

## Zusammenfassung.

Es wurde die kolorimetrische Bestimmung von  $\text{HgCl}_2$  mit Diphenylcarbazon für die Konzentrationsbereiche von  $0,1-1 \gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$  und  $1-10 \gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$  unter Berücksichtigung des Einflusses von Fremdionen und der Acidität ausgearbeitet. Die Bestimmungen erfolgten mit dem Photometer von *Pulfrich* und dem Filter S. 53.

Die durch stöchiometrische Messungen abgeleitete Struktur des Komplexes wird durch die Lage des Absorptionsmaximums gestützt.

Mit Hilfe des hochempfindlichen kolorimetrischen Verfahrens konnten die Dampfdrucke von  $\text{HgCl}_2$  nach der Mitführungsmethode (Trägergas Stickstoff) im Temperaturbereich von  $11-59^\circ$  bestimmt werden.

Die gefundenen Werte werden durch die Gleichung:

$$\log p_{\text{mm Hg}} = -\frac{4358}{T} + 10,693$$

gut dargestellt. Diese Gleichung stellt auch vorliegende Druckwerte aus Temperaturgebieten bis gegen  $200^\circ$  gut dar. Bis zu diesen Temperaturen besteht somit der Dampf aus einfachen Molekeln. Die Sublimationswärme ergibt sich daraus zu  $20,0 \text{ Kcal}$ .

Laboratorium für anorganische Chemie  
Eidg. Technische Hochschule, Zürich.

## 229. Zur Kenntnis der jodometrischen Bestimmung von Harnsäure

von **W. D. Treadwell** und **A. Wahl**.

(11. IX. 54.)

Zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure ist von *E. Riegler*<sup>1)</sup> die Oxydation mit *Fehling'scher* Lösung vorgeschlagen worden, wobei von 1 Mol Harnsäure 2,12 Atome  $\text{Cu}^{\text{II}}$  zu  $\text{Cu}^{\text{I}}$  reduziert wurden. Der Kupfergehalt des abfiltrierten Niederschlages wurde in bekannter Weise jodometrisch bestimmt. *Vaubel*<sup>2)</sup> bestimmt den Kupfergehalt im ausgeschiedenen Kupfer(I)-oxyd nach der Kaliumcyanidmethode (Entfärbung der ammoniakalischen Lösung als Kupfer(II)-Salz durch Titration mit Kaliumcyanid) und kommt zum selben Resultat wie *Riegler*. *Schewket*<sup>3)</sup> fällt die Harnsäure mit Quecksilber(II)-acetat und titriert den Niederschlag mit Permanganat. Von 1 Mol Harnsäure werden 2 Oxydationsäquivalente Permanganat verbraucht.

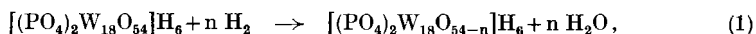
<sup>1)</sup> *E. Riegler*, Z. anal. Ch. **35**, 31 (1896).

<sup>2)</sup> *W. Vaubel*, Methoden der quant. Best. org. Verb. I, 193 (1902).

<sup>3)</sup> *Ö. Schewket*, Z. anal. Ch. **91**, 317 (1933).

Praktisch besonders wichtig zur Bestimmung kleiner und kleinster Mengen von Harnsäure ist die Oxydation derselben nach *Folin & Denis*<sup>1)</sup> in sodaalkalischer Lösung mit 2-Phosphor-18-Wolframsäure, wobei klare Lösungen von Wolframblauchphosphat erhalten werden können, deren Farbstärke der angewandten Harnsäure proportional ist. Von *Wu*<sup>2)</sup> sind die Vorgänge bei der Farbentwicklung der Reaktion näher untersucht worden. Durch Alkalisierung der Lösung mit Natriumcyanid an Stelle von Soda nach dem Vorschlag von *Benedict*<sup>3)</sup> werden viel intensivere Färbungen erzielt. Nach *Folin*<sup>4)</sup> werden so die Färbungen etwa zehnmal intensiver. *H. Brown*<sup>5)</sup>, der die Rolle des Natriumcyanids bei der Farbentwicklung näher untersucht hat, konnte bei optimaler Wahl der Cyanidkonzentration Mengen von 0–0,2 mg Harnsäure in 100 cm<sup>3</sup> durch Messung der Blaufärbungen bestimmen.

*Collenberg & Backer*<sup>6)</sup> geben für die 2-Phosphor-18-Wolframsäure folgende Formel an:  $[(\text{PO}_4)_2\text{W}_{18}\text{O}_{54}]\text{H}_6$ . Die Reduktion dieser Säure erfolgt leicht im Sinne der Gleichung:



wobei *n* Werte von 1–3 haben kann.

Um einen Vergleich mit den weiter unten beschriebenen jodometrischen Titrationsen machen zu können, sollen hier kurz einige von unseren Ergebnissen mit der kolorimetrischen Methode nach *Folin*<sup>4)</sup> angeführt werden.

Herstellung der 2-Phosphor-18-Wolframsäure: 29,6 g Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>·2aq (0,09 Mole) mit höchstens 0,01% Molybdat und 7,3 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12aq (0,01 Mole) wurden in 30 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und die Lösung unter gutem Umrühren tropfenweise mit 11 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 20 cm<sup>3</sup> versetzt. Zur Bildung der komplexen Säure wurde das Gemisch 2 Std. am Rückflusskühler gekocht, wobei die Lösung eine ganz schwache blaugrüne Färbung annahm. Nach dem Erkalten wurde auf 500 cm<sup>3</sup> verdünnt.

Die Harnsäurelösung: 1 g reinste Harnsäure wurde unter Zusatz von 0,7 g Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 100 cm<sup>3</sup> siedendem Wasser gelöst und die Lösung hierauf mit ausgekochtem Wasser zum Liter verdünnt, so dass 1 cm<sup>3</sup> der Lösung 1 mg Harnsäure enthielt. Da die Lösung durch Luftsauerstoff langsam oxydiert wird, wurde sie jede Woche neu hergestellt.

Die Natriumcyanidlösung: Eine 12-proz. Lösung von reinstem Natriumcyanid wurde verwendet, die wegen ihrer geringen Haltbarkeit täglich neu hergestellt wurde.

Die Entwicklung der Farbe: Eine Probe der obigen Harnsäurelösung wurde unmittelbar vor den Versuchen soweit verdünnt, dass 1 cm<sup>3</sup> 1 γ Harnsäure enthielt. Hiervon wurden für die einzelnen Bestimmungen Proben von 0–50 γ Harnsäure verwendet. Für die Entwicklung der Blaufärbungen erweist sich die Reihenfolge, in der die Reagenzien gemischt werden, von Einfluss. Diese wurde stets wie folgt eingehalten:

1) *O. Folin & W. Denis*, *J. Biol. Chem.* **12**, 239 (1912).

2) *H. Wu*, *J. Biol. Chem.* **43**, 189 (1920).

3) *S. R. Benedict*, *J. Biol. Chem.* **51**, 187 (1922).

4) *O. Folin*, *J. Biol. Chem.* **106**, 311 (1934).

5) *H. Brown*, *J. Biol. Chem.* **158**, 601 (1945).

6) *O. Collenberg & J. Backer*, *Z. El. Ch.* **30**, 230 (1924).

In einen Messkolben von 25 cm<sup>3</sup> wurden nacheinander eingefüllt: 1. 5 cm<sup>3</sup> NaCN-Lösung, 2. 0–10 cm<sup>3</sup> Lösung der Harnsäure, 3. 5 cm<sup>3</sup> Lösung der Phosphorwolframsäure, 4. 15–5 cm<sup>3</sup> Wasser.

Zur Entwicklung der Blaufärbung wurden die Proben während 2 Std. in einen Thermostaten von 20° gestellt. Die Verfolgung der zeitlichen Entwicklung der Färbung in Versuchsreihen bei 20° und bei 40° hatte gezeigt, dass das Maximum der Intensität in beiden Reihen nach 80 Min. erreicht war und dann mindestens 1 Std. unverändert bestehen blieb. Das Maximum der Absorption liegt im Bereich von 7000–7500 Å.

Die Messung der Farbstärken wurde mit einem einfachen *Hilger*-Photometer mit dem *Hilger*-Rotfilter OR 2 ausgeführt, unter Verwendung einer Küvette von 2 cm Schichtdicke (Inhalt ca. 15 cm<sup>3</sup>). Fig. 1 zeigt den geradlinig verlaufenden Anstieg der Extinktion mit dem Gehalt der Lösung an Harnsäure (0–40 γ pro 50 cm<sup>3</sup>). Die merkliche Färbung des Reagenzgemisches an sich bewirkt, dass die Gerade nicht durch den Nullpunkt geht.

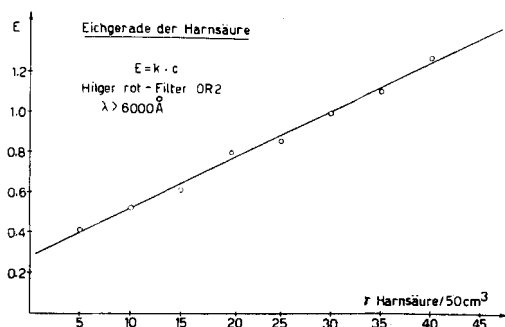


Fig. 1.

Eine alkalische Lösung von Harnsäure wird vom Luftsauerstoff langsam oxydiert. Hierbei entsteht, wie *J. Pech*<sup>1)</sup> gezeigt hat, ein Oxydationsprodukt, das polarographisch leicht reduziert werden kann, während reine Harnsäure unter analogen Bedingungen nicht reduziert wird.

In orientierenden Versuchen zur amperometrischen Bestimmung der Harnsäure konnten wir feststellen, dass analytisch brauchbare Ergebnisse mit einer rotierenden Platinanode erzielt werden können<sup>2)</sup>. Zur weiteren Prüfung der Oxydierbarkeit der Harnsäure wurden 100 cm<sup>3</sup> 5·10<sup>-3</sup>-m. Lösung 5 Tage zwischen Platinelektroden einer Klemmenspannung von 1,2 V ausgesetzt. In der Lösung konnte sodann Harnstoff mit Xanthidrol nach *Winterstein*<sup>3)</sup> nachgewiesen werden.

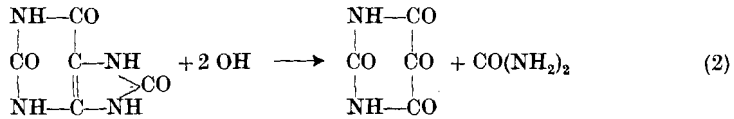
Zur Prüfung auf das zweite Oxydationsprodukt, das Alloxan, wurde eine weitere Probe des Elektrolyten mit Salzsäure angesäuert und mit Schwefelwasserstoff reduziert. Mit Ammoniak alkalisch gemacht, zeigte die Lösung die typische purpurrote Färbung von Murexid (bestätigt durch Kontrolle des Absorptionsspektrums),

<sup>1)</sup> *J. Pech*, Coll. Trav. chim. Tchecoslov. **6**, 126 (1934).

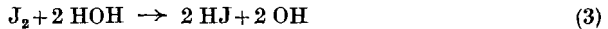
<sup>2)</sup> Weitere Einzelheiten über die polarographischen Versuche werden in der Diss. von *A. Wahl* mitgeteilt.

<sup>3)</sup> *A. Winterstein*, Diss. ETH. Zürich, 1919.

während die ursprüngliche, oxydierte Lösung mit Ammoniak keine Färbung ergab. Die elektrolytische Oxydation der Harnsäure in der hydrogencarbonatalkalischen Lösung erfolgte demnach im Sinne der Gleichung:



Bei der Oxydation der Harnsäure in hydrogencarbonatalkalischer Lösung mit Jod kann man sich die Bildung der erforderlichen beiden Hydroxyle, über unterjodige Säure als Zwischenprodukt, nach:



denken. Orientierende Versuche hatten gezeigt, dass die Titration zweckmässig in Lösungen durchgeführt wird, die mit Natriumhydrogencarbonat gesättigt sind (Bildung von merklichen Konzentrationen an unterjodiger Säure). Mit Stärkelösung wird eine recht befriedigende Anzeige des Endpunktes der jodometrischen Titration erreicht. Zumal wenn es sich darum handelt, sehr kleine Mengen zu titrieren, muss mit vollkommen entlüfteten Lösungen gearbeitet werden, um Verluste an Harnsäure durch Luftoxydation zu vermeiden.

Tab. 1 zeigt die Resultate von einigen jodometrischen Titrationen der Harnsäure in gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, die mit Stärkelösung als Indikator erhalten worden sind. Zwischen der vorgelegten Harnsäure und dem Jodverbrauch besteht eine befriedigende Proportionalität, wobei nach Gl. (2) und (3) von 1 Mol J<sub>2</sub> 1 Mol Harnsäure oxydiert wird.

Tabelle 1.

mg vorgelegte Harnsäure in 50 cm <sup>3</sup>	Verbrauch an Jodlösung	mg Harnsäure gefunden
50,0	5,88 cm <sup>3</sup> 0,1-n.	49,43
20,0	2,38 cm <sup>3</sup> 0,1-n.	19,91
10,0	1,18 cm <sup>3</sup> 0,1-n.	9,94
5,0	0,59 cm <sup>3</sup> 0,1-n.	4,90
1,0	1,04 cm <sup>3</sup> 0,01-n.	0,87
Titrationen unter Luftabschluss, in Stickstoff		
1,0	1,18 cm <sup>3</sup> 0,01-n.	0,99
0,5	5,70 cm <sup>3</sup> 0,001-n.	0,48
0,1	1,19 cm <sup>3</sup> 0,001-n.	0,11

Empfindlicher noch als die Endpunktsbestimmung mit Stärkelösung ist die elektrometrische Titration unter Verwendung einer blanken Platinelektrode als Potentialsonde. Fig. 2 zeigt einige Bei-

spiele von solchen Titrationskurven. Wie man sieht, wird der Endpunkt durch einen sehr schroffen, zweiwertigen Sprung angezeigt, der erwarten lässt, dass auch noch wenige  $\gamma$  Harnsäure pro  $\text{cm}^3$  elektrometrisch rasch und genau bestimmbar sein sollten<sup>1)</sup>.

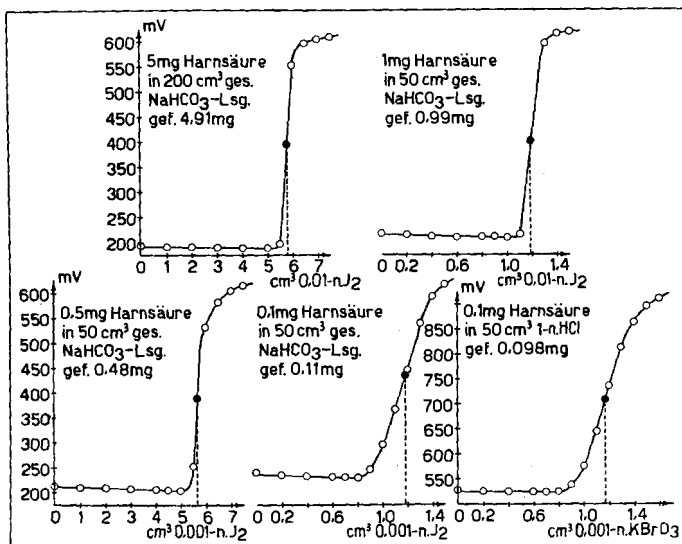
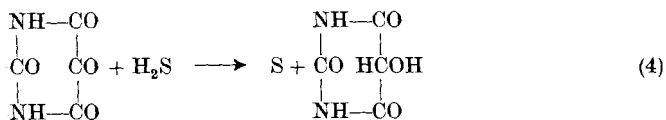


Fig. 2.

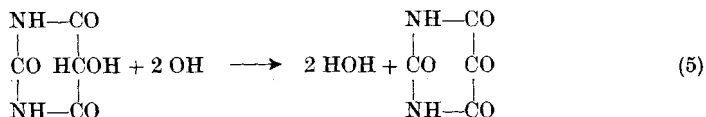
Der Vergleich der letzten beiden Kurven in Fig. 2 zeigt, dass die Titration der Harnsäure in saurer Lösung mit Bromid-Bromat ganz analog wie mit Jod in hydrogencarbonatalkalischer Lösung verläuft.

Zur Bestimmung des Alloxans, das bei der jodometrischen Titration der Harnsäure gebildet wird, kann die Lösung zu Dialursäure reduziert und diese nun jodometrisch wieder zu Alloxan oxydiert werden.

Alloxan kann, wie bekannt, mit Schwefelwasserstoff leicht zu Dialursäure reduziert werden:



worauf die Oxydation mit Jod ausgeführt wird:



<sup>1)</sup> Am weiteren Ausbau der elektrometrischen Titration wird zur Zeit in unserem Laboratorium gearbeitet.

Wir fanden, dass die Reduktion auch leicht in einem Cadmiumfilter<sup>1)</sup>, in schwefelsaurer Lösung bei erhöhter Temperatur, ausgeführt werden kann:

Das Cadmiumfilter bestand aus einer 30 cm<sup>3</sup> hohen Schicht von feinen, elektrolytisch erzeugten Cadmiumflittern in einem Rohr von 1 cm lichter Weite. Die mit einigen Tropfen Schwefelsäure angesäuerte Lösung von Alloxan wurde auf 80° erwärmt und nun langsam durch den Reduktor in das sorgfältig entlüftete und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung beschickte Titrationsgefäß tropfengelassen. Der vom Filter zurückgehaltene Rest der Lösung wurde mit Wasser nachgespült. Fig. 3 zeigt die Titration von 35 mg Alloxan, die zuvor in der oben angegebenen Weise zu Dialursäure reduziert worden sind. Das nach *Michaelis*<sup>2)</sup> eingezeichnete Indexpotential  $E_1$  zeigt den für eine zweiwertige Oxydation geltenden theoretischen Wert von 14 mV.

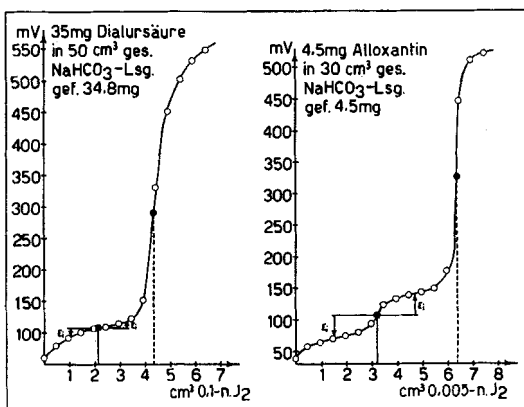
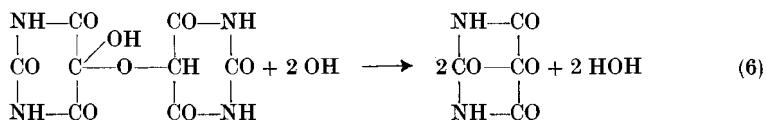


Fig. 3.

Im Gegensatz zur freien Dialursäure liefert die Molekelverbindung derselben mit Alloxan, das recht schwer lösliche Alloxanthin, bei der jodometrischen Titration eine in zwei scharf getrennten einwertigen Stufen verlaufende Potentialkurve mit einem über 40 mV liegenden Indexpotential.

Fig. 3 zeigt eine solche Titration von 4,5 mg Alloxanthin in 30 cm<sup>3</sup> gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung mit 0,005-n. J<sub>2</sub>. Der Verbrauch von 6,25 cm<sup>3</sup> entspricht 4,46 mg Alloxanthin, berechnet nach der Brutto-Oxydation:



Die elektrometrische Titration gestattet also in einfacher Weise zwischen freier Dialursäure und ihrer Molekelverbindung mit Alloxan zu unterscheiden.

Für die Titration wurde von käuflichem Alloxanthin ausgegangen, welches zuvor von vorhandenen kleinen Beimengungen an Alloxan durch Auslaugen mit Wasser getrennt worden war.

<sup>1)</sup> Vgl. *W. D. Treadwell*, *Helv.* **4**, 558 (1921).

<sup>2)</sup> *L. Michaelis*, *Oxydations-Reduktions-Potentiale*, S. 91 (1933).

Auch Alloxanthin lässt sich analog wie Alloxan im Cadmium-reduktor zur Dialursäure reduzieren. Gegenüber dem Ausgangsstoff wird dadurch der Jodverbrauch in der hydrogencarbonatalkalischen Lösung verdoppelt und erfolgt nun nicht mehr in zwei getrennten Stufen.

#### Zusammenfassung.

1. Es wurde die jodometrische Titration von Harnsäure in hydrogencarbonatalkalischer Lösung untersucht. Zum Vergleich wurde die Titration in saurer Lösung mit Bromid-Bromat und die kolorimetrische Bestimmung in cyankalischer Lösung mit 2-Phosphor-18-Wolframsäure nach *Folin* herangezogen.

2. Auf Grund von orientierenden Versuchen wurde auf die Möglichkeit einer amperometrischen Bestimmung von kleinen Konzentrationen von Harnsäure hingewiesen, unter Verwendung einer blanken Platinelektrode als Anode.

3. Es wurde gezeigt, dass Alloxan bei ca. 80° in einem Cadmiumfilter leicht quantitativ zu Dialursäure reduziert werden kann. Die jodometrische Oxydation der Säure in hydrogencarbonatalkalischer Lösung führt in einem zweiwertigen Sprung wieder zurück zum Alloxan.

4. Zum Unterschied von der freien Dialursäure erfolgt die jodometrische Oxydation ihrer Molekelverbindung mit Alloxan, des Alloxanthins, in zwei scharf getrennten einwertigen Stufen zum Alloxan.

Laboratorium für anorganische Chemie  
Eidg. Technische Hochschule, Zürich.

### 230. Der Zustand von Diazoverbindungen bei verschiedenem pH. Azokupplungen in stark alkalischem Medium<sup>1)</sup>

von C. Wittwer und Hch. Zollinger.

(11. IX. 54.)

Bis jetzt sind Kupplungsreaktionen nur in saurem oder schwach alkalischem Gebiet kinetisch gemessen worden. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass bei pH-Werten zwischen 2,1 und 9,5 stets das Diazoniumion mit der alkalischen Form der Kupplungskomponente (Phenolation bzw. freies Amin) reagiert.

Wir interessierten uns nun für den Verlauf von Kupplungsreaktionen im stärker alkalischen Bereich. Wird eine Diazolösung

<sup>1)</sup> Zur Kenntnis der Kupplungsreaktion, 8. Mitteilung. 7. Mitteilung vgl. *Helv.* **36**, 1730 (1953).