

# Ueber die Anwendung der Colorimetrie zur quantitativen Bestimmung der Pikrinsäure in ihren Verbindungen mit organischen Basen.

Von

**Dr. L. Kutusow** aus St. Petersburg.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaction zugegangen am 22. Juni 1894.)

Bei den Untersuchungen über das Auftreten von basischen Producten unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen, besonders im Laufe der Forschungen über die Ptomaine, steht der Experimentator häufig vor der Aufgabe: aus den geringsten Substanzmengen die Natur der Basen zu erkennen. Die Erweiterung unserer Kenntnisse auf diesem wichtigen Gebiete ist im Wesentlichen von der Ausbildung unserer Methoden abhängig. Es ist für den Fortschritt durchaus notwendig, dass wir in den Besitz von Untersuchungsmitteln gelangen, welche auch dem Kliniker gestatten, im gegebenen Falle die Ptomaine zu erkennen und ihre Identität nachzuweisen.

Es ist meine Absicht, durch diese Publikation auf eine Methode aufmerksam zu machen, welche bei den Untersuchungen über die Ptomaine bisher keine Anwendung gefunden hat, welche aber doch mit geringen Mengen und ohne Substanzverlust ziemlich genaue Bestimmungen auszuführen gestattet.

Bekanntlich hat man für die Darstellung und Charakterisirung der Ptomaine sehr häufig die pikrinsauren Salze angewendet, weil diese sich durch Krystallisationsvermögen und Schwerlöslichkeit auszeichnen. Wenn es gelingt, in einem derartigen Salz die Bestimmung der Pikrinsäure auszuführen,

so ist es in manchen Fällen schon auf Grund dieser einzigen Bestimmung möglich, die Identität der Base nachzuweisen. Herr Prof. Kossel schlug mir vor, die quantitative Bestimmung der Pikrinsäure auf colorimetrischem Wege auszuführen und die Brauchbarkeit dieses Verfahrens an reinen Substanzen festzustellen.

Ich führte die Bestimmung mit zwei verschiedenen Apparaten aus, erstens mit der von Hoppe-Seyler beschriebenen colorimetrischen Doppelpipette<sup>1)</sup> mit Glaswürfel von Albrecht in Tübingen und zweitens mit Hülfe eines Hüfner'schen Spectrophotometers. Die Anwendung des ersteren Apparates wurde von mir besonders deshalb in Betracht gezogen, weil er seines geringeren Preises wegen allgemeiner zugänglich ist.

Die Bestimmung wurde mit Hülfe des ersteren Apparates in der Weise vorgenommen, dass die Farbe der zu untersuchenden Substanz in einer Lösung von genau bekanntem Gehalt mit der einer Lösung Trinitrophenols 1:10,000 verglichen wurde. Dann setzte ich zu der stärker gefärbten Lösung unter fortwährender Controlle mit dem Colorimeter so lange Wasser aus einer Bürette hinzu, bis die Farbe und Lichtintensität beider Proben gleich zu werden anfangen. Die Menge des zugesetzten Wassers wurde notirt, und die Verdünnung bis zu dem Momente fortgesetzt, wo die verdünnte Probe schwächer gefärbt zu sein anfang, wobei die verbrauchte Wasserquantität gleichfalls notirt wurde. Die Abweichungen der verschiedenen Versuche unter einander sind sehr bedeutend, trotzdem stimmte der aus mehreren Versuchen nach genügender Übung gezogene Mittelwerth ziemlich gut mit der berechnenden Zahl überein.

1. Es wurde eine Lösung von 1,003 gr. Ammoniumpikrat in 93,3 ccm. bereitet, davon wurden genau 10 ccm. auf 500 verdünnt und nach obigem Verfahren mit der concentrirten Lösung verglichen. Die Menge der angewandten concentrirten Lösung wurde in ccm. beim ersten Versuche = 10,24, beim zweiten = 9,798, beim dritten = 10,00, beim vierten = 10,02 gefunden; im Mittel also = 10,03 ccm.

<sup>1)</sup> Handb., 6. Auflage, S. 413.



- II. Von der Lösung des Natriumpikrats (gleichfalls 1 Theil Pikrinsäure in 100 Theilen Wasser enthaltend) wurden a) 10 ccm. genommen und diese auf 250 ccm. mit Wasser verdünnt, — gefunden wurden: 1. 10,00 ccm., 2. 10,42, 3. 10,06, 4. 9,82, 5. 9,78; — im Mittel 10,016 ccm. b) Von derselben Lösung wurden 2,4 auf 500 bereitet und aus 7 Versuchen im Mittel 2,435 gefunden.
- III. 0,0345 gr. Cadaverinpikrats wurden in 100 Wasser gelöst. Gefunden wurde die darin enthaltene Menge Trinitrophenols: 1. 0,027 oder 78,2%, 2. 0,0295 oder 85,5%, 3. 0,0295 oder 85,5%, 4. 0,0285 oder 82,3%, 5. 0,02875 oder 83%; im Mittel also 82,2%, berechnet für  $C_5H_{11}N_2(C_6H_2(NO_2)_3OH)_2$  81,77%.
- IV. In der Lösung von 0,056 gr. Putrescinpikrats in 100 Wasser wurden gefunden: 1. 0,0405 oder 81%, 2. 0,0415 oder 83%, 3. 0,0425 oder 85%, 4. 0,0412 oder 82,4%, im Mittel 82,8%, berechnet 83,8%.
- V. In der Lösung von 0,3596 gr. Pyridinpikrats in 250 ccm. Wasser wurden gefunden: 1. 73,69%, 2. 74,39%, 3. 75,08% und 4. 74,43%; im Mittel 74,4%, berechnet 74,348%.

Genauere Zahlen erhält man mit Hilfe des Hüfnerschen Polarisationspectrophotometers. Leider war aber das mir zur Verfügung stehende Instrument von ziemlich alter Construction, welche all die Vorzüge dieses Apparates auszunutzen hinderte. Deswegen konnte ich nur vorläufige Proben machen und musste mich damit begnügen, in einigen Beispielen die Anwendbarkeit der Methode festzustellen. In der Spectralregion von F 45 G — F 55 G wurden folgende Bestimmungen ausgeführt. Ich habe niemals weniger als 12, gewöhnlich 20 Ablesungen gemacht; überall ist das Mittel angegeben.

- I. Reine Pikrinsäurelösung 1:10,000. Der Extinctionscoefficient schwankte unter den angenommenen Versuchsbedingungen zwischen 0,41246 und 0,43050, woraus für das Absorptionsverhältniss die Zahl 0,00234 berechnet wurde.
- II. Trinitrophenollösung enthält in 1 ccm. — 0,0002646 gr., der Extinctionscoefficient ist zwischen 1,12198 und 1,19404, woraus sich das Absorptionsverhältniss gleich 0,002287 ergibt. Im Mittel konnte für unveränderte Versuchsbedingungen das Absorptionsverhältniss gleich 0,0023 angenommen werden.
- III. Die Lösung von Pyridinpikrat enthält in 1 ccm. — 0,0014344 gr. a) Der Extinctionscoefficient beträgt 0,45718, der Gehalt an Pikrinsäure — 0,0010698 oder 74,65%, berechnet 74,35; b) der Extinctionscoefficient = 0,41986, der Gehalt = 0,0010657 gr. oder 74,36%.

IV. Die Putrescinpikratlösung enthält in 1 cem. 0,0002, der Extinctionscoefficient beträgt 0,76454, der Gehalt an Trinitrophenol 0,0016684 gr. oder 83,42<sup>o</sup>/<sub>10</sub>, berechnet 83,88<sup>o</sup>/<sub>10</sub>.

Aus diesen Beispielen kann man sehen, dass auch für stark verdünnte Lösungen die Methode vollkommen anwendbar ist. Die geringe Löslichkeit der Ptomainpikrate im Wasser reicht also für diese Untersuchungen vollkommen aus. Die untere Grenze für die anzuwendende Substanzmenge ist also durch die Wägefehler, nicht durch die colorimetrische Methode gegeben.

Selbstverständlich können mit anderen Farbsäuren oder mit Hilfe basischer gefärbter Stoffe ähnliche Bestimmungen zur Erkennung von Basen oder Säuren ausgeführt werden.

Zum Schlusse fühle ich mich noch verpflichtet, meinen herzlichsten Dank dem Herrn Prof. Kossel für die Anregung und für die lebenswürdige Unterstützung bei Ausführung dieser Arbeit, sowie seinem Assistenten Herrn Dr. Krüger für die Hülfe mit Rath und That auszusprechen.