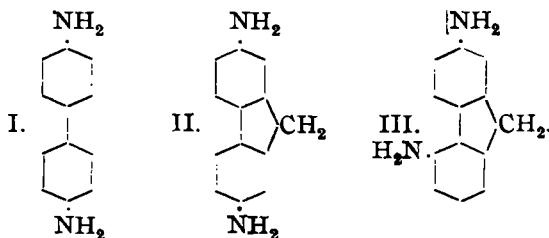


18. Julius Schmidt und Walter Hinderer: Der Nachweis von Persulfaten und von Blut (Peroxydasen) mit Hilfe von 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrat.

(Eingegangen am 26. November 1931.)

Seit einiger Zeit ist der eine von uns (J. Schmidt) damit beschäftigt, teils bekannte, teils neu aufgefundene Fluoren- und Phenanthren-Abkömmlinge hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit zu analytischen Reaktionen zu studieren. Wir berichten im nachfolgenden über Ergebnisse, welche in der Fluoren-Reihe erhalten worden sind.

Hier war zu vermuten, daß 2.7-Diamino-fluoren (II), welches ähnlichen molekularen Aufbau zeigt wie das in der analytischen Chemie schon lange als Reagens benützte Benzidin (I), auch ähnliche analytische Wirkungen auslösen würde, und diese Vermutung hat sich aufs beste bestätigt.



Die Darstellung des 2.7-Diamino-fluorens haben wir früher beschrieben¹). Das Chlorhydrat könnte als empfindliches Reagens auf freies Chlor (gechlortes Trinkwasser) und Brom benützt werden, doch liegt dazu kaum ein Bedürfnis vor. Dahingegen erscheint es wertvoll zum Nachweis von Persulfaten und Peroxydasen (Blut, Unterscheidung von gekochter und frischer Milch), wobei es vor den übrigen Reagenzien, insbesondere dem Benzidin, verschiedene Vorzüge aufweist: nämlich Leichtlöslichkeit in Wasser und größere Empfindlichkeit²).

Bei positivem Ausfall der Reaktion tritt eine noch in höchster Verdünnung gut erkennbare Blaufärbung ein. So z. B. rufen noch 0.00000017 g Chlor pro ccm Wasser in der 1-proz. Lösung des 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrates eine deutliche Blaufärbung hervor, während Benzidin mit Sicherheit Chlor nur in etwa der 3-fachen Konzentration erkennen läßt. Bei der Prüfung einer Lösung von Kaliumpersulfat in Wasser 1:1000000 trat nach 5 Min. langem Stehen die Blaufärbung noch gut erkennbar hervor. Es lassen sich so auch Spuren von Persulfat neben viel Sulfat nachweisen. SO_4^{2-} -Ionen werden vom 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrat ganz ähnlich wie vom Benzidin als sehr schwer lösliches Sulfat gefällt.

Bekanntlich werden in der gerichtlichen Chemie verschiedene Substanzen zum Nachweis von Blut benützt, die mit Wasserstoffperoxyd in Gegenwart von Peroxydasen eine Farbreaktion geben, insbesondere das Benzidin. Auch hier zeigt das neue Reagens eine unverkennbare Überlegenheit im Vergleich zu Benzidin. So gibt 1 Tropfen Blut in 50000 ccm Wasser mit dem Fluoren-

¹) B. 64, 1793 [1931].

²) Das Reagens kann bezogen werden von Dr. W. Hinderer, Ober-Esslingen a. Neckar.

Derivat noch eine gut erkennbare Blaufärbung, mit Benzidin dagegen keine Reaktion mehr.

Für den Blut-Nachweis in klinischen Fällen (Stuhl-Untersuchung) dürfte die große Empfindlichkeit des Reagens ein gewisser Nachteil sein, da so minimale Blut-Mengen kaum mehr als pathologisch gewertet werden können. Schon Benzidin ist für den Blut-Nachweis im Stuhl zu empfindlich, so daß man für diesen speziellen Zweck Guajaktinktur verwendet. Für forensische Zwecke ist jedoch die hohe Empfindlichkeit des Reagens erwünscht.

In Zusammenhang mit der Peroxydase-Reaktion wird in neuester Zeit zur Unterscheidung von frischer und gekochter Milch von Casolari³⁾ eine Mischung von *p*-Phenyldiamin und Anilin empfohlen. Auch hier ist es vorteilhafter, das 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrat zu verwenden.

Für alle diese Reaktionen scheint die Stellung der beiden Aminogruppen in 2 und 7 (II), also die Analogie mit dem Aufbau des Benzidins (I), wesentlich zu sein, denn 2.5-Diamino-fluoren (III) gibt weder die Farbreaktion wie II, noch ein schwer lösliches Sulfat.

Beschreibung der Versuche.

Zunächst wurde das Verhalten des 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrates gegen den Luft-Sauerstoff geprüft. Dazu wurde durch eine wäßrige Lösung dieser Substanz 3 Stdn. lang Luft geleitet, ohne daß eine sichtbare Veränderung der klaren, farblosen Lösung eingetreten wäre. Ebenso ist auf Zusatz von verd. Salpetersäure keine Veränderung der Lösung zu erkennen. Gibt man aber zu einem Reagensglas voll Wasser einen einzigen Tropfen Chlorwasser und setzt dann die Lösung des Reagens zu, so tritt sofort eine intensive Grünfärbung ein. Liegt das Chlorwasser in anderen Konzentrationen vor, so treten Färbungen auf, die von blau über grün nach gelb gehen. So geben 0.4 ccm Chlorwasser in 30 ccm destilliertem Wasser mit dem Reagens eine Gelbfärbung. Kommt dagegen 1 Tropfen Chlorwasser auf 200 ccm reines Wasser, so erhält man eine starke kornblumenblaue Färbung.

Diese Beobachtungen ließen es wünschenswert erscheinen, zu bestimmen, bis zu welcher Verdünnung Chlor in Wasser mittels 2.7-Diamino-fluoren-Chlorhydrats nachweisbar ist. Im Parallelversuch diente Benzidin-Chlorhydrat als Reagens, das ebenfalls mit chlor-haltigem Wasser eine gelbgrüne Färbung liefert. Dabei ergab sich die Tatsache, daß mittels des Fluoren-Derivates noch 0.00000017 g Chlor pro ccm Wasser nach einigem Stehen eine gut erkennbare Blaufärbung hervorrufen (am besten in der Draufsicht zu beobachten), während Benzidin mit Sicherheit Chlor nur in etwa der 3-fachen Konzentration erkennen läßt. Der Nachweis mit Benzidin wird bei solch hohen Verdünnungen dadurch unsicher, daß diese hell gelbgrüne, sehr schwache Färbung von der Eigenfarbe des Wassers in Glasgefäßen nicht mehr unterschieden werden kann, während die durch das Fluoren-Derivat hervorgerufene Blaufärbung viel stärker auffällt.

Ebenso befriedigend gestaltete sich der Nachweis von Persulfaten mit dem Fluoren-Derivat. Als Stammlösung diente eine genau 0.5-proz. wäßrige Lösung von Kaliumpersulfat. Als Reagens wurde eine 0.5-proz.

³⁾ Biochem. Therapia speriment. 16, 254; C. 1930, II 2551.

Lösung des Diamino-fluoren-Chlorhydrates benutzt. Die Stammlösung gibt mit dem Reagens sofort eine Gelbfärbung. Sind 0.005 g Persulfat in 50 g Wasser gelöst, so tritt augenblicklich auf Zusatz des Reagens eine starke Blaufärbung auf; ist nur 0.5 mg Persulfat in 50 g Wasser enthalten, so tritt innerhalb 1 Min. ebenfalls deutlich die Farbreaktion ein. Bei dem Verhältnis Persulfat zu Wasser = 1:1000000 trat nach 5 Min. langem Stehen die Blaufärbung noch gut erkennbar hervor.

Daß sich auch Spuren von Persulfat neben viel Sulfat auf diese Weise leicht erkennen lassen, zeigt folgender Versuch: In 2000 ccm Wasser wurden 100 g Kaliumsulfat und 0.01 g Kaliumpersulfat gelöst (also Persulfat: Sulfat = 1:10000) und 20 ccm dieser Lösung mit 5 Tropfen obiger Reagenslösung versetzt: zunächst entstand eine weiße Fällung von schwerlöslichem Diamino-fluoren-Sulfat, und nach etwa 1 Min. trat deutliche Blaufärbung ein. (Das benutzte Kaliumsulfat wurde vorher für sich untersucht und gab keine Spur einer Blaufärbung.)

Auf Grund dieser Ergebnisse erschien es aussichtsreich, auch das Verhalten des Diamino-fluorens gegen Peroxydasen und Wasserstoffperoxyd, seine Brauchbarkeit zum Nachweis von Blut, zu untersuchen. Dazu dienen bisher außer Benzidin vor allem Lösungen von Guajakharz, Aloin und auch *leuko*-Malachitgrün. Es hat sich folgende Ausführungsform ergeben: Das blut-verdächtige Objekt (z. B. Textilfasern) wird mit alkohol. Kalilauge ausgekocht, und diese Lösung mit Essigsäure schwach angesäuert. Zu der kalten Lösung gibt man einige Tropfen einer wäßrigen 1-proz. Lösung von Diamino-fluoren-Chlorhydrat und wenig 3-proz. Wasserstoffperoxyd. Die Anwesenheit von Blut wird dann durch eine sofortige Blaufärbung angezeigt. Bei weiteren Versuchen wurde die Empfindlichkeit dieser Reaktion mit derjenigen von Benzidin verglichen:

	mit Fluoren-Derivat:	mit Benzidin:
I Tr. Blut in 50 g Wasser	dunkelgrün	blau
I 500 g	blaugrün	goldgelb
I 5000 g	blau	schwach gelb
I 50000 g	deutlich blau	keine Reaktion
I 500000 g	unsicher	—

Der Nachweis von Blut-Spuren, statt im Reagensglas in Anlehnung an die Methode von Leers-Adler-Fürth⁴⁾ auf Filtrierpapier ausgeführt, konnte nicht befriedigen, da sich das Wasserstoffperoxyd in Berührung mit der Cellulose ebenfalls rasch zersetzt und man so zu unsicheren Ergebnissen der Reaktion kommt.

Schließlich wurde noch versucht, an Stelle des Diamino-fluoren-Chlorhydrates das leichter darzustellende Zinnchlorür-Komplexsalz desselben zu den Reaktionen zu verwenden, was aber daran scheiterte, daß dieses Salz beim Lösen in Wasser infolge hydrolytischer Spaltung eine milchig trübe Lösung ergibt. Auf Zusatz weniger Tropfen starker Salzsäure klärt sich zwar diese Lösung, aber gleichzeitig ist eine so hohe Konzentration an Mineralsäure erreicht, daß die angeführten Reaktionen stark verzögert werden oder ganz ausbleiben können.

Wir haben ferner das 2,7-Diamino-fluoren-Chlorhydrat mit dem von Casolari angegebenen Reagens verglichen: Dabei ergab sich, daß beide Reagenzien mit frischer Milch bei Zimmer-Temperatur nach 10 Min. langem Stehen eine Farbreaktion geben, und zwar färbt sich die Phenyle-

⁴⁾ Fürth, Lehrb. physiol. pathol. Chem., II. Aufl., 2. Bd., S. 509.

diamin enthaltende Probe zunächst rötlich und ist nach 24-stdg. Stehen intensiv rotviolett geworden. Die das Fluoren-Derivat enthaltende Probe dagegen zeigt nach 10 Min. eine schön blaugrüne Färbung, die über Nacht in gelb umschlägt. Noch mehr zugunsten des Diamino-fluorens fällt die Probe aus, wenn es sich um abgekochte Milch handelt. Diese gibt selbst nach 2-stdg. Stehen mit dem Fluoren-Derivat keine Färbung, und auch nach 24 Stdn. ist nur eine ganz schwache Gelbfärbung sichtbar. Wird dagegen Phenylendiamin angewandt, so ist nach 24 Stdn. das Reaktionsgemisch genau so stark rotviolett gefärbt, wie wenn als Untersuchungs-Objekt un gekochte Milch benutzt worden wäre. Bei beiden Reaktionen wurde beobachtet, daß in stark essigsaurer Lösung die Farbreaktion viel später eintritt und in Gegenwart von Mineralsäuren ganz ausbleibt. Am besten säuert man zur Ausführung dieser Proben die Milch nur schwach mit Essigsäure an. Über die Konzentration der Reagens-Lösung und des angewandten Wasserstoffperoxydes gilt das beim Blut-Nachweis Mitgeteilte.

Stuttgart, im Dezember 1931.

19. A. Blumann und F. Hesse: Über einen neuen Sesquiterpen-alkohol.

[Aus d. Laborat. d. Vanillin-Fabrik G. m. b. H., Hamburg.]
(Eingegangen am 27. November 1931.)

In dem flüchtigen Öl von *Pinus maritima* entdeckte G. Dupont¹⁾ ein Sesquiterpen der Zusammensetzung $C_{15}H_{24}$. Der Forscher machte darauf aufmerksam, daß in dem ätherischen Öl der Aleppo-Föhre wahrscheinlich dasselbe Kohlenwasserstoff enthalten ist, nur mit dem Unterschiede, daß der letztere links dreht. Die von Dupont festgestellten Kennzahlen konnten wir bestätigen. Außer einem bei $109-110^0$ schmelzenden Nitrosit wurden keine weiteren Derivate von ihm hergestellt.

Wir fanden nun, daß dieser Kohlenwasserstoff, welcher uns in reichlichen Mengen zur Verfügung steht, recht reaktionsfähig ist. Mit Eisessig-Schwefelsäure wandelt er sich in ein Sesquiterpen von gleicher Zusammensetzung, aber viel höherem spez. Gewicht und starker Linksdrehung um. Beim Schütteln mit verd. Schwefelsäure geht er leicht in einen Sesquiterpen-alkohol über, welcher bald erstarrt und sich durch Umkristallisieren bequem rein erhalten läßt. Wir nahmen zunächst an, daß dieser sekundärer Natur ist, da er sich mit Essigsäure-anhydrid quantitativ verestern läßt und wasser-abspaltenden Mittein starken Widerstand entgegensezt. Andererseits aber ist es nicht möglich, ihn mit Phthalsäure-anhydrid in den Phthal-ester überzuführen, und auch die Oxydation mit Chromsäure verläuft ohne Ergebnis. Dagegen gelingt es, nach der ausgezeichneten Vorschrift von H. Wienhaus²⁾ einen schön krystallisierenden Chromsäure-ester zu gewinnen, wodurch einwandfrei festgestellt wurde, daß es sich um einen tertiären Sesquiterpen-alkohol handelt. Bemerkenswert ist die außerordentliche Beständigkeit gegen anorganische Säuren. Selbst bei Behandlung mit konz. Salpetersäure wird der Alkohol nicht verändert, und auch alkohol. Schwefelsäure greift ihn nicht an.

¹⁾ Les essences de Térébenthine, S. 234.

²⁾ B. 47, 322 [1914].