

DER MIKROCHEMISCHE NACHWEIS ZWEI- UND DREI- WERTIGER PHENOLE MIT HILFE VON TÜPFELREAKTIONEN*.

Von

JOSEF KISSER (Wien) und YOSHIO KONDO (Nagoya).

(Eingelangt am 19. Oktober 1936.)

Um Untersuchungen über das Vorkommen von freien oder gebundenen Phenolen (von einwertigen ev. Karbolsäure, von zweiwertigen Brenzkatechin, Hydrochinon und Resorcin und von dreiwertigen Pyrogallol und Phloroglucin) im Pflanzenkörper näher treten zu können, war es zunächst notwendig, die mikrochemische Seite durchzuarbeiten und Methoden zu suchen und auszubauen, die den eindeutigen Nachweis und die Erfassung selbst kleinster Mengen gestatten¹.

Der Nachweis der Phenole kann einerseits direkt im Gewebe auf Grund von Kristall- oder Farbenreaktionen geführt werden oder man isoliert und trennt sie gleichzeitig durch Extraktion oder Mikrosublimation und führt dann außerhalb des Gewebes erst den Nachweis. Welcher Weg schließlich jeweils einzuhalten sein wird, hängt von der Eindeutigkeit und Empfindlichkeit der zur Verfügung stehenden Reaktionen ab. Über den Wert und die Brauchbarkeit der Fällungsreaktionen wird in einer folgenden Mitteilung berichtet werden, während in der vorliegenden nur die Farbenreaktionen behandelt sind.

* Eine vorläufige Mitteilung erschien unter dem gleichen Titel (Mitt. a. d. biol. Versuchsanst. d. Akad. d. Wiss. Wien; Bot. Abt., Vorst. L. Portheim, Nr. 250) im Akad. Anzeiger Nr. 17 vom 2. Juli 1936.

¹ Bezüglich der bisherigen Methoden vergl. O. TUNMANN-L. ROSENTHALER, Pflanzenmikrochemie, 2. Aufl., Berlin 1931; G. KLEIN, E. SIERSCH und H. LINSER, Österr. bot. Zeitschr., Bd. 80, 223 (1931); Y. KONDO, Mikrochemie 19, 214 (1936).

Da die Färbungen in Lösungstropfen, besonders wenn es sich nur um kleinste Phenol-Mengen handelt, nur schwer zu erfassen sind, wurden die Farbenreaktionen nach dem Vorgehen von FR. FEIGL² als Tüpfelreaktionen auf Tüpfelpapier geführt. Dadurch wurde es möglich, die einzelnen Phenole nicht nur qualitativ nachzuweisen, sondern sie mit weitgehender Genauigkeit auch quantitativ abzuschätzen³.

In methodischer Hinsicht sei bemerkt, daß sämtliche Reaktionen nur auf Tüpfelpapier versucht wurden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß manche Reaktionen, die sich auf Tüpfelpapier wenig oder nicht bewährten, auf Tüpfelplatten bessere Erfolge gezeitigt hätten. Solche Versuche sind in Ausführung begriffen.

Um stets mit gleich großen Tropfen arbeiten zu können, bedienen wir uns bei allen Tüpfelreaktionen der von KONDO (l. c.) beschriebenen Pipetten, die Tropfen von 0,01 ccm lieferten. Die Angaben über Erfassungsgrenzen (E.G.) beziehen sich stets auf solche Mikrotropfen von 0,01 ccm.

Reaktion mit Ferrichlorid.

Wässrige Brenzkatechidlösung wird durch Zusatz von Eisenchlorid smaragdgrün gefärbt; diese Farbe geht durch Zusatz von Natriumkarbonat in violett über. Diese Reaktion läßt sich zum Nachweis von Brenzkatechin verwenden; ferner erhält man bei folgender Ausführung der Reaktion auch mit Pyrogallol, nicht aber mit Resorcin, Hydrochinon und Phloroglucin charakteristische Tüpfel-Reaktionen.

Es erwies sich am zweckmäßigsten, das Tüpfelpapier mit wässriger 0,5 oder 1,0% Ferrichloridlösung zu tränken und dann zu trocknen. Tränkung mit 0,5% Lösung haben wir vorgezogen, da sich mit zunehmender Konzentration das Papier immer kräftiger anfärbt. Auf das so vorbereitete Papier wird die Probelösung aufgetüpfelt und bei Gegenwart von Brenzkatechin oder Pyrogallol entsteht ein charakteristischer Farbfleck von nachstehender Färbung:

² Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 2. Aufl., Leipzig 1935.

³ Vgl. J. KISSER und K. LETTMAYR, Mikrochemie **12**, 235 (1932); Y. KONDO, Mikrochemie **19**, 214 (1936).

Konzentration der Lösung	Brenzkatechin	Pyrogallol
1 %	fast gleichmäßiger Farbfleck, anfangs dunkel bläulich-grün, später dunkelblau	fast gleichmäßiger Farbfleck, anfangs dunkel violett-blau, später braun
0,1 %	fast gleichmäßig graublau	fast gleichmäßig grau-violett
0,01%	hell blauer Ring	hell grau-violetter Ring

Eine Nachbehandlung der Farbflecke mit Natriumkarbonat macht weder die Farbflecke deutlicher, noch wird dadurch die Reaktion empfindlicher.

Brenzkatechin:	G.K. 1 : 50.000	E.G. 0,2 γ
Pyrogallol:	G.K. 1 : 200.000	E.G. 0,05 γ

Reaktion mit Titansulfat.

FEIGL (l. c., S. 245) verwendet Brenzkatechin zum Nachweis von Titan⁴. Umgekehrt lassen sich auch Titansalze zum Nachweis von Phenolen verwenden.

Wässrige Titansulfat-Lösungen zersetzen sich leicht unter Bildung von Titanoxyd; dasselbe gilt auch für 0,5 oder 1% Lösungen in 5% Salzsäure. Es wurden daher wässrige Lösungen in verschlossener Flasche stehen und absetzen gelassen und dann mit der überstehenden klaren Lösung die Tüfelpapiere getränkt. Auf das so vorbereitete Papier werden nun die Probelösungen aufgebracht. Während Resorcin, Hydrochinon und Phloroglucin keine typischen Farbenreaktionen ergeben, bildet Brenzkatechin einen bräunlich-gelben, in der Mitte etwas grünlichen Fleck und Pyrogallol einen gelblich-braunen, in der Mitte etwas dunkleren Fleck.

Nachbehandlung mit Alkalien verändert das Aussehen der Tüpfel. Betupfen der noch nassen oder bereits trockenen Farbflecke mit einer 5% Natriumkarbonat-Lösung ist nicht vorteilhaft; die Tüpfelfarbe wird schmutzig, der Farbton nicht verstärkt, die Empfindlichkeit der Reaktion nicht erhöht. Hingegen wird durch Ammoniak die Farbe deutlicher, dadurch aber die Reaktion ebenfalls nicht empfindlicher. Durch Einstellen des Tüfelpapiers mit den

⁴ Vgl. diesbezüglich auch J. PICCARD, B. 42 (1909), ferner A. ROSENHEIM, B. RAIBMANN und G. SCHENDEL, Ztschr. anorgan. Chem. 196, 160 (1931).

noch nassen Tüpfeln in eine Ammoniak-Kammer werden die Farbflecke von Brenzkatechin mehr gelb, die von Parogallol nach 2 bis 3 Minuten tief bräunlich gelb, nach 10 Minuten grau-braun.

Sehr verdünnte Brenzkatechin-Lösungen ergeben weniger deutliche Tüpfel mit unscharfen Rändern, wodurch die quantitative Abschätzung erschwert wird.

Brenzkatechin:	G.K. 1 : 50.000	E.G. 0,2 γ
Pyrogallol:	G.K. 1 : 125.000	E.G. 0,08 γ

Reaktion mit Ceri-Ammoniumnitrat.

Als Reagens dient eine wässrige Lösung von Ceri-Ammoniumnitrat ($\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_2$)⁵; Tüfelpapier wird mit dieser Lösung getränkt, getrocknet und dann auf 10—15 Minuten in eine Ammoniakammer eingestellt; längeres Verweilen darin ist ohne Einfluß auf den Reaktionsausfall. Auf das so vorbehandelte Papier werden nun die Probelösungen aufgetüpfelt⁶.

Zur Ermittlung der günstigsten Konzentration des Reagens wurden zahlreiche Versuche unternommen und jeweils bei den einzelnen Phenolen 1-, 2-, 4- und 6%ige Lösungen versucht. Es zeigte sich dabei, daß die Konzentration auf den Ausfall der Reaktion keinen Einfluß nimmt, nur werden im allgemeinen mit zunehmender Konzentration die Farben etwas satter⁷. Wir wählten zum

⁵ Vgl. L. FERNANDES, Gazz. chim. ital. 55, 616 (1925).

⁶ Als Reagens kann auch Cersulfat verwendet werden; hinsichtlich Reaktionsfarbe, Grenzkonzentration und Erfassungsgrenze ändert sich dadurch nichts. Nur ist Cersulfat in Wasser schwer löslich, leichter jedoch in angesäuertem Wasser (z. B. 1% Schwefelsäure oder 5% Salzsäure). Allerdings sind mit solchen Lösungen getränkte Tüfelpapiere schwerer und unbequemer zu trocknen.

⁷ Bei dieser Reaktion fiel stark auf, daß die Saugkraft des Tüfelpapiers an der Ober- und Unterseite recht verschieden ist. Ein aufgebrachtener Tropfen einer konzentrierteren Phenollösung (1%) bildet auf der Oberseite des Papiers einen kleinen scharf begrenzten Farbfleck, auf der Unterseite jedoch erscheint der Farbfleck wesentlich größer und unregelmäßig begrenzt. Dies ist so zu erklären, daß sich die Probelösung in den dichteren Schichten der Oberseite nur ganz schwach ausbreiten kann, daß sie aber von den lockeren mittleren und unteren Schichten sehr rasch aufgesogen wird und sich dort auch viel stärker ausbreitet. Mit 4—6% Reagenslösung getränktes Papier saugt schlecht und die aufgebrauchten Tropfen bleiben lange unangesaugt auf dem Papier. Damit hängt es auch zusammen, daß bei Verwendung konzentrierterer Reagenslösungen die Farbflecke satter werden.

Tränken des Tüpfelpapiers eine 1%ige Ceri-Ammoniumnitrat-Lösung. Das mit Amoniakdampf behandelte Papier behält seine Reaktionsfähigkeit durch längere Zeit unverändert bei. Selbst nach 10 Tagen konnten wir keine Unterschiede bemerken.

Von den geprüften Phenolen liefern Resorcin, Hydrochinon und Phloroglucin keine charakteristischen und nur ganz schwache Farbflecke, wohl aber Brenzkatechin und Pyrogallol. Gleich nach dem Antüpfeln bilden sich bei beiden violette Farbflecke. Bei Brenzkatechin ist der Außenrand aber immer dunkler, der innerste Teil ziemlich hell und dazwischen liegt eine violette Zone; schließlich aber wird bei 1% Brenzkatechinlösung der Tüpfel ganz dunkelgrauviolett, bei 0,1% dunkelgrau und bei 0,01 bis 0,001% bräunlich. Bei Pyrogallol werden innerhalb einer $\frac{1}{4}$ Stunde, die noch nassen Tüpfel braun und deshalb erhält man schließlich, je nach der Konzentration der Probelösung, dunkelbraune bis hellbraune Farbflecke. Diese Farbenänderungen beruhen wohl auf der Wirkung des Ammoniaks.

Brenzkatechin:	G.K. 1 : 330.000	E.G. 0,03 γ
Pyrogallol:	G.K. 1 : 330.000	E.G. 0,03 γ

Reaktion mit p-Diazobenzolsulfosäure.

Dieses Reagens wurde von KLEIN, SIERSCH und LINSER (l. c.) zum Nachweis von gewissen Phenolen (mit Ausnahme Hydrochinon) durch Fällungsreaktionen benutzt. Unsere Versuche zeigen, daß p-Diazobenzolsulfosäure, mit Ausnahme bei Hydrochinon, sehr brauchbare Tüpfelreaktionen liefert.

Die günstigste Konzentration des Reagens liegt bei 0,5—1,0%; 2% Lösungen ergeben mit konzentrierteren Phenol-Lösungen (0,1 bis 1,0%) infolge Niederschlagsbildungen, körnige Tüpfelbilder. Tüpfelpapier wird mit der Reagenslösung getränkt und dann getrocknet. Das Trocknen muß sehr rasch vor sich gehen, entweder im Freien im Wind oder sonst in einem Luftstrom oder man legt das getränkte Papier zunächst zwischen einige Lagen Filtrierpapier, preßt es etwas ab und läßt es dann trocknen⁸. Das ge-

⁸ Bei der Ausführung der Reaktion zeigten die Tüpfel oft ganz auffallende Unterschiede in der Farbintensität, auch dann, wenn die gleiche Phenollösung und mit bestimmter Reagenslösung getränktes Papier verwendet wurde. Ja

tränkte und getrocknete Papier soll möglichst bald verwendet werden, da mit zunehmendem Alter des Papiers die Reaktionen immer schwächer ausfallen.

Die Tüpfel haben ein überaus charakteristisches Aussehen und lassen durch Verschiedenheiten in Farbe oder Farbintensität verschiedene Zonen erkennen, wie die äußere Diffusionszone, den Tüpfelrand, die Zwischenzone und die Mittelzone. Nachstehende Tabelle gibt Aufschluß über das nähere Aussehen der Tüpfel.

Verwendete Phenollösung	Tüpfelzone	Konzentration der Phenollösung		
		1%	0,1%	0,01%
Brenzkatechin	Diffusionszone	graubraun	bräunlich-gelb	bräunl.-gelb
	Tüpfelrand	rötl.-braun	rötl.-braun	} fast gleichmäßig hellrosa
	Zwischenzone	grünlich	hell-grünlich	
	Mittelzone	rötl.-braun	rötl.-braun	
Resorcin	Diffusionszone	graubraun	graubraun	graubraun
	Tüpfelrand	gelb	schmal, hellgelb	} Zonen sehr verwaschen, gelblich
	Zwischenzone	fast farblos	breit, farblos	
	Mittelzone	gelb	gelb	
Hydrochinon		nicht charakteristisch		
Phloroglucin	Diffusionszone	graubraun	graubraun	graubraun
	Tüpfelrand	orange	rötl.-orange	schmal, rosa
	Zwischenzone	gelb	hellgelb	hellgelb
	Mittelzone	orangegelb	orangegelb	rosa
Pyrogallol	Diffusionszone	schmal, grau-braun	graubraun	graubraun
	Tüpfelrand	graubraun	graugelb	} gleichmäßig gelblich
	Zwischenzone	grünlichgrau	grau	
	Mittelzone	gelblichbraun	bräunl.-gelb	

Die Tüpfel von noch verdünnteren Phenollösungen gleichen im Wesen den von 0,01% Lösungen, nur sind sie entsprechend heller. Nur bei den entsprechenden Phloroglucinlösungen ist Tüpfelrand, Zwischen- und Mittelzone fast gleichmäßig rosa, die Diffusionszone graubraun.

selbst auf einem Stück Papier zeigten sich diese Unterschiede, je nachdem ob die Tüpfel mehr gegen die Mitte oder den Rand aufgebracht worden waren. Durch verschiedene, die Art der Tränkung und Trocknung betreffende Versuche wurde ermittelt, daß diese Unterschiede auf der ungleichen Verteilung des Reagens im Papier beruhen. Deshalb muß dem Trocknen ein besonderes Augenmerk zugewendet werden.

Brenzkatechin:	G.K. 1 : 25.000	E.G. 0,4 γ
Resorcin:	G.K. 1 : 20.000	E.G. 0,5 γ
Phloroglucin:	G.K. 1 : 200.000	E.G. 0,05 γ
Pyrogallol:	G.K. 1 : 20.000	E.G. 0,5 γ

Reaktion mit Echtsalts B.

Wie KONDO (l. c.) schon kürzlich berichtet hat, gibt Echtsalz B außer mit Karbolsäure auch mit zwei- und dreiwertigen Phenolen charakteristische Tüpfelreaktionen.

Versetzt man eine 0,05%ige eisgekühlte Lösung von Echtsalz B mit einer kleinen Menge Lithiumkarbonat und setzt dann die gleiche Menge der zu prüfenden ebenfalls eisgekühlten Phenollösung zu, so erhält man charakteristisch gefärbte Lösungen, die beim Auftüpfeln auf Tüfelpapier deutliche Farbflecke ergeben. Bei der Ausführung der Reaktion ist zu beachten, daß nach dem Alkalischemachen die Reaktion sofort durchgeführt wird, da sich die alkalische Lösung von Echtsalts B alsbald zersetzt. Die erhaltenen Tüpfelfarben zeigt nachstehende Zusammenstellung:

Verwendete Phenollösung	Konzentration der Phenollösung			
	1%	0,1%	0,01%	0,001%
Brenzkatechin	hellviolett	hellviolett	hellviolett	—
Resorcin ⁹	orange, rotstichig	orange, rotstichig	orange, rotstichig	hellorange
Hydrochinon	fast farblos	fast farblos	fast farblos	—
Phloroglucin	stumpf orange	stumpf orange	stumpf orange	hellviolett ¹⁰
Pyrogallol	graubraun	graubraun	hellgrau, fast farblos	—

⁹ M. CLARA (Ztschr. wiss. Mikroskopie 51, 316 [1935]) gibt die Farbe für das Reaktionsprodukt Echtsalts B und Resorcin mit violett an; dies muß ein Versehen (Brenzkatechin!) sein, denn wir fanden immer je nach der Konzentration die Lösungen rotorange bis hellorange-rotstichig gefärbt.

¹⁰ Es ist bemerkenswert, daß bei Phloroglucin mit abnehmender Konzentration nicht einfach ein kontinuierliches Hellerwerden der Farbe eintritt, sondern in einem bestimmten Konzentrationsbereich ein Farbenumschlag erfolgt. Bis 0,005% ist der Farbleck stumpf orange, bei 0,004% rötlich, bei 0,002% rötlich violett und von da ab immer heller violett. Dieses Violett gleicht vollkommen dem von Brenzkatechin.

Die Tüpfelfarben bleiben lange Zeit hindurch unverändert erhalten; nur bei Brenzkatechin verblassen sie alsbald von anfänglichem rötlichviolett zu hellviolett ab. Dagegen sind die mit Karbolsäure erzielten Farbflecke sehr labil (vgl. KONDO l. c.), können aber durch Einwirkung von Ammoniak-Dampf wieder regeneriert werden. Die Tüpfel der obigen Phenole verändern sich aber durch Ammoniak-Einwirkung nicht.

In der von KONDO (l. c.) für Karbolsäure angegebenen Weise läßt sich die Reaktion mit Echtrotsalz B auch mit kleinsten Flüssigkeitsmengen durchführen. Zu diesem Zwecke wird auf einen eisgekühlten Objektträger ein Tropfen des Reagens gebracht, daneben ein Tropfen der Probelösung und zwischen diese eine Nadelspitze von Lithiumkarbonat. Mittels einer Glasnadel wird nun zunächst die Echtrotsalz-B-Lösung mit dem Lithiumkarbonat und hierauf mit der Probelösung vereinigt, gut vermischt und davon dann mit der Mikropipette ein Tropfen auf das Tüpfelpapier gebracht. Die Tüpfelfarben von Resorcin und Phloroglucin stimmen bei dieser Art der Reaktionsdurchführung mit den früher genannten vollkommen überein. Hingegen zeigen sich bei Brenzkatechin und Pyrogallol öfters Unterschiede; die Tüpfel des Reaktionsproduktes mit Brenzkatechin sind oft mehr grau, die mit Pyrogallol mehr bräunlich, was vielleicht mit einer raschen Oxydation der kleinen Substanzmengen zusammenhängt. Durch rasches und vorsichtiges Arbeiten lassen sich diese Unterschiede bis zu einem gewissen Grade ausgleichen.

Brenzkatechin:	G.K. 1: 25.000	E.G. 0,4 γ
Resorcin:	G.K. 1: 500.000	E.G. 0,02 γ
Phloroglucin:	G.K. 1: 330.000—500.000	E.G. 0,02—0,03 γ

Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung.

Diese Reaktion ist keineswegs für Phenole spezifisch, sondern gilt ganz allgemein für reduzierende Stoffe. Da sie im einzelnen Falle aber sehr empfindlich ist, kann sie zur quantitativen Abschätzung isolierter Phenole benutzt werden.

Als Reagens dient eine 10% ige, frisch bereitete ammoniakalische Silbernitratlösung. Folgende Art der Reaktionsausführung erwies sich am zweckmäßigsten: ein Tropfen des Reagens wird auf das

Tüpfelpapier aufgebracht und der noch nasse Fleck mit der zu prüfenden Phenollösung angetüpfelt. Frisch bereitete oder einige Tage alte Phenollösungen zeigen keine Unterschiede. Die Tüpfel sind stahlblau, grau violett bis braun, die Ränder glatt oder gezackt.

Von den untersuchten Phenolen reagiert Phloroglucin mit ammoniakalischer Silbernitratlösung überhaupt nicht, Resorcin nur in höheren Konzentrationen (0,1—0,01%), dagegen Brenzkatechin, Hydrochinon und Pyrogallol noch in den Konzentrationsbereichen zwischen 0,001—0,0001%.

Brenzkatechin:	G.K. 1 : 166.000	E.G. 0,06 γ
Hydrochinon:	G.K. 1 : 330.000	E.G. 0,03 γ
Pyrogallol:	G.K. 1 : 200.000	E.G. 0,05 γ

Bei längerem Aufbewahren der Reaktionsbilder treten infolge des vorhandenen Überschusses an Silbernitrat Verfärbungen ein, die das Tüpfelbild stören. Will man die Tüpfelbilder unverändert aufbewahren, so muß dieser Überschuß entfernt werden. Baden der Papiere in einer Natriumthiosulfatlösung mit nachfolgendem Waschen in fließendem Wasser und Trocknen führt wohl zu einer Entfernung des störenden Silbernitrates und die Papiere bleiben unverändert weiß, aber es werden dabei auch Spuren des reduzierten Silbers gelöst; die Folge davon ist, daß die mit sehr verdünnten Phenollösungen gewonnenen Farbflecke verschwinden, die übrigen dementsprechend aufgehellt werden. Waschen in Wasser allein versagt, da die Papiere trotzdem stellenweise grau-schwärzlich werden und nach Baden in Salpetersäure oder Essigsäure (1 : 2) entsteht um die wohl unverändert gebliebenen Tüpfel manchmal ein grauer Rand. Am besten ist es, die Tüpfelpapiere über Nacht in eine 10%ige Essigsäure einzulegen, dann in fließendem Wasser zu waschen und schließlich zu trocknen. Durch diese Behandlung leiden weder das Papier noch die Tüpfel, und das Papier bleibt auch nach langer Aufbewahrung weiß und rein.

Weniger empfindliche Farbenreaktionen.

Im nachstehenden sind noch einige Farbenreaktionen der Phenole angeführt, die wohl gelegentlich ganz charakteristisch sind, die aber wegen ihrer geringen Empfindlichkeit für den Nachweis

geringer Phenolmengen nicht in Betracht kommen, sonst aber vielleicht gelegentlich brauchbare Dienste leisten können.

Salpetersäure. Nach R. HUERRE¹¹ geben Phenole durch Oxydation mittels Salpetersäure charakteristische Farbenreaktionen, deren Verwendbarkeit für Tüpfelreaktionen versucht wurde. Es wurde dabei in der Weise verfahren, daß die Probelösungen auf das Tüpfelpapier aufgetüpfelt und dieses dann sofort in eine Kammer mit Salpetersäuredämpfen eingestellt wurde. Die Tüpfel zeigten dabei nachstehendes Verhalten:

Verwendete Phenollösung	Konzentration der Phenollösung.		
	1%	0,1%	0,01%
Brenzkatechin	grau-violett, am Rande gelb	grünlich-gelb	hellgelb
Resorcin	graubraun	grau	fast farblos
Hydrochinon	rötlichgrau	hell rötlichgrau	—
Phloroglucin	stumpf orange	hellstumpforange	—
Pyrogallol	braun	braun	fast farblos

Im allgemeinen sind diese Reaktionen nur wenig empfindlich, kommen daher für unsere Zwecke kaum in Betracht.

Brom. Da nach J. STENHAUSE¹² und TH. ZINK¹³ Brenzkatechin mit Brom eine Farbenreaktion ergibt, wurden auch die übrigen Phenole auf ihr diesbezügliches Verhalten hin untersucht. Die Ausführung der Reaktion geschah in der Weise, daß Tüpfelpapier mit den einzelnen Phenollösungen angetüpfelt und so lange die Flecke noch feucht waren, in eine Kammer mit Bromdampf eingestellt wurde. Bei Verwendung 1%iger Phenollösungen ergaben sich folgende Färbungen:

Brenzkatechin — bräunlich-grau, Resorcin — hell rötlich-grau, Hydrochinon — farblos, Phloroglucin — orangegelb und Pyrogallol — bräunlich-gelb.

Aber auch diese Reaktionen sind nur wenig empfindlich (die Grenzkonzentration liegt bei Brenzkatechin, z. B. zwischen 1 : 1000 und 1 : 10.000) und können daher zum Nachweis kleinster Phenolmengen nicht herangezogen werden.

¹¹) Bull. Science Pharmacol., 29, 180 (1922).

¹²) A. 177, 186 und 190 (1875).

¹³) B. 20 (1887).

Kaliumferricyanid. Dieses Reagens wurde von S. BLAZSO¹⁴ zur Bestimmung von Brenzkatechin verwendet. Wir tränkten Tüpfelpapier mit wässrigen Lösungen von Kaliumferricyanid (0,1, 0,5 und 1%), worauf es mit den einzelnen Phenollösungen angetüpfelt und so lange die Tüpfel noch feucht waren, in die Ammoniak-Kammer eingestellt wurde. Die resultierenden Farben sind nicht sehr charakteristisch; nur Brenzkatechin ergibt eine dunkelviolette Farbe, doch ist die Reaktion nicht sehr empfindlich. Außerdem stört die blaugüne Farbe, die das Papier durch die Ammoniakbehandlung annimmt.

Natriumwolframat-Natriumphosphat-Molybdänsäure. Nach G. REIF¹⁵ gibt ein Reagens, bestehend aus 3 g Natriumwolframat, 2 g Natriumphosphat, 0,05 g Molybdänsäure und 25 g Wasser mit Brenzkatechin eine empfindliche Farbenreaktion. Mit diesem Reagens wurde Tüpfelpapier getränkt, getrocknet und mit verschiedenen Phenollösungen angetüpfelt. Bei Verwendung von 1%igen Phenollösungen ergaben sich nachstehende Farben: Brenzkatechin — graubraun, Resorein — schmutzig-rosa, Hydrochinon — fast farblos, Phloroglucin — stumpf gelb und Pyrogallol — dunkelbraun.

Auch diese Reaktion ist nicht sehr empfindlich; die Grenzkonzentrationen liegen z. B. bei Brenzkatechin und Pyrogallol zwischen 1:1000 und 1:10.000.

Phosphormolybdänsäure. Nach K. BRAUER¹⁶ tritt beim Versetzen einer Brenzkatechinelösung mit Phosphormolybdänsäure eine Grünfärbung ein, die durch Ammoniakzusatz blau wird. Wurde nun Tüpfelpapier mit Phosphormolybdänsäure getränkt, getrocknet und dann mit den verschiedenen Phenollösungen angetüpfelt, so zeigten sich keine nennenswerten Farbflecke. Nach Einstellen des Tüpfelpapiers mit den noch feuchten Tüpfeln von 1%igen Phenollösungen in die Ammoniak-Kammer traten folgende Färbungen auf: Brenzkatechin — stumpf rötlich-grau mit stumpf grünlichem Rand, Resorein — stumpf rosa, Hydrochinon — stumpf

¹⁴ Magyar Orvosi Archivum **33**, 376 (1932).

¹⁵ Biochem. Ztschr. **161**, 128 (1925).

¹⁶ Chem.-Ztg. **50**, 553 (1926).

orange-gelb und Pyrogallol — stumpf orange-gelb. Einwirkung von Ammoniakdampf allein auf die auf reinem Tüpfelpapier aufgetragenen Lösungen ruft folgende Färbungen hervor: Brenzkatechin — grau-violett, Resorcin — blau, Hydrochinon — braun, Phloroglucin — hellrötlich-braun und Pyrogallol — stumpf gelb.

In beiden Fällen sind die Farbreaktionen nur sehr wenig empfindlich.

Ferrosulfat und Tyrosin¹⁷. Als Reagens diente eine Lösung von Eisensulfat in einer gesättigten Tyrosinlösung. Das Tüpfelpapier wurde mit diesem Reagens getränkt, getrocknet und mit den Phenollösungen angetüpfelt. Die Tüpfelfarbe entspricht jedoch vollkommen der mit Ferrichlorid (s. S. 260) erzielten; da die Reaktion aber gleichzeitig etwas unempfindlicher ist als jene, ist sie für unsere Zwecke bedeutungslos.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

Zur Ermöglichung des Nachweises kleiner Mengen von Brenzkatechin, Resorcin, Hydrochinon, Phloroglucin und Pyrogallol wurden eine Reihe von Farbenreaktionen kritisch geprüft und auf ihre Verwendungsmöglichkeit als Tüpfelreaktionen untersucht. Es konnten dabei eine Reihe charakteristischer hochempfindlicher Reaktionen aufgefunden werden, die in nachstehender Tabelle zusammengestellt sind.

Reagens	Brenzkatechin	Resorcin	Hydrochinon	Phloroglucin	Pyrogallol
Ferrichlorid	0,2 γ	—	—	—	0,05 γ
Titansulfat	0,2 γ	—	—	—	0,08 γ
Ceri-Ammoniumnitrat	0,03 γ	—	—	—	0,03 γ
p-Diazobenzolsulfosäure	0,4 γ	0,5 γ	—	0,05 γ	0,5 γ
Echtrotsalz B	0,4 γ	0,02 γ	—	0,02—0,03 γ	—
ammoniakal. AgNO ₃	0,06 γ	—	0,03 γ	—	0,05 γ

Die Reaktionen mit Salpetersäure, Brom, Kaliumferricyanid, Natriumwolframat-Natriumphosphat-Molybdänsäure, Phosphormolybdänsäure und Ferrosulfat-Tyrosin sind teils wenig charakteristisch, teils sehr unempfindlich und können daher für die Erfassung kleinster Phenolmengen nicht in Betracht gezogen werden.

¹⁷ Vgl. M. GONNERMANN, Ztschr. Ver. Dtsch. Zuckerind. **1907**, 1068, und Arch. Physiol. **123**, 635 (1908).