker gebundene Salzsäure, keine freie Salzsäure. Nach Martius und Lüttke dasselbe Resultat.

2. Mageninhalt (Erbrochenes) 50 ccm., je 5 ccm. davon werden titriert:
mit Phenolphthalein = 1,3 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

» Alizerin = 0,6 »

Differenz = 0,7 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0504 ‰ locker gebundene Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol = 0,1 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0072 ‰ Salzsäure frei.

Nach Lüttke und Martius erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,0526 ‰, folglich mehr um 0,0022 ‰

freie Salzsäure = 0,0072 ‰.

3. Magenspülflüssigkeit 300 ccm., je 5 ccm. davon werden titriert:
mit Phenolphthalein = 1,5 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

» Alizarin = 0,8 »

Differenz = 0,75 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0504 ‰ locker gebundene Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol = 0,4 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0288 ‰ freier Salzsäure.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,0562 ‰, folglich mehr um 0,0058 ‰

freie Salzsäure = 0,029 ‰, » » 0,0002 ‰

4. Mageninhalt (Erbrochenes) 500 ccm., je 10 ccm. davon werden titriert:
mit Phenolphthalein = 8,0 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

» Alizarin = 5,0 »

Differenz = 3,0 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,108 ‰ locker gebundene Salzsäure.

mit Dimethylamidoazobenzol = Spuren unbestimmbar.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,133 ‰, folglich mehr um 0,025 ‰

5. Magenspülflüssigkeit 500 ccm., je 20 ccm. davon werden titriert:

mit Phenolphthalein = 4,7 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

Alizarin = 3,35

Differenz = 1,35 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0243% locker gebundene Salzsäure.

mit Dimethylamidoazobenzol = 1,75 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,0315% freier Salzsäure.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,133%, folglich mehr um 0,025%.

6. Mageninhalt (Erbrochenes) 20 ccm., je 5 ccm. davon werden titriert:

mit Phenolphthalein = 1,5 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

Alizarin = 1,1

Differenz = 0,4 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,288% locker gebundene Salzsäure.

Dimethylamidoazobenzol Reaction negativ.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,0248%, folglich weniger um 0,004%.

7. Mageninhalt (Erbrochenes), je 50 ccm. werden titriert:

mit Phenolphthalein = 11,1 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

Alizarin = 7,9

Differenz = 3,2 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,023% locker gebundene Salzsäure.

mit Dimethylamidoazobenzol negativ.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,0213%, folglich weniger um 0,0017%.

8. Mageninhalt (Erbrochenes), je 10 ccm. wurden titriert:

mit Phenolphthalein = 7,4 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

Alizarin = 2,9

Differenz = 4,5 ccm. $\frac{1}{10}$ Norm.-NaOH,

d. i. 0,162% locker gebundene Salzsäure.

Dimethylamidoazobenzol Reaction negativ.

Nach Martius und Lüttke erhielten wir:

locker gebundene Salzsäure = 0,165%, folglich mehr um 0,003%.

Aus den obigen Vergleichen der nach dieser Methode erhaltenen Resultate mit denen der Methode Martius und Lüttke gewonnenen ergeben sich Differenzen im Mittel von 0,006 gr. % und zwar waren unsere Werthe mit Ausnahme eines einzigen Falles (7) immer kleiner, als die mit der Methode-Martius und Lüttke erhaltenen.

Anordnung der Untersuchung.

Zu diesem Zwecke sind nothwendig:

1. Eine $\frac{1}{10}$ normale Natronlauge.
2. Eine 1% alkoholische Phenolphthaleinlösung.
3. Eine 1% wässrige Alizarinlösung (alizarinsulphonsaures Natron).
4. Eine 0,5% alkoholische Dimethylamidoazobenzol-lösung.

In drei Porzellanschälchen oder Bechergläsern werden je 5 oder je 10 ccm. des Mageninhaltes abgemessen. — Der ersten Portion setzt man 1—2 Tropfen der Phenolphthaleinlösung zu und titirt mit der Natronlauge. — Die Erfahrung hat gelehrt, dass man am besten thut, Natronlauge bis zur Austitrirung zuzusetzen, d. i., nicht bis zum Eintreten des ersten Roth, sondern bis zum ganz dunkeln Roth.

Wenn wir nämlich zu einer sauren Lösung Phenolphthalein zusetzen, erleidet dieselbe bekanntlich zunächst keine Farbenveränderung. Die beim Eintropfen der Natronlauge auftretende rothe Farbwolke verschwindet wieder, bis wir an einen Punkt gelangen, wo ein Farbumschlag der ganzen Flüssigkeit in Rosaroth plötzlich eintritt. Es ist nothwendig, darauf hinzuweisen, dass dieser Moment als Endreaction der Titirung nicht gemeint ist. Bei jedem weiteren Tropfen des Alkali tritt in der blassrothen Lösung eine dunkelrothe Farbwolke auf, die beim Umschütteln wieder verschwindet, wobei die Lösung allmählig einen immer dunkler werdenden Farbenton annimmt.

Endlich gelangt man zu dem Punkte, wo ein weiterer Zusatz des Alkali kein weiteres Dunkelwerden der intensiv dunkelrothen Farbe bewirkt¹⁾.

Dieser Moment ist als die Endreaction anzusehen.

¹⁾ Mit Rücksicht auf den geringen und stets gleichen Zusatz von Phenolphthalein ist die Endreaction von der Menge des Phenolphthaleins unabhängig.

Der zweiten Portion setzt man 3 bis 4 Tropfen der Alizarinlösung zu und titriert bis zum Auftreten der ersten reinviolettten Färbung. Zur Einübung dieser Titration ist es am besten, sich folgende Lösungen herzustellen:

1. 5 ccm. Wasser.
2. 5 ccm. Dinatriumphosphatlösung (1%).
3. 5 ccm. Natriumcarbonatlösung (1%).

Zu jeder setze man je 2—3 Tropfen der Alizarinlösung zu. Die erste Lösung wird dann gelb gefärbt sein, die zweite roth oder roth mit leichtem violetttem Stich, die dritte rein violett.

Diese letzte mit Natriumcarbonat erreichte Färbung ist diejenige, bis zu welcher wir bei der Titrirung unter Verwendung von Alizarin gehen müssen.

Bei einiger Übung ist das Umschlagen aus dem Roth (wie es bei der Dinatriumphosphatlösung der Fall ist) in das Violette leicht zu erkennen.

In das dritte Porzellanschälchen oder Bechergläschen setzen wir sodann 3—4 Tropfen der Dimethylamidoazobenzol-lösung zu. Entsteht gelbe Färbung, so ist keine freie Salzsäure vorhanden. — Ist rothe Färbung vorhanden, so setzen wir so lange Natronlauge zu, bis die letzte Spur von Roth verschwunden ist.

Die durch Titration unter Anwendung des Dimethylamidoazobenzol gefundene Grösse, stellt uns den Werth der freien Salzsäure dar.

Die Differenz zwischen den durch Titration bei Anwendung von Phenolphthalein und Alizarin erhaltenen Grössen stellt den Werth für die locker gebundene Salzsäure dar.

Der durch Titration unter Anwendung von Phenolphthalein erhaltene Werth gibt uns die Gesamtsäure an.

Wenn wir nun von dieser letzten Grösse die Werthe für die freie und locker gebundene Salz-

säure abziehen, so erhalten wir den Werth für die übrigen Säurefactoren, insbesondere organische und saure Salze¹⁾.

Zum Schluss sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Dr. Ernst Freund, an dieser Stelle meinen tiefgefühlten Dank für die Anregung und Förderung meiner Arbeit auszusprechen.

¹⁾ Bei Benutzung von $\frac{1}{10}$ Normal-Lösungen und Untersuchung von 10 ccm. Flüssigkeit erhält man bei Multiplikation mit 0,036 den percentualen Werth der einzelnen Aciditäten in gr. Salzsäure ausgedrückt.