

Ueber die quantitative Bestimmung des Harnindikans.

Von

Dr. Eyvin Wang,

Erster Assistent der pädiatrischen Universitätsklinik in Kristiania.

Vorläufige Mittheilung.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität in Kristiania.)

(Der Redaction zugegangen am 11. Juni 1898.)

Die früheren Methoden für quantitative Bestimmung des Harnindikans sind entweder so umständlich, dass sie sich nicht leicht gebrauchen lassen, oder sie geben Resultate, die nicht vollständig genau sind. Man hat sich daher meistentheils damit begnügt, die Indikanmenge nur schätzungsweise festzustellen.

Um eine vollständige Kenntniss der Indikanurie zu gewinnen, ist es aber nothwendig, mit einer genauen und zu gleicher Zeit nicht zu schwer ausführbaren Methode zur quantitativen Bestimmung zu arbeiten.

Bei Untersuchungen über Indikanurie habe ich mich schon längere Zeit des unten beschriebenen Verfahrens bedient, das fast überall anwendbar ist und, wie mir zahlreiche Parallel- und Kontrollanalysen gezeigt haben, äusserst genaue Resultate liefert. Ausführliche Belege werde ich in einer folgenden Mittheilung bringen.

Die Methode besteht in der Ueberführung der gesammten Indikanmenge in Indigo nach dem Verfahren von Obermayer, weiter in Indigosulfosäure und titrimetrische Bestimmung dieser durch Kaliumpermanganatlösung.

Die Bestimmung wird in folgender Weise ausgeführt:

1. Der Harn wird mit einer 20%igen Lösung von Bleizucker gefällt.

2. Das klare Filtrat wird mit dem gleichen Volumen von Obermayer's Reagens im Scheidetrichter versetzt.

3. Das Gemisch wird mit Chloroform so oft ausgeschüttelt (jedesmal etwa 1 Minute), bis das Chloroformextract sich farblos zeigt; die Auszüge werden in einem kleinen Glaskolben gesammelt.

4. Das Chloroform wird abdestillirt und der Rückstand einige Minuten auf dem Wasserbade getrocknet, dann 3—4 ccm. concentrirte Schwefelsäure zugesetzt.

5. Nach etwa 24 Stunden wird der Kolbeninhalt in ca. 100 ccm. kaltes Wasser hineingegossen und der Kolben nachher mit Wasser ausgespült.

6. Titrirung mit Kaliumpermanganatlösung.

Der gegebenen Beschreibung möchte ich folgende Bemerkung anknüpfen:

Ad. 1. Die Harnmenge, welche zweckmässig in Arbeit genommen wird, ist natürlich von dem Indikangehalt abhängig.

Gewöhnlich habe ich von normalem Menschenharn 300 ccm. als die geeignete Quantität befunden.

Die Bleizuckerlösung wird am besten portionsweise zugesetzt; in den meisten Fällen werden schon etwa 25—50 ccm. genügen.

Um keine zu grosse Indikanmenge in Bearbeitung zu bekommen, empfiehlt es sich, eine qualitative Vorprüfung in der Eprouvette zu machen.

Wird der Harn als sehr indikanreich befunden, so werden kleinere Harnquantitäten abgemessen, bis zu 50 oder 25 ccm.

Ad. 2. Vom Filtrate habe ich gewöhnlich 250 ccm. genommen.

Obermayer's Reagens besteht bekanntlich aus concentrirter Salzsäure (spec. Gew. 1,19) mit ca. 2 gr. Eisenchlorid pro Liter Säure versetzt. Weniger als das gleiche Volumen darf nicht angewendet werden.

Ad. 3. In den meisten Fällen werden 2 oder 3 Chloroformausschüttelungen (jedes Mal mit etwa 30 ccm.) genügen, um die ganze Indikanmenge zu extrahiren.

Bei zu grosser Quantität eines sehr indikanreichen Harnes

sieht man oft beim Ausschütteln das Indigoblau sich krystallinisch, auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmend, ausscheiden. In derartigen Fällen thut man besser, die Analyse mit einer neuen, bedeutend kleineren Harnportion von Neuem zu beginnen.

Nach dem Schütteln muss man für ein vollständiges Absetzen des Chloroforms Sorge tragen und genau darauf achten, dass keine Verunreinigungen in das Chloroformextract übergehen.

Ad. 4. Nach dem Abdestilliren des Chloroforms habe ich es als praktisch befunden, den kleinen Kolben einige Minuten auf dem Wasserbade liegen zu lassen, um alle Chloroformdämpfe zu entfernen.

Schon während der Kolben noch warm ist, wird concentrirte Schwefelsäure (spec. Gew. 1,84) zugesetzt und vorsichtig geschüttelt, bis der Rückstand vollständig gelöst ist.

Ad. 5. Die Schwefelsäurelösung muss zu einer verhältnissmässig grossen Portion Wasser ganz vorsichtig zugesetzt werden, und nicht umgekehrt, sonst kann man leicht den Indigo, statt in Lösung, in feinen Flocken bekommen, wodurch die Titrirung unmöglich wird. Selten wird man statt einer schönen blauen, klaren eine mehr oder weniger schmutzig grüne Lösung erhalten. In diesen Fällen setzt sich nach mehrstündigem Stehen eine flockige braune Ausscheidung ab, während die Lösung die rein blaue Farbe annimmt. Nach dem Abfiltriren des Bodensatzes und dem Auswaschen des Filters mit heissem Wasser ist die Lösung zum Titriren geeignet.

Ad. 6. Die Titrirung habe ich immer mit einer stark verdünnten Lösung von Kaliumpermanganat ausgeführt. Nach den Untersuchungen von O. Miller¹⁾ verläuft die Oxydation nach folgender Gleichung: $5 \text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2 + 4 \text{KMnO}_4 + 6 \text{H}_2\text{SO}_4 = 5 \text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4 + 2 \text{K}_2\text{SO}_4 + 4 \text{MnSO}_4 + 6 \text{H}_2\text{O}$. Titrirungsversuche mit einer Lösung von bekanntem Gehalt an (aus reinem Indigotin dargestelltem) Indigo haben mir die Richtigkeit dieser Auffassung erwiesen.

Die Permanganatlösung wird auf Oxalsäure gestellt und die Indigomenge einfach durch Multiplication des Oxalsäure-

1) Ref. in Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXV, 1892. S. 919c.

werthes der Titirlösung mit 1,04 gefunden. Das Permanganat halte ich in concentrirter Lösung (ca. 3 gr. in 1 l. Wasser) vorrätzig und stelle aus derselben für jede Titirung eine frische Verdünnung (5 ccm. in 195 ccm. Wasser) dar. Die Stammlösung, in brauner oder blauer Flasche mit Glasstöpsel an einer dunklen Stelle aufbewahrt, ändert ihren Titer Monate lang nicht.

Die Titirung wird am besten im Becherglase unter raschem Umrühren bewerkstelligt. Anfangs ändert sich die blaue Farbe nur wenig, um später grünlich zu werden; wenn die grüne Farbe vollständig verschwunden ist, so ist die Titirung beendet. Die Flüssigkeit zeigt sich dann gelblich bis ganz farblos — nicht roth. Der Farbenübergang ist meistens ganz deutlich, die Titirung erfordert aber trotzdem etwas Uebung. Die Indigolösung soll so weit verdünnt werden, dass sie schön blau, durchsichtig aussieht. Die besten Erfolge erzielt man beim Verbrauch von etwa 10—15 ccm. verdünnter Permanganatlösung.

Zur Illustration der Berechnung mögen folgende Beispiele angeführt werden:

Nr. 1. Permanganatlösung: ca. 3 gr. in 1 l. Wasser.

1 ccm. = 0,00596 gr. Oxalsäure

= 0,0062 gr. Indigo.

Verdünnung 5 : 200, 1 ccm. = 0,00015 gr. Indigo.

Harnmenge 1780 ccm. sp. Gew. 1,015.

300 ccm. Harn mit 25 ccm. Bleizuckerlösung gefällt.

250 ccm. Filtrat + 250 ccm. Obermayer's Reagens

2 Mal mit Chloroform extrahirt,

Chloroformextract hell, blau,

die wässerige Lösung hellblau, klar.

Bei der Titirung verbraucht:

4,3 ccm. Permanganat = 0,00065 gr. Indigo

250 : 0,00065 = 325 : x

x = 1,3 × 0,00065 = 0,000845 gr. Indigo in 300 ccm. Harn.

Also $\frac{1780}{300} = 5,93 \times 0,000845$

= 0,005 gr. Indigo pro Tag.

Nr. 2. Permanganatlösung: ca. 3 gr. in 1 l. Wasser.

1 ccm. = 0,0054 gr. Oxalsäure

= 0,0056 gr. Indigo.

Verdünnung 5 : 200, 1 ccm. = 0,00014 gr. Indigo.

Harnmenge 560 ccm. sp. Gew. 1,023 (sehr indikanreich)

50 ccm. Harn mit 15 ccm. Bleizuckerlösung gefällt.

10 ccm. Filtrat + 90 ccm. Wasser + 100 ccm. Obermayer's Reagens

6 Mal mit Chloroform extrahirt,

Chloroformextract dunkelblau,

die wässerige Lösung dunkelblau, klar.

Bei der Titrirung verbraucht:

24,0 ccm, Permanganat = 0,00336 gr. Indigo,

also 0,2446 gr. Indigo pro Tag.

Nach dieser Methode habe ich im Laufe des letzten Jahres etwa 1200 quantitative Indikanbestimmungen ausgeführt, um die physiologische und pathologische Indikanurie zu studiren, und werde die Resultate demnächst publiciren.

Kristiania, den 9. Juni 1898.
