

Über eine neue Indikan-Reaktion.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem Laboratorium von Dr. M. und Prof. Dr. Ad. Jolles in Wien.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. Aug. 1913.)

Bekanntlich geben jodidhaltige Harnen beim Nachweis des Indikans (Indoxylschwefelsäure $C_8H_6N \cdot O \cdot SO_2OH$) nach den Methoden von Jaffé (konzentrierte Salzsäure und Chlorkalklösung), Obermayer (eisenchloridhaltige, rauchende Salzsäure), Salkowski (konzentrierte Salzsäure und Kupfersulfat) statt der Blaufärbung nach dem Ausschütteln mit Chloroform eine von ausgeschiedenem Jod herrühende Violettfärbung.

Eine ganz ähnliche Reaktion erhält man nun auch bei jodfreien Harnen, denen zur Konservierung Thymol zugesetzt wurde, jedoch mit dem Unterschiede, daß, während die von Jod herrührende Violettfärbung beim Schütteln der vom Harn abgetrennten Chloroformschicht mit Natriumthiosulfat oder verdünnter Lauge der normalen Indigofärbung Platz macht, die im Falle des thymolhaltigen Harnes violett gefärbte Chloroformschicht (genügenden Thymolzusatz vorausgesetzt) bei der gleichen Behandlung, ja bereits beim Schütteln mit Wasser, eine braungelbe bis braunrote Farbe annimmt, die bei Behandlung mit konzentrierter Salzsäure wieder in die violette Farbe umschlägt.

Bei Verwendung einer konzentrierten Lauge wird der Farbstoff der Chloroformlösung entzogen, die Lauge färbt sich grün, und beim Behandeln mit konzentrierter Salzsäure bildet sich der violette Farbstoff zurück, der wieder mit Chloroform ausgeschüttelt werden kann.

Da nun einerseits Thymol ohne Harn die Reaktion nicht gibt und andererseits, wie aus den letzterwähnten Beobachtungen

hervorgeht, bei den genannten Indikanreaktionen in einem genügend viel Thymol enthaltenden Harn überhaupt kein Indigo gebildet wird, muß angenommen werden, daß das Thymol mit dem indoxylschwefelsauren Kali resp. mit dem daraus durch Salzsäureeinwirkung gebildeten Indoxyl bei gleichzeitiger Einwirkung eines oxydierenden Agens in stark saurem Medium sich zu einer violett gefärbten, durch Wasser entfärbten Substanz vereinigt, oder mit anderen Worten, daß die bei den Indikanproben bei vorherigem Thymolzusatz zum Harn auftretende Violettfärbung eine neue Indikanreaktion darstellt, die, wie hier gleich erwähnt werden soll, ungleich empfindlicher ist, als alle bisher in Vorschlag gebrachten Indikanproben. Eine Bekräftigung erfuhr diese meine Auffassung dadurch, daß bei Pferdeharn, der bekanntlich, wie überhaupt der Harn von Pflanzenfressern, viel indikanreicher ist, als Menschenharn, die neue Reaktion viel intensiver auftritt (die Chloroformschicht ist fast undurchsichtig), ferner dadurch, daß ein nachträglicher, d. h. also ein nach Umwandlung von Indoxyl in Indigo erfolgter Zusatz von Thymol keinen Einfluß mehr hat, und schließlich dadurch, daß die wässrige Lösung eines aus Harn dargestellten und gereinigten Indikanpräparates ebenfalls die Probe gibt. Ich versuchte nun den violetten Stoff durch Abdunsten seiner Chloroformlösung darzustellen und erhielt dabei ein bisher nicht krystallisierendes tiefrotes Öl. Das neue Produkt ist außer in Chloroform in Amylalkohol löslich und zwar mit roter und in Eisessig mit violetter Farbe. Bei Ersatz des Thymols durch p-Xylenol ($\text{CH}_3 : \text{CH}_3 : \text{OH} = 1 : 4 : 5$) resultiert eine ganz ähnliche Violettfärbung, auch das o-Xylenol ($\text{CH}_3 : \text{CH}_3 : \text{OH} = 1 : 2 : 4$) gibt eine ähnliche Violettfärbung, die aber merkwürdigerweise sowohl gegen Wasser, als auch gegen Alkalien beständig ist.

Ich behalte mir die weitere Verfolgung der Versuche vor und hoffe, daß es gelingen wird, die neue Verbindung näher zu charakterisieren und überdies, falls durch die Reindarstellung des fraglichen Stoffes ein Testobjekt zu erhalten sein wird, eine neue kolorimetrische Methode zur quantitativen Indikanbestimmung angeben zu können.

Für qualitative Zwecke wird die neue Indikanprobe in Harnen wie folgt durchgeführt:

10 ccm Harn werden mit 2 ccm einer 20%igen Bleizuckerlösung versetzt, umgeschüttelt und klar filtriert. Zum Filtrate setzt man $\frac{1}{2}$ ccm einer 10%igen alkoholischen Thymolösung, 10 ccm einer eisenchloridhaltigen Salzsäure (Obermayers Reagens) und 4 ccm Chloroform hinzu, schüttelt das Ganze gut durch, worauf bei Anwesenheit selbst der geringsten Spuren von Indikan das Chloroform eine schöne violette Färbung zeigt.

Beim Ausschütteln mit Wasser schlägt die Farbe in braun-gelb bis rotbraun um und tritt beim Versetzen der Chloroformschicht mit konzentrierter Salzsäure wieder hervor.

Bekanntlich wird das Thymol als Konservierungsmittel häufig in geringen Quantitäten dem Harn zugesetzt. In solchen Fällen kann es vorkommen, daß bei Ausführung der bisher üblichen Indikan-Reaktionen das Chloroform eine violette Färbung zeigt, die beim Schütteln mit Wasser verschwindet und eine durch Indigo bedingte Blaufärbung des Chloroforms ersichtlich macht.

Diese Erscheinung ist darauf zurückzuführen, daß die zugesetzte Thymolmenge viel zu gering war, um alle vorhandene Indoxylschwefelsäure bei der beschriebenen Behandlungsweise in die neue violette Verbindung überzuführen, wobei der Überschuß des Indikans natürlich Indigo liefert, welches nach Entfernung des violetten Farbstoffes in der Chloroformschicht sichtbar wird.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen geht übrigens hervor, daß man bei Ausführung der Indikan-Reaktion nach den bisher üblichen Methoden nicht ohne weiteres berechtigt ist, aus einer hierbei auftretenden Violett-färbung auf Jod-Anwesenheit im Harn zu schließen, sondern es erscheint notwendig, den Jod-Nachweis in bekannter Weise mit Stärkelösung durchzuführen.
