

Die Alkaleszenz des Speichels.

Von

Ragnar Berg.

(Aus dem physiol.-chem. Laboratorium in Dr. Lahmanns Sanatorium
auf Weißer Hirsch, Dresden.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. November 1909.)

Unter dem Titel «Über Speichelbeschaffenheit und Zahnverderbnis» haben H. van der Molen und J. Offringa ¹⁾ eine Kritik der Arbeiten von Hofrat Dr. Röse über denselben Gegenstand veröffentlicht. Sie kommen zu dem Resultat, daß die für Röses Arbeiten grundlegende Methode der Bestimmung der Speichelalkaleszenz unter Verwendung eines neutralen Lackmuspapieres schon theoretisch vollständig falsch und daß deshalb alle Schlüsse, die dieser Verfasser darauf baut, irrtümlich seien.

Da ich als verantwortlich für die chemischen Arbeitsmethoden Röses zeichnen muß, hätte ich eigentlich gleich antworten müssen; mir fehlte jedoch die Zeit, und ich fand den Gegenstand ohnedies so klar, daß ich eine Erwiderung für überflüssig hielt. Gelegentlich einer anderen Arbeit mußte ich mich jedoch wieder mit der Frage beschäftigen und möchte deshalb jetzt folgende kleine Versuchsserie vorlegen.

Die Verfasser heben hervor, daß der Speichel als eine schwache Basen enthaltende Lösung nicht mit dem mehr indifferenten Lackmus, sondern mit dem stark sauren Methylorange titriert werden sollte, und dies um so mehr, da Speichel auch Kohlensäure enthält, die gegenüber Lackmus wie eine schwache Säure reagiert.

Um die Frage nach dem am meisten geeigneten Indikator zu beantworten, muß man sich erst klar machen, was im Speichel vorhanden sein kann. Von solchen Stoffen, die hier in Frage kommen, sind nachgewiesen worden: Salze organischer Säuren, Phosphate, Bicarbonate und organische Basen. Für vorliegenden Zweck (Alkaleszenz des Speichels als Schutz gegen cariesbildende Säuren, also Milchsäure) kommen selbstverständlich nur die Bicarbonate und die organischen Basen in Betracht; der beste Indikator wird also der sein, der am meisten von diesen Stoffen, am wenigsten andere Stoffe mitzutitrieren erlaubt. Gegenüber Lackmus reagieren beim Kochen (mit Lackmustinktur als Indikator) oder beim Verdunsten der Tröpfchen (bei der Tüpfelprobe) trotz Offringa und van der Molen Bicarbonate, freie organische Basen, $\frac{1}{3}$ der Di- und $\frac{1}{2}$ der Triphosphate als freie Basen, während bei der Verwendung

¹⁾ Biochemische Zeitschr. 1909, Bd. XV, S. 350.

von Methylorange als Indikator die Bicarbonate, die organischen Basen, $\frac{2}{3}$ der Tri- und $\frac{1}{2}$ der Diphosphate sowie alle Salze organischer Säuren mit anorganischen Basen als freie Basen bestimmt werden. Lackmus reagiert zwar nicht mit Anilin, wohl aber mit den meisten sonst bekannten, natürlichen organischen Basen, während Methylorange trotz seiner stark sauren Eigenschaften mit vielen der schwachen Basen nicht reagiert. Schon theoretisch kann also nur das Lackmus, nicht aber Methylorange in Frage kommen.

Was die praktische Seite der Frage betrifft, so veröffentlichen van der Molen und Offringa vergleichende Titrations von zwei Speichelproben unter Anwendung von Lackmuspapier und Methylorange als Indikatoren. Sie titrierten in 5 ccm Speichel bei

	mit Lackmuspapier:	mit Methylorange:
Probe A	0,6—0,9 ccm	1,1 ccm
„ B	0,4—0,7 „	1,0 „

und folgern daraus, daß Methylorange besser sei. Gleichzeitig geben sie an, daß die Titration infolge Undeutlichwerden des Farbumschlages nicht bei künstlichem Licht ausgeführt werden kann. Hieraus muß man schon entnehmen, daß die Verfasser nur geringe Übung in dieser Titration besitzen müssen: ich habe Tausende Titrations mit Methylorange bei Licht ausgeführt. Wahrscheinlich haben die Verfasser eine viel zu große Indikatormenge angewandt: für 5 ccm Speichel hätten sie höchstens einen einzigen Tropfen einer Lösung 1 : 1000 verwenden dürfen, damit sie einen scharfen und klaren Farbumschlag erhielten. Außerdem ist Methylorange eben eine so starke Säure, daß sie bei der Titration von derart geringen Mengen schon deshalb unbrauchbar wird, wenn man nicht die zum Farbumschlag der benutzten Indikatormenge nötige Menge Alkali besonders bestimmt.

Weiter aber hätten die Verfasser gemäß obigen theoretischen Ausführungen nachprüfen müssen, ob sie nicht in dem schon mit Hilfe von Lackmuspapier neutralisierten Speichel unter Verwendung von Methylorange hätten weiter titrieren können. Nach ihren eigenen Anschauungen müßte das möglich sein, und zwar hätten sie in Probe A noch 0,2—0,5 ccm, in B noch 0,3—0,6 ccm $\frac{n}{10}$ -HCl gebrauchen müssen, um die Zahlen der zweiten Versuchsserie zu erreichen. Schade, daß die Verfasser dies unterließen: sie hätten dann gefunden, daß sie noch weit mehr Säure zur Neutralisation verbraucht hätten, d. h. daß man mit Lackmus; nachher mit Methylorange als Indikator mehr Säure zur Neutralisation gebraucht, als bei ausschließlicher Verwendung von Methylorange — weil eben mit Methylorange außer den Basen noch die organischen Salze als freie Basen mittitriert werden, andererseits durch Lackmus mehr organische Basen als mit Methylorange erkannt werden können!

Als drastisches Beispiel diene folgende Versuchsserie:

140 ccm Speichel wurden mit 14 ccm 8%iger Kochsalzlösung

zwecks besserer Homogenisierung versetzt und sorgfältig gemischt, worauf gleich die nötigen Mengen abgemessen wurden.

1. 25 ccm wurden mit neutraler Lackmuslösung und $n/10$ -HCl lege artis titriert: verbraucht 2,83 ccm $n/10$ -HCl, entsprechend 11,32 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichelgemisch oder

12,452 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichel.

2. 25 ccm wurden mit neutralem Lackmuspapier lege artis titriert: verbraucht 2,83 ccm $n/10$ -HCl, entsprechend 11,32 ccm für 100 ccm Gemisch oder

12,452 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichel.

3. Probe 2 wurde dann mit 1 Tropfen Methylorangeflösung 1:1000 versetzt und mit $n/10$ -HCl zu Ende titriert. Verbrauch = 1,96 ccm $n/10$ -HCl, entsprechend 7,84 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Gemisch oder

8,624 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichel.

4. Zusammen wurde also beim Benutzen erst von Lackmus, dann von Methylorange als Indikator verbraucht:

21,076 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichel.

5. 25 ccm Speichelgemisch wurden direkt mit 1 Tropfen Methylorangeflösung versetzt und titriert. Verbrauch = 3,80 ccm $n/10$ -HCl, entsprechend 15,20 ccm für 100 ccm Gemisch oder

16,752 ccm $n/10$ -HCl für 100 ccm Speichel.

6. 25 ccm Speichelgemisch wurden auf dem Wasserbad verdunstet und vorsichtig über einer Spiritusflamme verascht. Die Asche wurde mit etwas heißem Wasser ausgelaugt, die Lösung durch ein kleines Filter (Aschengehalt 0,00004 g) gegossen, das Ungelöste durch Zusatz von 1 ccm $n/10$ -HCl in Lösung gebracht, ebenfalls durch das Filter gegossen, dieses dann verascht und die Asche zur Lösung gegeben. Nachdem alles bis auf etwas Kieselsäure aus dem Filter gelöst war, wurde die Lösung mit Lackmus versetzt und mit $n/10$ -HCl zu Ende titriert. Es wurden $1,0 + 1,51$ ccm $n/10$ -HCl verbraucht, entsprechend 10,04 ccm für 100 ccm Speichelgemisch oder

11,044 ccm $n/10$ -HCl für die Asche aus 100 ccm Speichel.

7. 25 ccm Speichelgemisch wurden genau wie in 6. behandelt, aber unter Verwendung von Methylorange als Indikator titriert. Es wurden $1,00 + 1,66$ ccm $n/10$ -HCl verbraucht, entsprechend 10,64 ccm für 100 ccm Gemisch oder

11,704 ccm $n/10$ -HCl für die Asche aus 100 ccm Speichel.

8. In 25 ccm Speichel wurde nach Ansäuern mit Essigsäure die präformierte Schwefelsäure mit Baryumchlorid gefällt, der Niederschlag abfiltriert und mit siedender, verdünnter Salzsäure ausgewaschen, wonach die Filtrate verdampft und wie oben verascht wurden. In der Asche wurde die aus organischem Schwefel stammende Schwefelsäure als Baryumsulfat bestimmt: 0,0007 g $BaSO_4 = 0,00024$ g SO_3 , entsprechend 0,96 mg SO_2 aus 100 ccm Gemisch oder 1,056 mg SO_3 aus 100 ccm

Speichel. Diese verlangen in der Asche auf Kosten der Carbonate Alkalien zur Neutralisation, und zwar entsprechend

0,264 ccm $\frac{n}{10}$ -HCl in der Asche aus 100 ccm Speichel.

Beim Veraschen haben wir folgende Umsetzungen zu erwarten: Die organischen Basen werden völlig zerstört. Aus dem organischen Schwefel wird etwas Schwefelsäure entstehen, die unter Austreibung der Kohlensäure mit den Carbonaten Sulfate bildet. Die Diphosphate gehen ebenfalls auf Kosten der Carbonate in Triphosphate über. Aus den Bicarbonaten entstehen Carbonate, ebenso geben die Salze organischer Säuren Carbonate.

Da alle anderen Aschenbestandteile sich gegenüber Lackmus und Methylorange gleich verhalten, wird eine Differenz bei der Aschentitration nur von den Phosphaten herrühren. Aus 6. und 7. können wir also die Menge der in der Asche vorhandenen Triphosphate berechnen:

$$\begin{aligned} \frac{2}{3}x - \frac{1}{2}x &= 11,704 - 11,044 = 0,66; \\ x &= 3,96. \end{aligned}$$

Die Phosphate entsprechen also 3,96 ccm $\frac{n}{10}$ -HCl, bei der Titration mit Lackmus erfordern sie **1,98** ccm, bei Verwendung von Methylorange **2,64** ccm $\frac{n}{10}$ -HCl.

Die entsprechenden Diphosphate im Speichel erfordern also mit Lackmus **1,320** ccm, mit Methylorange **1,980** ccm $\frac{n}{10}$ -HCl.

Beim Veraschen wird demnach durch den Übergang der Diphosphate in Triphosphate gegenüber Lackmus und Methylorange ebensoviel, nämlich 0,66 ccm $\frac{n}{10}$ -Alkali gebunden.

Die Asche erfordert also:

	Bei Methylorange	Bei Lackmus
Für Phosphate	2,640	1,980
» Carbonate	9,064	9,064
	<hr/> 11,704 ccm	<hr/> 11,044 ccm
Hierzu kommt noch organischer Schwefel	0,264 »	
	<hr/> 11,968 ccm	

Zieht man diese aus den im Speichel ursprünglich vorhandenen Salzen organischer Säuren, den Carbonaten und Phosphaten stammende Alkaleszenz von der bei der Titration mit Methylorange (5.) direkt im Speichel erhaltenen ab, so erhält man die Alkaleszenz der durch Methylorange erkannten organischen Basen; sie entspricht:

$$\begin{aligned} &16,752 \\ &- 11,968 \\ &\hline &4,784 \text{ ccm } \frac{n}{10}\text{-HCl.} \end{aligned}$$

Zieht man die bei der Titration mit Methylorange allein erhaltene von der mittels Lackmus und Methylorange titrierten Alkaleszenz ab, so erhält man die Alkaleszenz der **nur** durch Lackmus erkannten organischen Basen; sie entspricht:

21,076
 — 16,752
 4,324 ccm $n/10$ -HCl.

und die Gesamtmenge der Basen entspricht:

4,784

4,324

9,108 ccm $n/10$ -HCl.

wovon mittels Methylorange fast nur die Hälfte gefunden werden kann.

Daß anderseits tatsächlich der gesamte Gehalt des Speichels an überhaupt durch Titration erkennbaren, freien organischen Basen mittels Lackmus als Indikator titriert worden ist, geht aus folgender Überlegung hervor:

Wir kennen jetzt den Gehalt an organischen Basen und an Phosphaten; unbekannt ist der Gehalt an ursprünglich vorhandenen Bicarbonaten und an Salzen organischer Säuren. Berechnen wir die aus Bicarbonaten stammende Alkaleszenz als die Differenz zwischen der mittels Lackmus titrierten und der aus organischen Basen + Phosphaten stammenden Alkaleszenz und ziehen dann die durch die mittels Methylorange erkannten organischen Basen, durch Phosphate und Carbonate verursachte Alkaleszenz von der mittels Methylorange ermittelten ab, so stellt die Differenz die durch Salze organischer Säuren verursachte Alkaleszenz dar. Diese muß, wenn im Speichel keine nicht durch Lackmus, sondern nur durch Methylorange erkennbare organische Basen vorhanden sind, mit der aus der Asche mittels Methylorange titrierten und mit der Phosphatdifferenz und der durch organischen, zu Schwefelsäure verbrannten Schwefel vergrößerten, mit den aus Bicarbonaten stammenden Alkaleszenz verminderten Carbonatalkaleszenz übereinstimmen. Stimmen diese beiden überein, so hat man gleichzeitig die Gewisheit, daß der berechnete Gehalt an Salzen organischer Säuren und Bicarbonaten richtig ist und daß keine nur durch Methylorange titrierbare organische Basen vorhanden sein können.

Mittels Lackmus wurden titriert 12,452 ccm $n/10$ -HCl

Gesamtgehalt an organischen Basen . . . 9,108

Phosphate 1,320 = 10,428

Durch **Bicarbonat**e hervorgerufene Alkaleszenz 2,024 ccm $n/10$ -HCl

Mittels Methylorange wurden im Speichel titriert . . 16,750 ccm $n/10$ -HCl

titrierte Basen . . . 4,784

Bicarbonat 2,024

Phosphate 1,980 = 8,788

Durch **Salze organischer Säuren** hervor-

gerufene Alkaleszenz 7,962 ccm $n/10$ -HCl

Mittels Methylorange wurden in der Asche aus Carbonaten stammende Alkaleszenz gefunden	9,064 ccm n_{10} -HCl
Dazu kommt Phosphatdifferenz	0,660 „ „
Durch organischen Schwefel neutralisiert	0,264 „ „
Also mit Methylorange gefundene Carbonatalkaleszenz	9,988 ccm n_{10} -HCl
Aus Bicarbonaten stammende Alkaleszenz	2,024 „ „
Event. aus Salzen organ. Säuren stammende Alkaleszenz	7,964 ccm n_{10} -HCl
Oben wurde dafür berechnet	7,962 „ „
Differenz	0,002 ccm n_{10} -HCl

Die kleine Differenz stammt von Umrechnungsdifferenzen; also kommen im Speichel keine nur durch Methylorange, wohl aber nur durch Lackmus nachweisbare organische Basen vor.

Fassen wir die Resultate zusammen:

1. Die Alkaleszenz des vorliegenden Speichels setzt sich zusammen aus:

	Methylorange	Lackmus
Freien organischen Basen	4,784 ccm n_{10} -HCl	9,108 ccm n_{10} -HCl
Bicarbonaten	2,024 „ „	2,024 „ „
Phosphaten	1,980 „ „	1,320 „ „
Salzen organischer Säuren	7,962 „ „	0 „ „
Zusammen	16,750 ccm n_{10} -HCl	12,452 ccm n_{10} -HCl

2. Nur etwa die Hälfte der vorhandenen organischen Basen läßt sich mit Methylorange titrieren.

3. Die im Speichel enthaltenen Basen reagieren alle mit Lackmus.

4. Von der bei der Benutzung von Methylorange als Indikator gefundenen Alkaleszenz sind fast 70% als Schutz für die Zähne wertlos.

5. Von der bei der Benutzung von Lackmus als Indikator gefundenen Alkaleszenz sind nur etwa 10% als Schutz gegen Caries unbrauchbar.

6. Die Werte, die bei der Benutzung von Methylorange erhalten werden, sind also für die Beurteilung der Schutzkräfte des Speichels gegenüber cariesbildenden Säuren vollständig unbrauchbar.

7. Die Werte, die bei der Benutzung von Lackmus erhalten werden, geben ein fast absolut richtiges Bild über die Schutzkräfte des Speichels gegenüber cariesbildenden Säuren.

8. Die chemisch-experimentellen Grundlagen von Rösés Arbeit sind vollkommen richtig.

9. Die Speichelalkaleszenz wird etwa zu $\frac{1}{10}$ durch Diphosphate, zu $\frac{2}{10}$ durch Bicarbonate und zu $\frac{7}{10}$ durch organische Basen verursacht.

Die sonst von van der Molen und Offringa geäußerten theoretischen Bedenken gegen Rösés Arbeitsweise, die sich auf die physiologische Seite der Untersuchungen beziehen, sind genau so wertlos, wie die eben verhandelten; vielleicht werde ich in einer anderen Arbeit darauf zurückkommen.