

nach Methode 1	nach Methode 2
Zinnsalzprobe c.	
—	91,38 %
—	91,79 «
—	91,45 «
Zinnsalzprobe d.	
—	96,53 «
—	96,86 «
—	96,67 «

Wie die Verfasser mittheilen, bedient man sich in den Fabriken zu Mülhausen einfacherer Methoden, um das Zinnsalz mit saurem chromsaurem Kali zu titriren. Entweder fügt man zur Lösung des Zinnsalzes so lange eine Lösung von Bichromat, bis die Färbung vom reinen Grün in ein gelbliches Grün übergeht oder man wendet gleichzeitig mit Jodkaliumstärkekleister getränktes Papier an. Letztere Methode ergab bei Versuchen, welche Haby auf Veranlassung Goppelsröder's ausführte, ziemlich genaue Resultate. Mit Hilfe der ersteren Methode gelangt man nach dem Ausspruche industrieller Chemiker bei längerer Uebung des Auges zu Resultaten, welche für die Praxis genügend genau sind. Bei den von den Verfassern damit angestellten Versuchen war immer ein Ueberschuss von Bichromat erforderlich.

## 2. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

C. Neubauer.

**Ueber die Bestimmung des Indigos im Harn.** Die Leichtigkeit, mit welcher sich selbst bei indicanarmen Harnen die Ausscheidung des Indigos durch Zusatz von Salzsäure und Chlorkalk nach Jaffe's\*) Methode vollzieht, veranlasste E. Salkowski\*\*) zu Versuchen, diese schöne Reaction zu einer directen, wenn auch nur annähernden Bestimmung des Indigos zu verwerthen. Am nächsten liegt es, das Indigoblau mit Aether oder Chloroform auszuschütteln und den Gehalt der Lösung colorimetrisch festzustellen. Allein es gelingt auf diesem Wege selten, die ganze Menge des Indigoblau in den Aether oder das Chloroform

\*) Diese Zeitschr. 10, 126.

\*\*) Virchow's Archiv 68, 11.

überzuführen; namentlich scheidet sich an der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten leicht Indigo aus. Ebenso geht bei der directen Filtration sehr leicht Indigo in das Filtrat über falls es sich nicht um eine grössere Menge flockig ausgeschiedenen Indigos handelt. Eine directe Wägung desselben nach dem Sammeln auf dem Filter ist auch kaum zulässig, da er nicht immer hinreichend rein dazu ist. Es gelingt nun mit Leichtigkeit, allen Indigo auf dem Filter zurückzuhalten, wenn man den Harn, sobald man die Reaction mit Salzsäure und Chlorkalk als beendet ansehen kann, mit Aetznatron alkalisch macht. Es entsteht dabei ein Niederschlag von Phosphaten, der das Indigoblau mechanisch mitreisst und so fest hält, dass das Filtrat vollkommen frei von Indigoblau ist, ja dass man den Niederschlag sogar mit heissem Wasser auswaschen kann. Trocknet man das gut ausgewaschene Filter bei gelinder Wärme, zerschneidet es und kocht mit Chloroform aus, so löst sich das Indigoblau vollständig, wenngleich etwas schwierig auf. Ist die Menge des Phosphatniederschlages gross — in der Regel fällt reichliche Phosphatmenge und viel Indican zusammen —, so ist es zweckmässig, den Niederschlag vom Filter abzulösen und in der Achatreibschale zu zerreiben. Die etwa hängen bleibenden Reste werden mit etwas Papier ausgewischt oder die Reibschale mit Chloroform ausgespült. Der Gehalt der Lösung an Indigo kann leicht durch Vergleich mit einer Lösung von bekanntem Gehalt festgestellt werden. Die Lösung des am Phosphat haftenden Niederschlages erfolgt etwas träge; weit leichter geht sie von Statten, wenn man den Phosphatniederschlag auf dem Filter mit sehr verdünnter Säure behandelt, auswäscht und dann wie vorhin verfährt. Allein es lässt sich kaum vermeiden, dass dabei etwas Indigo in das saure Filtrat übergeht und sich der Bestimmung entzieht. Es ist also wohl zweckmässiger, die Behandlung mit Säure zu unterlassen. Sobald das Papier mit dem daran haftenden Niederschlag weiss erscheint, kann man darauf rechnen, das Indigoblau vollständig im Chloroform zu haben. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man nach erschöpfender Behandlung mit Chloroform den Kolbeninhalt ausschüttet, das Chloroform abdunsten lässt, mit verdünnter Säure behandelt, auf dem Filter auswäscht, trocknet und nun aufs Neue mit Chloroform digerirt: dasselbe bleibt jetzt farblos, die erste Chloroformbehandlung hatte also kein Indigoblau zurückgelassen.

Zur Herstellung der Vergleichslösung verwendet man feingepulvertes durch Oxydation von Indigoweiss dargestelltes Indigoblau, das vorher wiederholt mit Chloroform ausgekocht ist, um alles Indigoroth zu ent-

fernen, welches bei der Bestimmung störend ist. Man bringt am besten eine kleine Quantität davon in ein Filter, trocknet dasselbe und wägt Indigo und Filter. Auf das Filter giesst man wiederholt heisses Chloroform, trocknet wieder und erfährt durch die Gewichts-differenz die Menge des in Lösung gegangenen Indigblaus, die übrigens stets sehr geringfügig ist. Das Chloroform darf natürlich für sich verdunstet keinen Rückstand lassen. Die Lösung hält sich auch im Dunkeln bei längerer Aufbewahrung, wie es scheint, nicht ganz ohne Verfärbung und muss daher ab und zu frisch bereitet werden. Dennoch ist nicht zweckmässig, weniger als etwa 200 CC. Lösung jedesmal zu machen, da sonst die Gewichts-differenz gar zu klein ausfällt. Sehr zweckmässig dient zur Herstellung der Lösung nach dem Jaffe'schen Verfahren dargestellter Harnindigo, der indessen auch vorher von etwas Indigroth befreit werden muss.

Eine gewisse Schwierigkeit liegt noch in der Bemessung des Chlorkalkzusatzes. Setzt man zu wenig zu, so bleibt vielleicht Indican unzersetzt, während ein Ueberschuss von Chlorkalk wieder zur Zerstörung von Indigo führen kann. Verf. hat diese Schwierigkeit durch folgendes Verfahren zu umgehen gesucht, dass nach der Beschreibung vielleicht sehr umständlich erscheint, bei der Ausführung aber durchaus einfach ist.

2 Proben des zu untersuchenden Harns von je 10 CC. werden in 2 kleinen Bechergläsern mit je 10 CC. Salzsäure (gewöhnliche reine von 1,12 spec. Gew.) gemischt. Die Probe a mit 0,2, b mit 0,4 CC. Chlorkalklösung versetzt. Es ist leicht zu entscheiden, welche der beiden Proben nach etwa  $\frac{1}{2}$  Minute stärker gefärbt erscheint; es wird, der Regel nach, die Probe b sein; man setzt zu Probe a alsdann noch 0,4 CC. hinzu; und falls nun a stärker gefärbt erscheint zu b 0,4 CC. in der Art, dass sich die Proben bezüglich ihres Chlorkalkgehaltes stets um 0,2 CC. unterscheiden. Man gelangt so leicht zu der Grenze, bei welcher die Probe mit grösserer Chlorkalklösung nicht mehr dunkler gefärbt erscheint, sondern in Folge von Zerstörung von Indigo heller. Tritt diese Erscheinung beispielsweise bei einem Zusatz von 1,2 CC. ein, so verwirft man diese Probe und behält die mit 1 CC. zur Bestimmung. Zur Sicherheit mischt man jetzt nochmals 10 CC. Harn, 10 CC. Salzsäure und 1 CC. Chlorkalklösung. Diese beiden Proben dienen dann zur Bestimmung: sie werden mit Natronlauge nahezu neutralisirt, dann mit kohlen-saurem Natron übersättigt, nach einigen Minuten durch ein nicht zu kleines Faltenfilter filtrirt und mit heissem Wasser bis zum

Verswinden der alkalischen Reaction gewaschen, bei gelinder Wärme getrocknet, zerschnitten, und in einem trockenen Kölbchen mit Chloroform ausgekocht, bis dasselbe sich nicht mehr färbt (die Erhitzung kann direct auf dem Drahtnetz geschehen), die Auszüge filtrirt und successiv vereinigt. Bei mässig indicanreichen Harnen reicht man mit etwa 30 CC. Chloroform aus; bei stark indicanhaltigen ist weit mehr zur vollständigen Lösung des Indigo nöthig, doch thut man überhaupt besser, in diesem Fall nicht 10 CC. Harn zur Bestimmung zu nehmen, sondern nur  $2\frac{1}{2}$  oder 5 und  $7\frac{1}{2}$  resp. 5 CC. Wasser vor dem Salzsäurezusatz. Es ist zweckmässig, den Chloroformauszug gleich in einen trockenen Messcylinder zu filtriren und auf eine runde Anzahl CC. zu verdünnen. Zum Vergleich der Farbenintensität dienen kleine Glascüvetten\*), in die man die Lösungen hineingiesst. Die von Salkowski benutzten bestehen aus einem U-förmigen gebogenen dicken Glasstabe, der auf beiden Seiten genau bis zur Dicke von 1 Cm. plan geschliffen ist. Auf jeder Seite ist eine Spiegelglasplatte aufgekittet. Die Bestimmung gestaltet sich nun etwas verschieden, je nachdem die erhaltene Lösung stärker oder was der häufigere Fall schwächer gefärbt ist, wie die Normallösung. Im letzteren Fall giesst man in die eine Cüvette 10 CC. der erhaltenen blaugefärbten Lösung, in die andere 10 CC. Chloroform und lässt aus einer Glashahnbürette oder einer feingraduirten Pipette soviel der Normallösung hinzufliessen, bis die Färbung beider Flüssigkeiten gleich erscheint. Die Beurtheilung ist am leichtesten bei auffallendem Licht gegen eine weisse Unterlage; zweckmässig stellt man die Glaskästchen auf ein Blatt Papier und drückt an die hintere Seite ein der Form der Platte entsprechendes angefeuchtetes Stück Schreibepapier an, welches leicht haftet. 10 CC. Harn geben beispielsweise 30 CC. blaugefärbtes Chloroform. 10 CC. Chloroform bedurften eines Zusatzes von 2,0 CC. der Normallösung zur Erreichung gleicher Farbenintensität. Dieselbe enthielt in 200 CC. 7,4 Milligramm. Indigo, in 2 CC. also 0,074 Milligramm. Da die Färbung beider Lösungen jetzt gleich ist, so enthalten 12 CC. des Chloroformauszuges 0,074 Milligramm. also 30 CC. d. h. 10 CC. Harn

$$\frac{0,074 \cdot 30}{12} = 0,185 \text{ Milligramm.}, 100 \text{ CC. } 1,85 \text{ Milligramm.} — \text{Ist der}$$

Chloroformauszug stärker gefärbt, wie die Normallösung, so kann man

\*) Dieselben sind von Warmbrunn und Quilitz hier bezogen zum Preise von 2—2,5 Mk. pro Stück. Man braucht 2 Cüvetten für wässrige und 2 für alkoholische, ätherische etc. Flüssigkeiten.

ihn entweder soweit mit Chloroform verdünnen, bis die Färbung schwächer ist und dann wie gewöhnlich verfahren, oder umgekehrt den Chloroformauszug so lange zu ungefärbtem Chloroform tropfen lassen, bis die Färbung beiderseits gleich erscheint. Die Rechnung ergibt sich von selbst. Der Gehalt eines nach reiner Fleischfütterung entleerten Hundeharns ergab sich so in 2 Versuchen zu 7,6 und 7,06 Milligrm. in 100 CC. Die Uebereinstimmung ist allerdings keine sehr grosse, das Verfahren kann auch nur beanspruchen, Annäherungswerthe zu geben, ist aber nichtsdestoweniger für manche Zwecke, namentlich für grössere Fütterungsreihen, wo es weniger auf die absoluten, als auf die relativen Werthe ankommt, recht brauchbar. Wenn die Färbung des Chloroforms sehr schwach ist, genügt eine Schicht von 1 Cm. Dicke nicht; in diesem Fall hat der Verf. die Vergleichung in möglichst gleich weiten Cylindern gemacht oder sich damit begnügt, zur Sicherung des Urtheils die Vergleichung erst in der gewöhnlichen Weise zu machen und dann die Apparate um  $90^0$  zu drehen und der Quere nach hindurchzusehen: der lichte Abstand der Glasstäbe beträgt nämlich in den beiden hauptsächlich benutzten Cüvetten 30,5 und 31<sup>mm</sup>, so dass eine derartige Benutzung durchaus zulässig erscheint. Viel bequemer wäre, wie für alle diese Zwecke, das Hermann'sche Hämoskop, wenn es gelänge, das Instrument chloroformdicht zu machen, was indessen auf erhebliche Schwierigkeiten stösst.

Salkowski hat das Verfahren bisher vorzugsweise bei Hundeharn angewendet, doch stösst man auch bei einigermaassen indicanreichem menschlichen Harn auf keine Schwierigkeit. So gaben 10 CC. Harn in einem Fall von Ileus 75 CC. intensiv gefärbten Chloroformauszug. Derselbe war erheblich dunkler, wie die Vergleichslösung (3,7 Milligrm. in 100 CC.). Darnach würden 100 CC. dieses Harns die enorme Menge von 27,7 Milligrm. Indigo enthalten, eine Zahl, die man fast Anstand nehmen möchte, für richtig zu halten. — Bei sehr indicanarmem menschlichem Harn, der mit Salzsäure und Chlorkalk nur eine Violettfärbung gibt, lässt sich Indigoblau oder Indigoroth auf diesem Wege nicht nachweisen: der Phosphatniederschlag gibt an Chloroform nichts ab. Wenn man nun auch zweifelhaft sein kann, ob die Rothfärbung in der That auf Bildung von Indigoroth beruht, so muss man andererseits doch an die Möglichkeit denken, dass das Verschwinden des Indigoroths der reducirenden Einwirkung des alkalischen Harns zuzuschreiben ist. In der That findet eine solche statt. Jeder Harn reducirt mit Aetznatron versetzt, Indigocarmin in nicht unbeträchtlicher Menge und schon in der

Kälte, ja selbst feinvertheiltes Indigoblau, wenn auch nicht so energisch. Macht man ihn mit kohlensaurem Natron alkalisch, so tritt die Reduction in der Kälte nicht mehr ein (wohl aber in der Wärme — die Zuckerprobe mit Indigolösung ist daher nicht viel werth — man müsste denn auf quantitative Verhältnisse recurriren). Verf. bemerkt schliesslich noch, dass man, statt die colorimetrische Methode anzuwenden, auch den Chloroformauszug destilliren und den rückständigen Indigo bestimmen könnte, beispielsweise nach dem volumetrischen Verfahren von Leuchs (Journ. f. pr. Ch. Bd. 105, S. 107. Diese Zeitschr. 8, 222.)

**Ueber die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn.**  
Auf die Eigenschaft der Harnsäure mit Ammon in alkalischer Lösung eine unlösliche Verbindung zu geben, gründete bekanntlich Fokker\*) eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure, die der Hauptsache nach in Folgendem besteht: 100 CC. Harn werden mit kohlensaurem Natron stark alkalisch gemacht, nach etwa 6 Stunden die ausgeschiedenen Erdphosphate abfiltrirt und mit heissem Wasser nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden mit 10 CC. concentrirter Salmiaklösung versetzt und nach 12 Stunden das ausgeschiedene harnsaure Ammoniak auf einem gewogenen Filter gesammelt. Vor der Wägung führt man es durch Behandeln mit schwacher Salzsäure (1:10) in Harnsäure über. Zu dem gefundenen Werth addirt man nach Vf. noch 16 Milligrm. Harnsäure hinzu, entsprechend der Löslichkeit des harnsauren Ammoniaks in Wasser.

Bei der Prüfung dieser Methode, welche E. Salkowski\*\*) anstellte, ergab sich nun zunächst, dass die von Fokker angegebene Zeit zur Fällung des harnsauren Ammoniaks auch bei sehr kühler Temperatur nicht ausreichte: es entstand im Filtrat regelmässig ein neuer, nicht unbeträchtlicher Niederschlag — man muss daher der Fällung mindestens 24, besser 48 Stunden Zeit lassen. Filtrirt man nach dieser Zeit ab, so scheidet sich aus dem Filtrat nichts weiter ab und dasselbe gibt mit ammoniakalischer Silberlösung in der That nur einen unbedeutenden Niederschlag, wie die weiter unten folgenden Doppelbestimmungen zeigen. Ferner muss hervorgehoben werden, dass beim Behandeln des harnsauren Ammons auf dem Filter mit verdünnter Salzsäure wohl stets etwas Harnsäure in Lösung geht und sich aus dem Filtrat bei längerem Stehen

---

\*) Diese Zeitschr. 14, 206.

\*\*) Virchow's Archiv 68, 1.