

Weiteres über die quantitative Bestimmung des Harnindikans.

Von
Eyvin Wang.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität zu Kristiania.)

(Der Redaction zugegangen am 21. Februar 1899.)

In einer vorläufigen in dieser Zeitschrift veröffentlichten Mittheilung¹⁾ habe ich eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Harnindikans beschrieben.

Diese Methode beruht darauf, dass indoxylschwefelsaures Kalium durch concentrirte Salzsäure gespalten, das frei gemachte Indoxyl durch Eisenchlorid oxydirt und der gebildete Indigo in statu nascendi mit Chloroform extrahirt wird; nach dem Abdestilliren des Chloroforms wird der Indigo durch concentrirte Schwefelsäure in Indigosulfosäure übergeführt, um schliesslich im Wasser gelöst mit Kaliumpermanganat titrimetrisch bestimmt zu werden.

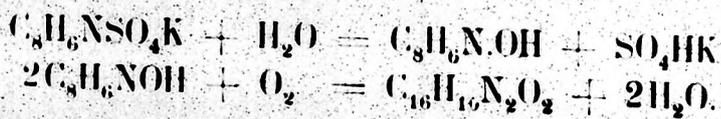
Parallelanalysen nach dieser Methode stimmten unter einander sehr befriedigend:

Pro 250 ccm. Harn		Pro Tag	
a	b	a	b
2,89 mgr.	2,77 mgr.	15,5 mgr.	15,1 mgr.
5,53 »	5,47 »	53,5 »	53,0 »
0,98 »	0,88 »	5,9 »	5,3 »
2,70 »	2,76 »	10,8 »	11,0 »
1,41 »	1,40 »	7,60 »	7,55 »
1,08 »	1,06 »	6,16 »	6,04 »
0,75 »	0,57 »	10,4 »	7,9 »
1,18 »	1,22 »	7,9 »	8,2 »
1,52 »	1,56 »	15,2 »	15,6 »
1,78 »	1,84 »	25,3 »	26,1 »

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 406.

Um einwandfreie Kontrollanalysen ausführen zu können, habe ich öfters indoxylschwefelsaures Kalium darzustellen versucht. Zu diesem Zwecke habe ich theils grosse Quantitäten indikanreichen Menschenharn (etwa 20 l. bei jedem Versuche) und theils Kaninchenharn bearbeitet: letzterer war durch Fütterung mit Orthonitrophenylpropionsäure sehr indikanreich gemacht worden. (Zwei Kaninchen bekamen im Laufe einer Woche etwa 20 gr.) Die Harnen wurden nach den von Baumann¹⁾ und G. Hoppe-Seyler²⁾ angegebenen Methoden behandelt, ohne dass es mir gelungen wäre, weiter als zu einem sehr indikanreichen Alkoholextract zu kommen, welches zwar keine Sulfatschwefelsäure, jedoch, wie aus dem Folgenden erhellt, viel mehr Aetherschwefelsäure enthielt, als der vorhandenen Menge Indigo entsprechen würde.

Das Alkoholextract aus Kaninchenharn wurde auf dem Wasserbade bis zum Trocknen eingedampft und im Wasser gelöst. Ein Theil dieser wässrigen Lösung wurde zur Aetherschwefelsäurebestimmung verwendet: als BaSO₄ wurde 0,0082 gr. gefunden, was 0,00883 gr. C₈H₆NSO₄K entspricht. Letzteres setzt sich nach Baumann und Brieger³⁾ folgender Weise in Indigo um:



Die berechnete Menge indoxylschwefelsaures Kalium (0,00883 gr.) entspricht also 0,0046 gr. Indigo. In einem gleich grossen Quantum wässriger Lösung wurde aber die Indigomenge durch Titirung nur zu 0,00288 gr. gefunden.

Dieselbe Untersuchung des Alkoholextractes aus Menschenharn gab ein ähnliches Resultat:

Aetherschwefelsäure als BaSO₄ = 0,0168 gr., 0,00944 gr. Indigo entsprechend. Bei Titirung wurde aber nur 0,0076 gr. Indigo gefunden.

Ausserdem habe ich die synthetische Darstellung des in-

1) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 255.

2) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 423.

3) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 258.

oxydschwefelsauren Kaliums nach Thesen⁴⁾ aus Phenyl-o-carbonsäure und pyroschwefelsaurem Kalium versucht, jedoch mit negativem Resultat.

In Ermangelung reiner Substanz musste ich mich zur Ausführung von Kontrollanalysen mit den indikanreichen Harn-extracten begnügen, Analysen, die, wie aus Folgendem hervorgeht, gut übereinstimmende Resultate lieferten:

I. 50 ccm. Extract wurden auf dem Wasserbade getrocknet und in 250 ccm. Wasser gelöst: gefunden 7,5 mgr. Indigo.

Die gleiche Menge in 250 ccm. indikanfreiem Harn gelöst: gefunden 7,4 mgr.

II. Der Indigogehalt eines normalen Harnes und eines indikanhaltigen Extractes wurden getrennt bestimmt:

250 ccm. Harn enthielten 3,52 mgr. Indigo

50 „ Extract „ 0,53 „

In einer Mischung von 150 ccm. Harn + 100 ccm. Extract wurde gefunden: 3,24 mgr. Indigo

berechnet: 3,17

Diese Versuche und die oben angeführten Parallelanalysen gestatten scheinbar den Schluss, dass die Methode zuverlässig ist. Weitere Untersuchungen haben mir indessen gezeigt, dass dies nicht immer der Fall ist.

Zur Erlangung genauer Resultate ist es vor Allem notwendig, dass in das Chloroform keine Harnbestandtheile übergehen, welche in concentrirter Schwefelsäure löslich sind oder mit derselben Verbindungen geben, die auf die Titrirung störend einwirken. Derartige Beimengungen können aber in dem eingetrockneten Chloroformextract in der That nachgewiesen werden. Die nach oben erwähnter Methode zur Titrirung fertige Lösung, die nur Indigosulfosäure enthalten sollte, besitzt nämlich noch nicht die rein blaue Farbe einer aus reinem Indigotin dargestellten gleichwerthigen Lösung und die Titration gibt dementsprechend höhere Resultate wie colorimetrische Parallelbestimmungen. Um die genannten Beimengungen zu entfernen,

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 23.

ist es daher nothwendig, das Chloroformextract noch einer weiteren Reinigung zu unterwerfen, nämlich Waschen mit Aetheralkoholwasser, dann erst Lösen in Schwefelsäure und endlich Filtrirung der wässerigen Indigosulfosäure. Ich werde nachstehend die Motivirung und Beschreibung dieses Reinigungsverfahrens geben:

Durch Behandlung des getrockneten Chloroformrückstandes, der im Kolben neben abgesetztem Indigoblau einen rothbraunen Belag bildet, mit einer Mischung von Aether, Alkohol (96°) und Wasser zu gleichen Volumtheilen werden die rothbraunen Antheile sehr leicht gelöst (sind demnach wohl nicht als Indigofarbstoffe anzusehen). Der Indigo bleibt ungelöst und die braune Lösung wird — um suspendirte Indigopartikelchen nicht zu verlieren — durch ein kleines Filter abgossen. Das Filter wird nach dem Trocknen mit Chloroform mehrmals ausgekocht, das Chloroform — um Papierfasern zurückzuhalten — wieder in den Indigokolben hineinfltrirt und abdestillirt. Nach Zusatz von concentrirter Schwefelsäure und Auflösung in Wasser resultirt eine schön blaue, jetzt rein indigofarbene Flüssigkeit, die aber noch nicht vollständig von fremden Körpern befreit ist. Zuweilen sind nämlich in der klaren Flüssigkeit kleine, glänzende, anscheinend krystallinische Blättchen oder Schuppen wahrnehmbar. Deshalb wird filtrirt und dann erst ist die Lösung zum Titriren geeignet. Die Titriranalysen und colorimetrischen Bestimmungen geben jetzt, wie die folgende Tabelle zeigt, identische Zahlen:

Harmmenge	Titrimetrisch	Colorimetrisch
530 ccm.	3,04 mgr. Indigo	2,91 mgr. Indigo
720 „	1,26 „	1,23 „
750 „	0,69 „	0,70 „
640 „	0,79 „	0,77 „
290 „	3,59 „	3,51 „
440 „	1,72 „	1,79 „
1620 „	4,17 „	4,70 „
600 „	0,82 „	0,81 „
800 „	3,76 „	3,65 „
600 „	0,70 „	0,72 „

Während ich mit diesen Untersuchungen beschäftigt war, habe ich aus den Bemerkungen des Herrn Dr. Obermayer

zu meiner vorläufigen Mittheilung¹⁾ erfahren, dass genannter Autor mit mir gleichzeitig mit der Bestimmung des Harnindikans gearbeitet hat, und dass wir beide denselben Weg eingeschlagen haben. Die Nothwendigkeit einer Befreiung des Chloroformresiduumms von fremden Beimengungen ist Obermayer nicht entgangen. Zu diesem Zwecke wäscht er den Rückstand mit 45^o oigem Alkohol. Eine derartige Alkoholbehandlung dürfte jedoch zur vollständigen Entfernung der Verunreinigungen nicht genügen. Der nach Obermayer mit Alkohol ausgewaschene Rückstand gibt nämlich noch an die von mir verwendete Mischung von Aether, Alkohol und Wasser Substanzen ab, die in Schwefelsäure gelöst auf Kaliumpermanganat reducierend wirken. Es werden daher — wie aus folgenden Parallelyersuchen hervorgeht — noch zu hohe Indigozahlen erhalten.

a) Reinigung mit Alkohol		b) Reinigung mit Aether-Alkohol-Wasser	
Titrimetrisch	Colorimetrisch	Titrimetrisch	Colorimetrisch
0,465 mgr.	0,350 mgr.	0,350 mgr.	0,368 mgr.
0,435 »	0,368 »	0,360 »	0,375 »
0,510 »	0,288 »	0,290 »	0,308 »
0,390 »	0,240 »	0,220 »	0,212 »
0,310 »	0,192 »	0,190 »	0,182 »

Dass die Alkoholbehandlung nicht zur vollständigen Reinigung genügt, wird eigentlich von Obermayer selbst angedeutet. Es heisst nämlich in seiner vorläufigen Mittheilung:¹⁾

Beim Zugiessen der Schwefelsäure wird der Rückstand zunächst braun», und ferner: «Die zu titirende Flüssigkeit darf nur leicht getrübt sein». — Reines Indigotin gibt aber mit concentrirter Schwefelsäure zuerst eine grüne Farbe und die Lösung von reiner Indigosulfosäure ist nie getrübt.

Eine genaue Bestimmung des Harnindikans wird man also nach folgendem Verfahren erzielen:

1. Der Harn wird mit 20^o/oiger Bleizuckerlösung gefällt.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 427.

¹⁾ Wiener klin. Rundschau, 1898, Nr. 34, S. 537.

2. Das klare Filtrat wird mit dem gleichen Volumen von Obermayer's Reagens im Scheidetrichter versetzt, das gebildete Indigo mit Chloroform extrahirt und in einen Kolben gesammelt.

3. Das Chloroform wird abdestillirt und der Rückstand nach Erkalten mit einer Mischung von gleichen Raumtheilen Aether, Alkohol und Wasser ausgewaschen. Die in der Waschflüssigkeit aufgeschwemmten Indigotheilchen werden auf einem kleinen Filter gesammelt und das Filtrum getrocknet.

4. Das getrocknete Filtrum wird mit Chloroform ausgekocht, bis sich alles Indigo gelöst hat. Diese Indigolösung wieder in den Kolben hineinfltrirt.

5. Nochmals Abdestilliren des Chloroforms und Zusatz von concentrirter Schwefelsäure.

6. Nach Verlauf einiger Stunden Verdünnung mit Wasser, Filtration und Titrirung.

Kristiania, den 17. Februar 1899.