

18. Jakob Blom:

Empfindliche und spezifische Reaktionen auf Nitrat und Hydroxylamin.

[Aus d. Pflanzenphysiol. Institut d., „Kongelig Veterinär og Landbohøjskole“, Kopenhagen.]
(Eingegangen am 9. Dezember 1925.)

Im November-Heft dieser „Berichte“ haben F. L. Hahn und G. Jaeger eine Methode zum Nachweis von Nitrat¹⁾ veröffentlicht, die sich auf eine Reduktion des Nitrats zu Nitrit und darauffolgende Bildung eines Azofarbstoffs gründet. Unabhängig von den Verfassern dieses Artikels habe ich auf demselben Prinzip eine qualitative Methode zum Nachweis von Nitrat basiert und diese Methode schon seit Februar 1925 bei Bodenuntersuchungen in etwa 70 Analysen angewandt.

Das von mir ausgearbeitete Verfahren weicht in wesentlichen Punkten von dem der genannten Verfasser ab. Die Ausarbeitung einer Methode zur quantitativen Bestimmung von Nitrat, die sich auf die Reduktion des Nitrats zu Nitrit gründet, stieß auf Schwierigkeiten und ist leider noch nicht beendet; ich sehe mich aber jetzt schon veranlaßt, die qualitativen Methoden zum Nachweis von Nitrat und Hydroxylamin, sowie zum Nachweis von Nitrat und Hydroxylamin neben Nitrit zu veröffentlichen.

Seit der Einführung der Bildung von intensiv gefärbten Azofarbstoffen als einer spezifischen, äußerst empfindlichen Reaktion auf salpetrige Säure hat es sehr nahe gelegen, einen exakten Nachweis von Salpetersäure und Hydroxylamin — also von Verbindungen, die sich durch einfache Reaktionen in salpetrige Säure überführen lassen — auf dieser Bildung von Azofarbstoffen zu basieren. Da aber salpetrige Säure bei der Reduktion von Salpetersäure, sowie bei der Oxydation von Hydroxylamin nur ein Zwischenprodukt darstellt, so war es die Aufgabe, die salpetrige Säure bei der Bildung sofort abzufangen. Diese Aufgabe läßt sich lösen, wenn man die Reduktion bzw. Oxydation in saurer Lösung in Anwesenheit eines diazotierbaren aromatischenamins ausführt. Die gebildete Diazoverbindung kann man darauf durch Kuppelung mit einem aromatischen Amin, Phenol usw. in einen Azofarbstoff überführen. Die Bildung des Farbstoffs zeigt dann die Anwesenheit von Salpetersäure bzw. Hydroxylamin an.

Bei Anwesenheit von Nitrit sind diese Reaktionen zum Nachweis von Nitrat bzw. Hydroxylamin natürlich nicht ohne eine vorhergehende Zerstörung des Nitrits ausführbar. Entweder kann man die salpetrige Säure zwecks Prüfung auf Nitrat durch Kochen mit Ammoniumcarbonat zersetzen, oder durch Behandlung mit Harnstoff und Schwefelsäure zerstören, oder auch mittels des von F. L. Hahn²⁾ empfohlenen 2,4-Diamino-6-oxy-pyrimidins

¹⁾ B. 58, 2335 [1925]. — In der Literatur (Ch. Z. 46, 862 [1922]) ist entgegen den Angaben der Verfasser keine frühere Mitteilung über diese Reaktion veröffentlicht.

²⁾ F. L. Hahn, B. 50, 705 [1917].

ausfällen. Bei der Zerstörung mit Harnstoff werden aber stets Spuren von Salpetersäure gebildet, da die Zersetzung der aus Nitrit in Freiheit gesetzten salpetrigen Säure sehr langsam verläuft. Zur Entfernung der salpetrigen Säure zwecks Prüfung auf Nitrat und Hydroxylamin kann man mit Erfolg nur die Diazotierung eines Amins und darauffolgende Zersetzung der Diazoverbindung anwenden. Wenn die im allgemeinen sehr schnell verlaufende Diazotierung in essigsaurer Lösung in der Kälte ausgeführt wird, und wenn die Diazoverbindung erst nach beendeter Reaktion durch Kochen zersetzt wird, so ist die Gefahr einer Bildung von Salpetersäure sehr stark herabgesetzt.

Es war wünschenswert, dieselben Reagenzien für den Nachweis von Nitrat und Hydroxylamin als auch zur Zerstörung der salpetrigen Säure anwenden zu können. Um diesen Wünschen zu genügen, werden an die Komponenten des Azofarbstoffs viele Anforderungen gestellt: leichte Löslichkeit in verd. Essigsäure, leichte Diazotierbarkeit, Unfähigkeit der Kuppelung der Diazoverbindung mit eigenem undiazotiertem Amin, eine gewisse Beständigkeit der Diazoverbindung bei Zimmertemperatur und leichte Zersetzbarkeit beim Erhitzen und endlich geringe Reaktionsfähigkeit des zu diazotierenden Amins mit Oxydationsmitteln. Der Azofarbstoff³⁾ muß in saurer Lösung eine intensive Farbe besitzen. Da der Farbstoff einen Indicator darstellt, muß der Umschlagspunkt unterhalb einer Wasserstoff-ionen-Konzentration von 10^{-4} ($p_H = 4$) liegen. Bei der Untersuchung von Natriumcarbonat-Auszügen erhält man bei der Ansäuerung mit Essigsäure Puffergemische, die in vielen Fällen nur ein p_H von 3.5–4.1 zeigen werden, z. B. Essigsäure: Natriumacetat = 8:1, $p_H = 3.8$.

Nach dem Durchprüfen mehrerer Azofarbstoffe fiel die Wahl auf das schon bei den ersten Versuchen angewandte Grießsche Reagens, Sulfanilsäure + α -Naphthylamin. Die Sulfanilsäure erfüllt im großen und ganzen die oben gestellten Anforderungen. Sie zeigt eine Löslichkeit von etwa 1 g in 100 ccm 30-proz. Essigsäure und reagiert nicht mit Jod, das als Oxydationsmittel für Hydroxylamin gewählt wurde. Die *p*-Diazobenzol-sulfonsäure kuppelt nur wenig mit Sulfanilsäure oder *p*-Phenol-sulfonsäure, die Reaktionsprodukte setzen die Empfindlichkeit des Nitrat- oder Hydroxylamin-Nachweises nur wenig herab, da sie eine schwach gelbe Farbe besitzen. Die Zersetzung der ziemlich beständigen *p*-Diazobenzol-sulfonsäure beim Kochen verläuft doch noch so schnell, daß sie innerhalb einiger Minuten vollendet ist. Als zweite Komponente wurde α -Naphthylamin gewählt, besser geeignet wäre *N*-Dimethyl- α -naphthylamin, das aber nicht käuflich zu erwerben ist. Die mit *p*-Diazobenzol-sulfonsäure gebildeten Azofarbstoffe beider Amine sind in saurer Lösung intensiv rot gefärbt; das Umschlagsgebiet von *p*-Benzol-sulfonsäure-azo-dimethyl- α -naphthylamin liegt bei p_H 5.0–5.7, während das Umschlagsgebiet der nichtmethylierten Verbindung bei p_H 3.5–5.7 liegt. Bei der Ansäuerung von Natriumcarbonat-Auszügen mit Essigsäure wird die Wasserstoff-ionen-Konzentration also oft innerhalb des Umschlagsgebietes der letzteren Verbindung fallen und eine Übergangsfarbe hervorrufen, während diese Gefahr beim entsprechenden Dimethylderivat weit geringer ist. Besonders bei quantitativen Bestimmungen ist die Umgehung dieser Gefahr von Bedeutung, aber auch beim qualitativen Nachweis kann die Bildung einer Übergangsfarbe zu Irrtümern Anlaß geben.

³⁾ Geeignete Azofarbstoffe mit den dazugehörigen Umschlagsgebieten findet man in Clark, The Determination of Hydrogen-Ions, 2. Auflage [1922], S. 86.

Reagenzien.

1. Nitrit- und nitrat-freies Wasser wurde durch Kochen von Leitungswasser mit Zink und Schwefelsäure und darauffolgende Destillation aus einem mit einem Hopkins-Aufsatz versehenen Kolben gewonnen. Nach F. L. Hahn und G. Jaeger⁴⁾ genügt eine einmalige Destillation von Leitungswasser zur Gewinnung von reinem Wasser.

2. Eine Lösung von Sulfanilsäure in Essigsäure: 10 g Sulfanilsäure werden in 1000 ccm 30-proz. Essigsäure durch Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst.

3. Eine Lösung von α -Naphthylamin in Essigsäure: 3 g α -Naphthylamin werden mit 700 ccm Wasser gekocht, darauf die farblose Lösung von dem blauvioletteten Rückstand abgegossen und mit 300 ccm Eisessig versetzt.

Die Lösungen von Sulfanilsäure und α -Naphthylamin werden getrennt aufbewahrt.

4. Eine Lösung von 1.3 g Jod in 100 ccm Eisessig.

5. Eine Lösung von 2.5 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 + 5\text{H}_2\text{O}$ in 100 ccm Wasser.

6. Eine Lösung von 0.7 g NaNO_2 in 100 ccm Wasser.

7. Nitrit- und nitrat-freien Zinkstaub gewinnt man durch 1-stdg. Erhitzen von Zinkstaub mit sehr verdünnter Essigsäure auf dem Wasserbade, nach dem Erkalten wird mit verdünnter Essigsäure versetzt, gut durchgerührt, abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Kleine Stücke einer Zinkstange oder Zinkgranalien werden durch Ätzen mit Säure und Waschen mit Wasser gereinigt.

Alle Reagenzien (außer 6) sind auf Nitrat oder Nitrit zu prüfen, und zur Darstellung wird natürlich nitrit- und nitrat-freies Wasser verwendet.

Nachweis von Nitrat und Hydroxylamin bei Abwesenheit von Nitrit.

Da Mineralsäuren die Reaktion auf Nitrit und somit auch auf Nitrat und Hydroxylamin unempfindlich machen, so sind diese vorher durch Natriumacetat abzustumpfen⁵⁾, neutrale oder alkalische Lösungen werden dagegen direkt mit einem Überschuß von Essigsäure versetzt.

Etwas 5 ccm der zu untersuchenden essigsäuren Lösung werden mit je 1 ccm der Lösungen von Sulfanilsäure und α -Naphthylamin versetzt. Die geringsten Spuren von Nitrit geben sich durch eine Rotfärbung zu erkennen.

Findet keine Rotfärbung statt, ist also Nitrit nicht anwesend, so kann die erhaltene, mit Sulfanilsäure und α -Naphthylamin versetzte Lösung direkt zur Prüfung auf Nitrat verwendet werden. Man wirft ein kleines Stück Zink oder einige Zentigramm Zinkstaub in die Lösung und beobachtet bei Anwesenheit von Nitrat eine langsam sich steigernde Rotfärbung, verursacht durch die Reduktion des Nitrats zu Nitrit und Bildung des Azofarbstoffs. Größere Mengen von Nitrat veranlassen eine Abscheidung des Farbstoffes.

Zur Prüfung auf Hydroxylamin bei Abwesenheit von Nitrit versetzt man einige Kubikzentimeter der ursprünglichen essigsäuren Lösung zuerst mit 1–2 ccm der Lösung von Sulfanilsäure und darauf mit $\frac{1}{2}$ ccm der Lösung von Jod in Eisessig. Man schüttelt gut durch und entfernt nach 2–3 Min. den Überschuß von Jod durch tropfenweise Zugabe eines geringen Überschusses von Natriumthiosulfat-Lösung. War Hydroxylamin anwesend, so gibt es sich nach Zugabe von α -Naphthylamin durch eine deutliche Rotfärbung der Flüssigkeit zu erkennen.

Da α -Naphthylamin durch Oxydationsmittel blauviolett gefärbt wird, so hat man das Jod vor der Zugabe von α -Naphthylamin quantitativ zu ent-

⁴⁾ F. L. Hahn und G. Jaeger, B. 58, 2335 [1925].

⁵⁾ Ilosvay v. Ilosva, Bl. [3] 2, 317.

fernen, doch ohne Anwendung eines zu großen Überschusses, da Essigsäure aus Thiosulfaten Schwefel abscheidet, der die Lösung trübt. Da die Schwefelabscheidung sehr langsam verläuft, vermag ein geringer Überschuß von Thiosulfat die Empfindlichkeit der Reaktion nicht herabzusetzen. Es gelingt nach dieser Methode, Hydroxylamin mit derselben Empfindlichkeit in einer konzentrierten Ammoniumchlorid-Lösung nachzuweisen. Bambergers Reaktion⁶⁾ und der Nachweis von Hydroxylamin mit Mercurichlorid werden unter diesen Bedingungen unempfindlich. Als Oxydationsmittel wurde Jod in Eisessig gewählt, da unter diesen Bedingungen weder eine Oxydation von Ammoniumverbindungen zu Nitrit, noch eine Reaktion des Jods mit Sulfanilsäure beobachtet werden konnte; zudem ist der Überschuß an Jod leicht zu entfernen, und die Oxydation von Hydroxylamin zu Nitrit findet schon bei Zimmertemperatur statt. Permanganat, Persulfat und Wasserstoffsperoxyd erwiesen sich als Oxydationsmittel ungeeignet. Die Anwendung von Jod-Jodkalium wurde aufgegeben, da die Gefahr vorliegt, daß die durch Oxydation von Hydroxylamin gebildete salpetrige Säure aus Jodwasserstoff Jod abscheidet und dadurch die Empfindlichkeit der Reaktion herabsetzt.

Nachweis von Nitrat und Hydroxylamin bei Anwesenheit von Nitrit.

Gibt die Prüfung auf Nitrit ein positives Resultat, so hat man mittels geeigneter Methoden die salpetrige Säure vor der Prüfung auf Nitrat und Hydroxylamin zu entfernen.

Zwecks Prüfung auf Nitrat kann das Nitrit nach den oben angegebenen Methoden zerstört werden, zwecks Prüfung auf Hydroxylamin ist nur die Zersetzung der durch Diazotierung von Sulfanilsäure gebildeten *p*-Diazobenzol-sulfonsäure anwendbar. Bei der Zerstörung der salpetrigen Säure mit Ammoniumcarbonat oder Harnstoff verläuft die Reaktion nämlich nicht so schnell, als daß nicht Hydroxylamin durch Nitrit unter Bildung von Stickoxydul zersetzt würde.

Um Nitrit durch Diazotierung und Verkochen der Diazoverbindung zu entfernen, wird nach Abstumpfen der Mineralsäuren mit Natriumacetat oder bei neutralen oder alkalischen Lösungen nach direktem Ansäuern mit Essigsäure die nitrit-haltige Lösung mit einem Überschuß der essigsauren Lösung von Sulfanilsäure versetzt. Nach Verlauf einiger Minuten kann man die Diazotierung als beendet ansehen, und es wird 3–4 Min. auf siedendem Wasserbade oder über freier Flamme erhitzt, um die gebildete *p*-Diazobenzol-sulfonsäure zu zerstören. Waren größere Mengen von Nitrit zugegen, so färbt sich die Lösung gelb. Es ist von Bedeutung, einen Überschuß von Sulfanilsäure anzuwenden, da überschüssige salpetrige Säure besonders beim Erhitzen zu einer Bildung von Nitrat Anlaß geben würde und ebenfalls anwesendes Hydroxylamin zersetzen würde. Um sich über die vollkommene Zerstörung der Diazoverbindung zu vergewissern, versetzt man einen Teil der Lösung mit einigen Tropfen der Lösung von α -Naphthylamin. Findet keine Rotfärbung statt, so hat man noch zu untersuchen, ob Sulfanilsäure im Überschuß zugegen ist. Ein Überschuß von Sulfanilsäure gibt sich nunmehr durch eine Rotfärbung bei Zugabe einiger Tropfen einer nitrit-haltigen Lösung zu erkennen.

⁶⁾ B. 32, 1805 [1899].

Die nach Zerstörung der Diazverbindung erhaltene, Sulfanilsäure und *p*-Phenol-sulfonsäure enthaltende Lösung kann nunmehr nach den oben erwähnten Methoden auf Nitrat und Hydroxylamin geprüft werden. Sind sehr große Mengen von Nitrit zugegen, und wünscht man nur auf Nitrat zu prüfen, so entfernt man vorteilhaft die Hauptmenge von Nitrit durch Erhitzen mit Ammoniumcarbonat und zerstört darauf den Rest nach dem Abkühlen durch Behandlung mit Sulfanilsäure und Essigsäure.

Empfindlichkeit der Reaktionen.

Es gelingt mit Hilfe des Grießschen Reagens, noch 0.001 mg Nitrit im Liter nachzuweisen. Nach der beschriebenen Methode liefert eine Lösung, die noch 1 mg Nitrat im Liter enthält, noch sichere Ergebnisse. Da der Azofarbstoff durch Zink und Essigsäure reduziert wird, so ist die Empfindlichkeit geringer als nach der Methode von Hahn (0.1 mg/l). Hydroxylamin läßt sich nach der beschriebenen Methode noch bei einer Konzentration von 0.01 mg/l mit Sicherheit nachweisen, und bei einiger Übung lassen sich noch 0.003 mg/l deutlich erkennen.

Zum Schluß möchte ich Hrn. Prof. Dr. Fr. Weis für das Interesse, das er mir bei der Ausführung dieser Arbeit erwies, danken.

19. Bror Holmberg:

Stereochemische Studien, XI.: Die Reaktions-Distanzen der Anionen.

(Eingegangen am 30. November 1925.)

Während man sich ohne Schwierigkeit einen doppelten Umtausch vorstellen kann, dessen erste Phase in einer Radikal- oder Ionen-Dissoziation besteht, ist dies nicht der Fall, wenn eine etwaige Dissoziation als ausgeschlossen erscheint, wie die vielen Vorschläge, den Mechanismus organisch-chemischer Reaktionen zu erklären, bezeugen. Einen Gedanken von Kekulé und Michael¹⁾ etwas weiter ausbauend, habe ich mir die durch die folgenden Formeln verdeutlichte Vorstellung über den intimeren Verlauf solcher Reaktionen gemacht:



Wenn die Umsetzung dem Zeitgesetz für bimolekulare Reaktionen gehorcht, werden die Zwischenstufen unmeßbar schnell durchlaufen, und von einer Isolierung oder einem sonstigen, direkten Nachweis einer Additionsverbindung kann in solchen Fällen keine Rede sein; die Formeln I—III stellen dann nichts anderes als willkürlich ausgewählte Momente eines kontinuierlichen Vorgangs dar. Im übrigen bin ich mir wohl bewußt, daß diese Formeln mehrere schwache Punkte enthalten, aber da sie die Neuerung darbieten, daß den Molekeln AX und BY wenigstens im Augenblick der Umsetzung verschieden große intramolekulare Abstände, die ich als Reaktions-

¹⁾ B. 34, 4028 [1901]; J. pr. [2] 68, 487 [1903].