814

ACTA CHIMICA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

L. ERDEY, S. MÜLLER, G. SCHAY

AC

R. BOGNÁR, GY. BRUCKNER, A. BUZÁGH, T. ERDEY-GRÚZ, G. FODOR, Z. FÖLDI, M. FREUND, Á. GERECS, Á. KISS, J. PROSZT, E. SCHULEK, Z. SZABÓ, J. VARGA, L. VARGHA

REDIGIT

Z. CSŰRÖS

TOMUS 9. FASCICULI 1—4.

AKADÉMIAI KIADÓ BUDAPEST

1956

ACTA CHIMICA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÉMIAI TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTI
CSŰRÖS ZOLTÁN

TECHNIKAI SZERKESZTŐ
FINÁLY ISTVÁN
BUDAPEST, XI., MÉNESI ÚT 96.

Az Acta Chimica német, angol, francia és orosz nyelven közöl értekezéseket a kémiai tudományok köréből.

Az Acta Chimica változó terjedelmű füzetekben jelenik meg. Több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok, géppel írva, a technikai szerkesztő címére küldendők.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi levelezés.

Az Acta Chimica előfizetési ára kötetenként belföldre 80 Ft, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az „Akadémiai Kiadó"-nál (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-44), a külföld számára pedig a „Kultura" Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Bankszámla: 43-790-057-181), vagy külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

Die Acta Chimica veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der chemischen Wissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die Acta Chimica erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Chimica
Budapest 62, Postafiók 440.

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion bestimmte Korrespondenz zu richten.

Abonnementspreis pro Band: 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Aussenhandels-Unternehmen »Kultura« (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Bankkonto Nr: 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

GELEITWORT

Der vorliegende Band 9 enthält den Text der Abhandlungen samt Diskussionen, die im Rahmen der *I. Ungarisch—Tschechoslowakischen Polarographischen Konferenz* vorgetragen wurden. Die Konferenz, welche 178 ungarische und 17 tschechoslowakische Teilnehmer zählte, fand vom 11. bis 14. August 1955 in *Veszprém* (Ungarn) statt. Zu den insgesamt 45 Originalmitteilungen trugen die tschechoslowakischen 17, die inländischen Forscher 28 Stück bei. Um diese letztere, im Verhältnis bescheidenere Teilnahme beurteilen zu können, soll nur erwähnt werden, dass die *wissenschaftliche Forschung* auf dem Gebiete der Polarographie in Ungarn eigentlich erst vor etwa 5 Jahren ihren Aufschwung nahm. Die Mehrzahl der Vorträge wurde in deutscher Sprache gehalten, einige Teilnehmer bedienten sich aber auch anderer Sprachen (tschechisch, ungarisch, französisch, englisch), mit Hinsicht auf die Einheitlichkeit werden hier jedoch auch diese in deutscher Sprache wiedergegeben.

Die beträchtliche Zahl der ungarischen Konferenzteilnehmer beweist jedenfalls, dass für die polarographische Methodik auch das allgemeine Interesse recht stark gestiegen ist, so dass die Veranstaltung dieser Konferenz durch die *VII. Klasse der Ungarischen Akademie der Wissenschaften* in Gemeinschaft mit dem *Verein Ungarischer Chemiker* keinesfalls als verfrüht angesehen werden kann.

Ausser dem Vorausgeschickten darf aber nicht vergessen werden, dass die Teilnahme von Akademiker JAROSLAV HEYROVSKÝ, des Ehrenmitgliedes der Ungarischen Akademie der Wissenschaften und seiner weltbekannten Schule wohl als eine der stärksten Anziehungskräfte der Konferenz galt. Es ist nur natürlich, dass zum wissenschaftlichen Erfolge der Konferenz Akademiker HEYROVSKÝ und seine besten Mitarbeiter das meiste beigetragen hatten u. zw. nicht allein durch ihre Originalvorträge, sondern ebenso durch ihre rege Teilnahme an den Diskussionen.

In der Vorbereitung der Konferenz hat sich von Seiten des Vereines Ungarischer Chemiker Generalsekretär M. PREISICH und besonders V. CIELESZKY als Leiter der polarographischen Fachabteilung des Vereines verdient gemacht. Für die gute Veranstaltung und vorzügliche Abwicklung der Tagungen gebührt aber der Dank der Teilnehmer nicht nur der Leitung des Vereines, sondern in erster Linie dem Dekan der *Veszprémer Universität für Chemische Industrie*, Prof. K. POLINSZKY und dem daran beteiligten Universitätspersonal. Das Manuskripten- und Illustrationsmaterial wurde zur Drucklegung von E. BODOR mit lobenswerter Sorgfalt bearbeitet.

Budapest, Sommer 1956.

Im Namen des Konferenzausschusses

J. PROSZT

' Korr. Mitglied der Ungarischen Akademie der Wissenschaften

NEUERE RICHTUNGEN IN DER POLAROGRAPHIE

J. HEYROVSKÝ

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Die Entwicklung und Verbreitung der Polarographie ruft einen immer steigenden Bedarf an Diskussionen und Kolloquien und zuweilen auch an Veranstaltungen von Konferenzen hervor. Da wir nun einem selten bedeutungsvollen Kongress beiwohnen, möchte ich vorerst noch kurz die ganz junge Geschichte der Zusammenkünfte der Polarographisten erwähnen. Der erste und zwar 4tägige polarographische Kongress wurde in Prag im Feber 1951 abgehalten. Es war eine internationale Zusammenkunft, da auch einige ausländische Gäste eingeladen wurden — aus Ungarn Prof. L. ERDEY und Frau Dr. I. AJTAY. Im Feber 1952 fand eine 2tägige slowakische Konferenz in Bratislava über praktische Polarographie statt und im Juni 1954 wurde eine 5tägige Konferenz über theoretische Polarographie in Smolenice (Slowakei) veranstaltet, welcher auch ausländische Gäste, darunter Prof. J. PROSZT aus Ungarn, beiwohnten. Inzwischen wurde bereits am 2. Juni 1950 die erste australische polarographische Konferenz an der Universität zu Sydney, bei welcher 9 Abhandlungen vorgetragen wurden und am 1. und 2. Juni 1954 die zweite australische Konferenz mit 18 Vorträgen abgehalten. Beim internationalen physikochemischen Kongress für reine und angewandte Chemie in Stockholm im Jahre 1953 wurden der Polarographie zwei Halbtagssitzungen gewidmet. In Japan gibt es — dank dem Bestreben von M. SHIKATA — eine gute Organisation der Polarographisten mit häufigen Versammlungen. Anlässlich des 30. Jahrestages seit der Einführung des Polarographen wurde in Tokyo am 17. und 18. November 1954 eine grosse Tagung der Polarographisten veranstaltet. In London wurde im Jahre 1954 bei der *Society of Public Analysts* die Gruppe »*Polarographic Panel*« gebildet, die im November 1954 in die selbständige »*Polarographic Society*« überging und — ebenso wie die ähnlichen polarographischen Zweiggruppen der ungarischen und slowakischen Chemischen Gesellschaft — regelmässige Sitzungen mit Diskussionen veranstaltet. In Warschau fand im November 1954 ein Symposium der Biochemiker und Biologen über polarographische Reaktionen von Blut und Serum statt. In Italien entfaltet G. SEMERANO am physikochemischen Institut der Universität zu Padova eine rege polarographische Tätigkeit und leitet hier das »*Centro di Studio per la Polarografia*« ; dieses veranstaltet jähr-

lich polarographische Sommerkurse, Vorlesungen und Besprechungen in Bressanone.

Nun zum Begriff der »Polarographie« möchte ich erwähnen, dass er mit der Zeit Änderungen erfahren hat. Als der automatische Polarograph noch nicht existierte, sprach man nur von Studien der reproduzierbaren Stromspannungskurven, die allein mit der tropfenden Quecksilberelektrode erhalten werden konnten. Seit dem Jahr 1924, in dem die Methode durch den selbstregistrierenden Polarographen automatisiert wurde, versteht man unter dem Begriff der Polarographie alle Untersuchungen der elektrolytischen Vorgänge, bei denen der Polarograph benutzt wird oder sonstige reproduzierbare Polarisationserscheinungen erforscht werden. Namentlich eignet sich diese Bezeichnung für die oszillographische Polarographie. In diesem breiten Sinn wurde die Bezeichnung von den sowjetischen und auch von mehreren anglosächsischen Elektrochemikern und Analytikern benützt.

In der letzten Zeit stellten sich KOLTHOFF [1] und DELAHAY [2] gegen eine derart erweiterte Auffassung des Begriffes der Polarographie und wollten im allgemeinen das Studium der Stromspannungskurven als Voltametrie benennen. Nur für die kapillaren Quecksilberelektroden tolerieren sie die Bezeichnung Polarographie. Ich möchte einwenden, dass das Wort Voltametrie keine Methode, sondern nur ein Stromspannungsdiagramm bezeichnet und daher sowohl auf dem Gebiet der reinen Physik (Untersuchungen über das OHMsche Gesetz, über die Charakteristik der Elektronenröhren) als auch in der Elektrochemie benutzt werden kann. Dagegen gibt es in der Polarographie — welche die Erscheinungen an den Quecksilberkapillarelektroden untersucht — nicht nur Stromspannungsdiagramme, sondern auch Strom-Zeit-Kurven (i—t) und Potential-Zeit-Kurven neben den mikroskopischen Beobachtungen der Oberfläche des polarisierten Quecksilbers. Ich werde mich also nur auf diese engere Polarographie beschränken und über neuere Methoden berichten, ob sie nun auf speziellen Apparaturen oder bloss auf chemischen Eingriffen beruhen.

Um den Einfluss der Polarographie in der Entwicklung der Naturwissenschaften zu erwähnen, erlaube ich mir hier die Einleitung des II. australischen Kongresses von Prof. CRAIG zu zitieren [3] : In der breiten Abteilung der gesamten Elektrochemie nimmt nun die Polarographie eine sehr feste Stellung als erprobte Unterabteilung ein, die zu den weiteren Gebieten vieles Wichtiges beigetragen hat. Während der vergangenen zehn oder zwanzig Jahre war die Polarographie in einer bemerkenswerten Weise die aktivste von allen Unterabteilungen. Sie hat geholfen die Elektrochemie am Leben zu erhalten und ihr unbestreitbarer Wert als analytische Methode ruft die Aufmerksamkeit derer hervor, die mehr über die Elektrodenvorgänge erforschen möchten.

Die Kapillaren für die tropfende Elektrode werden nun aus Thermometerkapillaren verschiedener Dicke (äusserer Durchmesser 3—6 mm, lichte Weite 0,05 bis 0,1 mm) und einer Länge von 10 bis 25 cm verfertigt. Die Durchströ-

mungsgeschwindigkeit kann nicht nur durch die Höhe des Quecksilberbehälters, sondern auch — namentlich bei kürzeren Röhren — durch Einengen der Kapillarenweite in der Flamme erzielt werden. Die Kapillare wird mit dem Behälter am besten durch einen durchsichtigen Kunststoffschlauch (z. B. Polyvinylchlorid »Igelit«) verbunden. Da dieser Stoff nicht sehr elastisch ist und beim Ansatz an die Glaskapillare leicht einen Knick erleidet, wird er mit Vorteil an das Ende einer nach MAŠEK [4] abgebogenen Kapillare (Abb. 1) befestigt. Im vergangenen Jahre wurde von SMOLEŇ [5] die horizontale (oder ver-

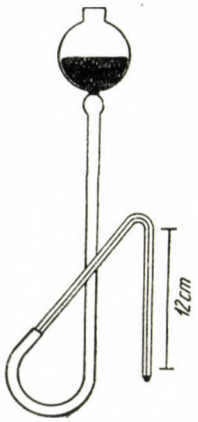


Abb. 1. Die gebogene Kapillare nach J. MAŠEK zu Kunststoffschläuchen

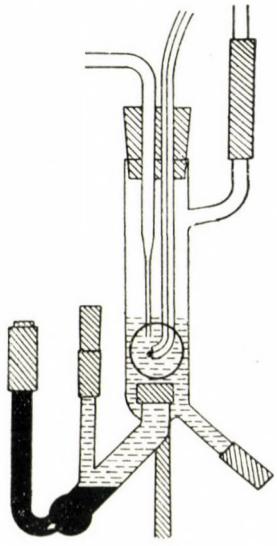


Abb. 2. Die Vertikal abgeschnittene Kapillare nach I. SMOLEŇ

tikal abgeschnittene) Kapillare eingeführt (Abb. 2), die infolge der kürzeren labilen Schwebezeit der Tropfen regelmässigere Kurven liefert als die senkrechte (Abb. 3). Das Verhalten der horizontalen Kapillare liegt den theoretischen Erwartungen gemäss dem ILKOVIČschen Gesetz näher. Um eine Benetzung des Inneren der Kapillare zu vermeiden, empfiehlt VON STACKELBERG [6] silikonierte Kapillaren. Die so hergerichteten Elektroden weisen jedoch eine anomale Kapillarität auf.

Eine spezielle Modifikation (Abb. 4) der sich erneuernden Quecksilberelektrode ist die strömende Elektrode [7], die zwar für oszillographische Zwecke eingeführt wurde, jedoch in der gewöhnlichen Polarographie namentlich bei der Erforschung der Kinetik der Elektrodenvorgänge [8] gute Dienste zu leisten vermag. Es wurden auch andere Formen der Quecksilberelektrode entworfen, wie z. B. die in einem engen Rohr aufgefangenen Quecksilbertropfen, deren Meniskus als Kathode dienen soll [9], oder die sogenannte »*pinhole*« Elektrode,

die aus einem Glasröhrchen besteht, in welchem Quecksilber zirkuliert und durch ein enges Loch im Glas mit der Lösung in Berührung kommt [10]. Auch ruhende kleine Quecksilberelektroden *(»pool electrodes«)* werden benützt. Die Einrichtung von STREULI und COOK [11] erhöht zwar die Empfindlichkeit und vermin-

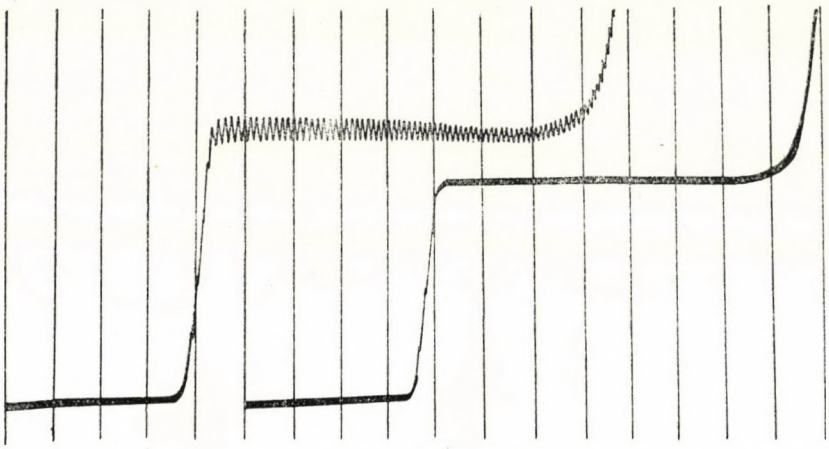


Abb. 3. Der Diffusionsstrom der Cd^{2+}-Ionen : links mit der vertikalen, rechts mit der horizontalen Kapillare

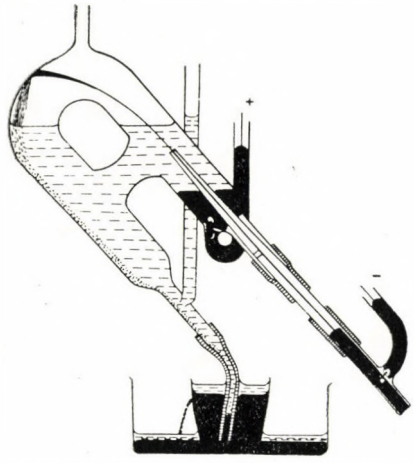


Abb. 4. Die strömende Quecksilberelektrode

dert den Ladungsstrom, sie bringt aber Komplikationen durch ihre Abhängigkeit von der Zeitdauer und der Richtung des Polarisationsverlaufes mit sich. In ganz vereinzelten Fällen, wie bei der Sauerstoffbestimmung durch Daueranalysatoren, ist die ruhende Elektrode von Vorteil [12].

Von den festen Elektroden werden meistens Platinstiftelektroden gebraucht, die, wenn sie schnell rotieren oder vibrieren, oder von der strömenden

Lösung umspült werden, den Eigenschaften der tropfenden Elektrode näherkommen. Obwohl diese Elektroden zu Zwecken theoretischer Erörterungen nicht geeignet sind, ist ihr praktischer Wert beträchtlich, da sie das anwend-

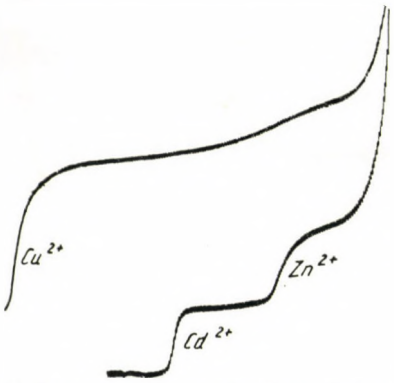


Abb. 5. Das subtraktive Verfahren. Eine Lösung enthält $5 \cdot 10^{-3}$n Cu^{2+}, 1n KNO_3, 10^{-4}n HNO_3, die zweite noch dazu $5 \cdot 10^{-5}$n Zn^{2+} und $5 \cdot 10^{-5}$n Cd^{2+}. Die obere Kurve zeigt die Summe von beiden Strömen mit Empfindlichkeit 1 : 400, die untere deren Differenz mit höchster Empfindlichkeit (1 : 1). Bei Luftzutritt polarographiert

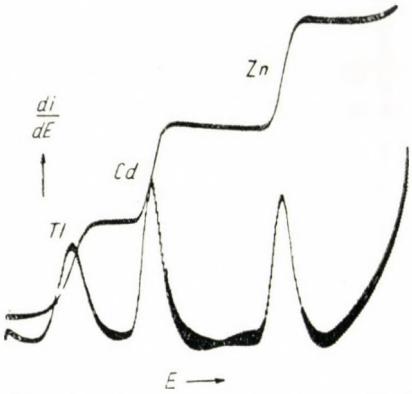


Abb. 6. Ableitungsverfahren mit Zwillingskapillaren in einer Lösung, welche 10^{-3}n Tl^{+}, Cd^{2+} und Zn^{2+} enthält. Oben ist die gewöhnliche polarographische Kurve $[i = f(E)]$, unten die Ableitungskurve $\left(\frac{di}{dE} = f'(E)\right)$ derselben Lösung zugleich aufgenommen

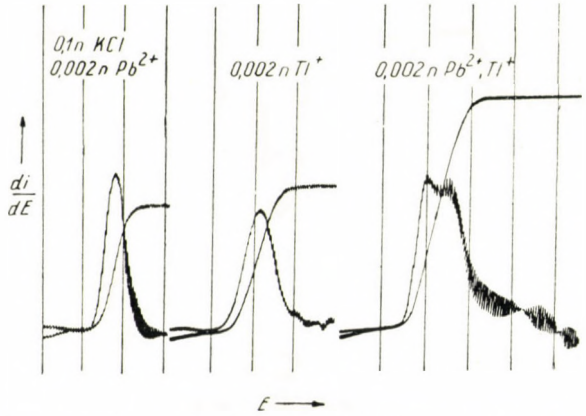


Abb. 7. Durch Ableitungsverfahren mit Zwillingskapillaren erhaltene Kurven: links mit 0,002n Pb^{2+}, Mitte mit 0,002n Tl^{+}, rechts 0,002 n Pb^{2+}, 0,002n Tl^{+}. Elektrolyt ist 0,1n KCl, ohne Luftsauerstoff. Die einfachen Kurven sind die Stromspannungskurven $[i = f(E)]$, die spitzigen Kurven sind die Ableitungskurven $\left(\frac{di}{dE} = f'(E)\right)$

bare Potentialgebiet der Polarographie um etwa 1 V zu positiveren Werten verschieben, wodurch z. B. die Oxydationswellen von Alkoholen, Phenolen und einigen Zuckersorten (Glucose, Galactose) erreicht werden können.

Aus theoretischen Gründen wurden elektromagnetische Tropfenabreisser (Klopfer) eingeführt [13], um die Tropfzeiten und Ausströmungsgeschwindigkeiten des Quecksilbers unabhängig variieren zu können. Praktisch werden die Klopfer zur Synchronisierung von Doppelkapillaren benutzt, wie z. B. bei differentiellen (Abb. 5) oder subtraktiven Messungen; diese seinerzeit vielver-

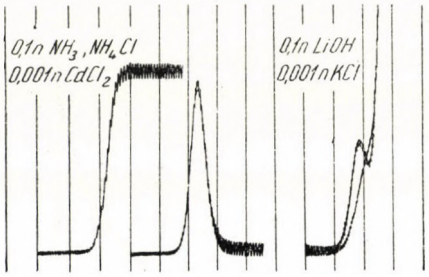


Abb. 8. Die durch Kondensatorschaltung erhaltene Ableitungskurve: links der Diffusionsstrom der Cd^{2+}-Ionen, in der Mitte dessen Ableitung, rechts die Stufen von K^+-Ionen in 0,1n LiOH

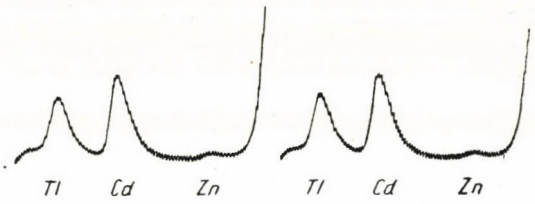


Abb. 9. Durch Induktion erhaltene Ableitungskurve $\left(\frac{di}{dE} = f'(E)\right)$ einer ammoniakalischen Lösung, welche Tl^+, Cd^{2+} und eine Spur von Zn^{2+} enthält

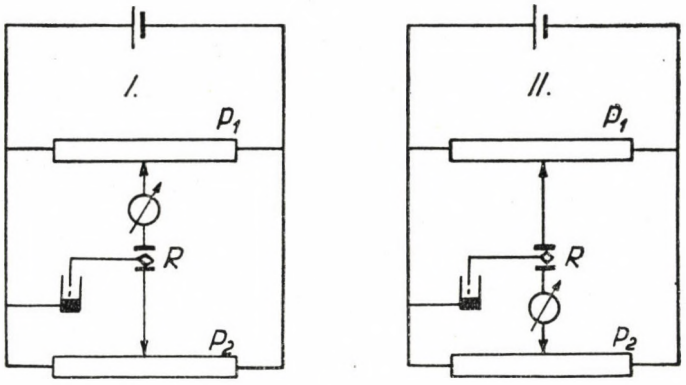


Abb. 10. Schaltungsvorrichtungen nach M. KALOUSEK zur Untersuchung der Gegenkraft von Depolarisationsprodukten. P_1 und P_2 sind potentiometrische Messdrähte, R Umschalter (etwa 8mal pro Sek.)

sprechende Methode [14] versagt leider oft wegen der Ungleichheit der Bodenpotentiale in den zu vergleichenden Lösungen. Dagegen bewährt sich die Ableitungsmethode bei Verwendung verschiedener Anordnungen [15] in zufriedenstellender Weise. Man benützt entweder zwei Kapillarelektroden [16] (Abb. 6; 7) oder Kondensatoren [17] von VOGEL und ŘÍHA (Abb. 8) oder die Induktion in der zweiten Spule des Galvanometers [18] (Abb. 9). Die erste Methode ist von der Richtung und der Änderungsgeschwindigkeit der polarisierenden Kraft unabhängig.

Eine bis jetzt nicht genügend anerkannte Vorrichtung zum Studium der Reversibilität ist die auch praktische Vorteile aufweisende, von KALOUSEK [19] eingeführte Umschaltungsvorrichtung (Abb. 10 ; 11), durch welche die der Polarisation entgegenwirkende Kraft während der Anlegung der äusseren EMK polarographisch registriert wird. Damit ist sofort zu erkennen, dass z. B. Zink aus sauren Lösungen reversibel, aus ammoniakalischen dagegen irreversibel ausgeschieden wird. Unter Mitarbeit von RÁLEK [20] wurde das Umschaltsystem durch Einführung von Elektronenröhren vervollkommnet.

In neuerer Zeit wird der Polarographie mit geregelter Stromstärke *(controlled current scanning)* und Messung des resultierenden Potentials der polari-

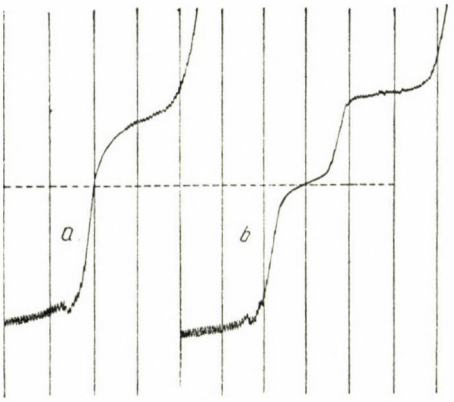


Abb. 11. Die mit dem Umschalter (Schema II., Abb. 10) erhaltenen Stromspannungskurven mit einer : *a)* sauren Lösung, *b)* ammoniakalischen Lösung von Cd^{2+}-Ionen. Die erste Depolarisation schreitet reversibel, die zweite irreversibel vor

sierten Elektrode Aufmerksamkeit zugewandt ; ADAMS, REILLEY und FURMAN [21] nennen diese Methode potentiometrische Polarographie, doch ist sie nur bei Verwendung von festen Elektroden von Nutzen. Falls die Lösung um die Elektrode nicht gerührt wird, können nach DELAHAY [22] aus den zeitlichen Veränderungen des Potentials (Potential-Zeit-Kurven) die Konzentrationen des Depolarisators bestimmt werden. REILLEY bezeichnet diese Messungsart als »*Chrono-potentiometry*«. Solche Potentialmessungen bei konstantem Strom eignen sich jedoch nicht für die tropfende Elektrode, da das Potential beim Tropfen infolge der Stromdichteveränderungen stark variiert.

Die Polarographie wird immer häufiger nach vorangehender Trennung durch Chromatographie zu quantitativen Messungen angewendet. Im Jahre 1951 beschrieben LEWIS und GRIFFITH ihre Trennung durch Papierchromatographie *(»Paperstrip Separation«)* mit nachfolgender polarographischer Bestimmung in den Eluaten der Papierstreifchen [23] bei Analysen von Erzen. In den letzten zwei Jahren hat KEMULA [24] seine Chromato-Polarographie entwickelt, die die chromatographische Säule direkt mit der polarographischen Zelle ver-

bindet und dadurch die Ergebnisse automatisch photographisch registrieren kann. In seinem Gerät (Abb. 12) wird entweder die Säule nach der Trennung eluiert, oder bei der frontalen Methode die zu trennende Lösung in die Säule nachgegossen. Man erhält somit Chromato-Polarogramme, die sich namentlich zur Trennung von Isomeren und deren quantitativen Bestimmung gut eignen (Abb. 13 ; 14).

Eine weitere neue Richtung wurde von NOVÁK durch die Konstruktion

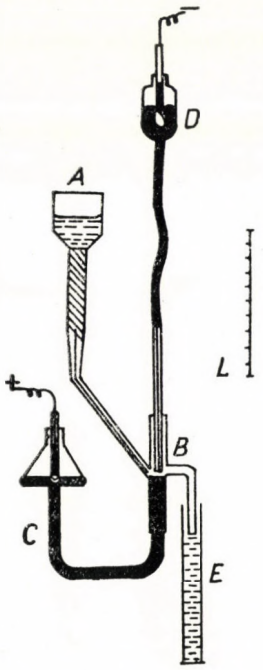


Abb. 12. W. KEMULA's chromatopolarographisches Gerät. *A* die Lösung über der Säule *B* polarographische Zelle, *D* Quecksilberbehälter

verschiedener polarographischer Daueranalysatoren eingeführt ; hier wird auf sein eigenes Referat hingewiesen.

Was die Erforschung von neuen Depolarisatoren anbelangt, ist das anorganische Gebiet ziemlich erschöpft. Von den etwa 100 Elementen ist es bisher noch nicht gelungen Verbindungen von Beryllium, Magnesium, Phosphor, Silicium, Hafnium und Thorium (abgesehen von den Edelgasen) in einen depolarisationsfähigen Zustand zu bringen (für Magnesium siehe jedoch den Beitrag von GYŐRBIRÓ, POÓS und PROSZT). Für einige dieser Elemente gibt es nur indirekte Methoden, die jedoch nicht spezifisch sind, wie die Fällung des Magnesiums mittels Oxin, ferner die Stufen von Phosphormolybdaten und Silicomolybdaten, die jedoch wenig ausgeprägt sind. Dagegen liefern Niob und Tantal [25] in sehr konzentrierter Salzsäure gut messbare reversible Stufen. In der neueren

Zeit werden häufig sehr konzentrierte Elektrolyte als Grundlösungen benützt, so z. B. konzentrierte Schwefelsäure, in welcher weder die Quecksilberelektroden noch einige organische Depolarisatoren angegriffen werden. So hat VLČEK [26] in 92%iger Schwefelsäure Lösungen von Schwefeldioxyd sowie von Cadmium- und Thallium(I)-salzen, BERGMANN und JAMES sogar Nitrobenzolderivate in 98,65%iger Schwefelsäure [27] untersucht. Elementarer Schwefel

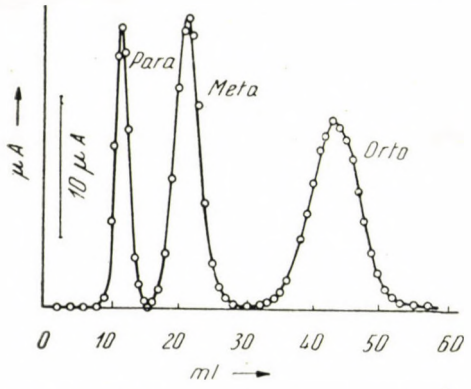


Abb. 13. Chromatopolarogramme, erhalten durch Elution der in der Säule getrennten o-, m-, und p-Nitroaniline

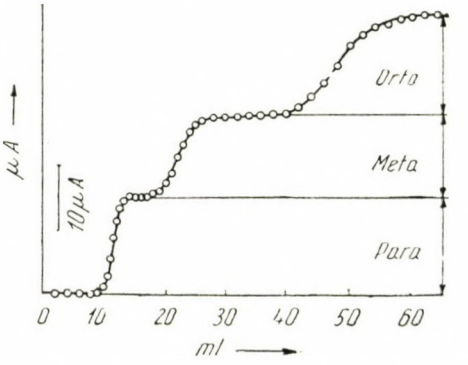


Abb. 14. Chromatopolarogramme, erhalten durch frontales Übergiessen

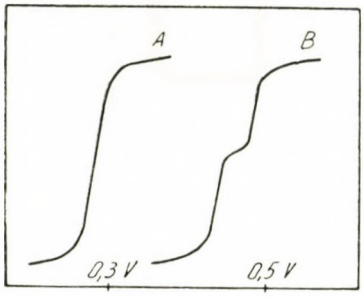


Abb. 15. Zur Bestimmung der Fluoridionenkonzentration. *A* ist die Stufe von Solochromviolett allein, *B* nach Hinzufügen von Aluminiumsalzlösung

wird nach HARRISON und HARVEY [28] in Eisessig mit Ammoniumacetat in einer kathodischen Stufe reduziert, wodurch er sich in Petroleumfraktionen genau bestimmen lässt. Bemerkenswert ist die indirekte Methode zur Bestimmung des Fluoridions [29]. Dieselbe wird folgendermassen durchgeführt (Abb. 15): Zu einer Acetatpufferlösung vom pH 4,6 wird Solochrome Violet R. S. (Natriumsalz des 5-Sulfo-2-hydroxybenzolazo-2-naphthols) und etwas Aluminiumsalz zugegeben, wobei zwei Stufen entstehen. Wenn nun Fluoridionen zugesetzt werden, wird die zweite Stufe dem Fluoridgehalt proportional erniedrigt. Somit

können Fluoride bis zu 0,001γ pro ml nachgewiesen werden (das Fluorid verdrängt den Farbstoff aus dem Aluminiumkomplex).

Auch eine Borverbindung wirkt depolarisierend, und zwar das Natriumborohydrid $NaBH_4$ (analog dem $LiAlH_4$) ; da jedes H-Ion des BH_4^- zwei Elektronen der Anode abgibt, wird am Polarogramm bei pH 10 eine achtelektronige anodische Stufe aufgezeichnet (etwa beim Potential der Kalomelelektrode).

Die meisten organischen Depolarisatoren sind reduzierbar und nur wenige oxydierbar, was den oxydierenden Wirkungen des Luftsauerstoffes zuzuschreiben ist. Die sogenannten »kinetischen Grenzströme« lenkten in letzter Zeit

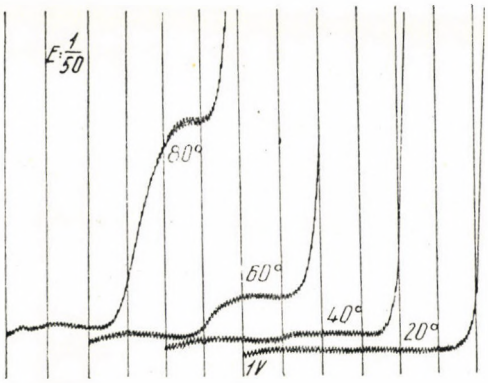


Abb. 16. Der durch die Reaktionsgeschwindigkeit einer tautomeren Umwandlung an der Elektrodenoberfläche bedingte Grenzstrom von Glukose zeichnet sich durch einen hohen Temperaturkoeffizienten aus. Die 0,02n LiCl-Lösung enthält 0,1m Glukose

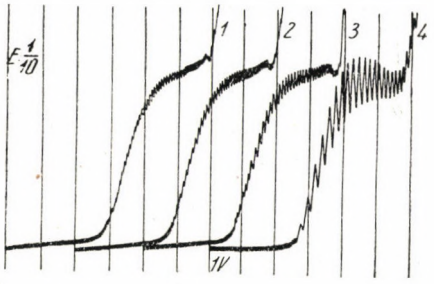


Abb. 17. Der kinetische Grenzstrom (die Höhe der Stufe) ist von der Höhe des Quecksilberniveaus im Behälter (vom Druck der Quecksilbersäule) unabhängig. 0,01n LiOH enthält 0,2m Glukose. Die Höhe der Quecksilbersäule beträgt 1.: 46,0, 2.: 34,2, 3.: 24,4 und 4.: 16,3 cm

besonders viel Aufmerksamkeit auf sich, da hiermit die Kinetik der Elektrodenvorgänge, wie der Dehydratation (des Formaldehyds), der Tautomerisation (von Aldosen) oder der Rekombinationsgeschwindigkeit (von schwachen Säuren) erforscht wird. In dieser Richtung betrachte ich die Arbeit von WIESNER und LOS [30] über die Kinetik der Tautomerisation der α-Glucose in β-Glucose bei Mutarotation als die am besten begründete und experimentell durchgeführte Arbeit. Bei diesem Übergang bildet sich ein freier Aldehyd, der allein reduzierbar ist. Alle 4 Konstanten der Reaktionsgeschwindigkeiten der Übergänge von α- und β-Glucose in den Aldehyd und dessen Umwandlung in die Glucoseformen wurden bestimmt und die Konzentration des freien Aldehyds beim Gleichgewichtszustand der Mutarotation wurde zum ersten Mal festgestellt (als 0,0030% des Glucosegehalts in 0,655 m Glucose bei 25 C°) (Abb. 16 ; 17).

Von den anderen erfolgreichen Arbeiten in der organischen und biochemischen Richtung möchte ich noch das polarographische Studium der Insektiziden wie des Hexachlorcyclohexans erwähnen. Vom theoretischen Standpunkt ist bemerkenswert, dass das γ-Isomer, welches 3 polare Chloratome enthält, polarographisch wie auch physiologisch das aktivste ist und dass je weniger »polare« Cl-Atome die anderen Isomeren enthalten, desto geringer ihre Wirksamkeit ist. Dagegen gibt es keine sicheren Angaben, ob eine Keto-Enol-Tautomerie polarographisch unterscheidbar ist oder ob sich Wasserstoffbrücken polarographisch geltend machen.

Bei den sogenannten kalten Flammen, die bei der langsamen Oxydation von Kohlenwasserstoffen entstehen, wurde durch die sowjetische Schule der Universität zu Gorkij [31] und durch die englische Schule in Cambridge [32]

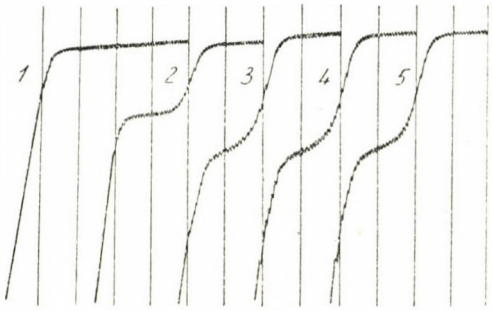


Abb. 18. Anodische Stufe der Homogentisinsäure aus Harn in Azetatpufferlösung von pH 4,7; Konzentrationen $4 \cdot 10^{-5}$m bis $2 \cdot 10^{-4}$m

nachgewiesen, dass zu erst nicht Peroxyde sondern Crotonaldehyd und Acetaldehyd entstehen.

Die Antibiotika Streptomycin, Aureomycin und Terramycin sind alle polarographisch aktiv und somit analytisch nachweisbar. KREJČÍ und JIRKA [33] konnten bei Alkaptonurie im Harn Homogentisinsäure polarographisch durch ihre anodische Stufe nachweisen, wozu 0,2 ml Harn genügen (Abb. 18). TAMARI und KAJI [34] wiesen polarographisch nach, dass ein das Wachstum des Reises beschädigendes Toxin der Bildung von Fusarinsäure (ähnlich der Nicotinsäure, n-Butylpyridin-β'-carboxylsäure) zuzuschreiben ist. Es wurde auch festgestellt, dass durch Oxydation des Benzols im Körper Muconsäure entsteht, gleichwie auch bei der Gärung mit Mikroorganismen.

Für die nichtdepolarisierend wirkenden organischen Verbindungen gibt es eine Reihe von Methoden, sie in Depolarisatoren umzuwandeln. So kondensiert man nach ZUMAN [35] einfache Carbonylverbindungen mit Aminen, wodurch sie in Ketimine überführt werden, die bei positiveren Potentialen reduzierbar sind. Ähnlich kondensiert das GIRARDsche T- oder D-Reagens mit Ketosteroiden unter Bildung von aktiven Hydrazonen (Abb. 19). Einige unwirksame aro-

matische Verbindungen werden nitriert [36] (Benzol, Phenobarbital) (Abb. 20) bzw. nitrosiert [37] (Morphin) oder halogenisiert. Der Wachstumsfaktor Leukovorin bildet nach Luftoxydation in Salzsäure eine anodische und eine kathodische Stufe [38].

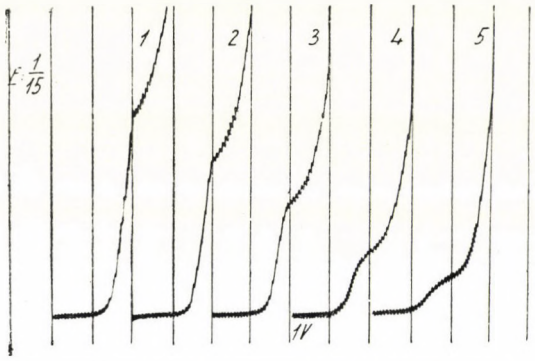


Abb. 19. Eichkurven des GIRARDschen Hydrazons des Dehydroisoandrosterons. Konzentration des Sterons ist 1.: 24, 2.: 18, 3.: 12, 4.: 6, 5.: $3 \cdot 10^{-5}$m; Empfindlichkeit 1 : 15; die Kurven von 1 V Spannung angefangen

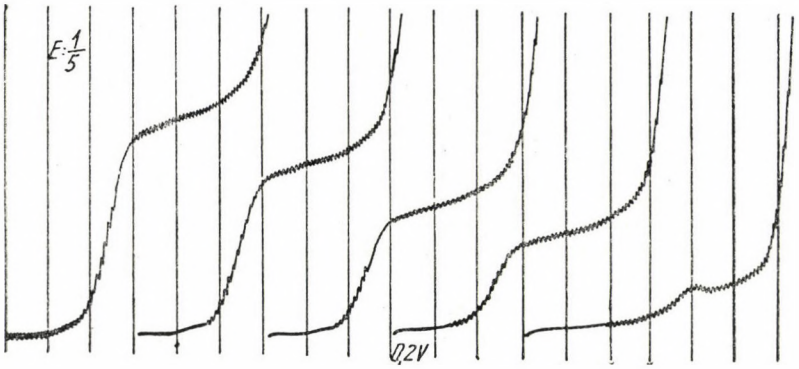


Abb. 20. Bestimmung des Morphins nach BAGGESGAARD—RASMUSSEN, nach Nitrieren in saurer Lösung alkalisiert. Die Lösung enthält 500, 400, 300 und 200 μg in 10 ml; Empfindlichkeit 1 : 5; die Kurven von 0,2 V Spannung angefangen

Als nichtwässrige Lösungsmittel werden meistens Alkohole angewendet, die entweder mit Wasser oder auch mit Benzin und Benzol vermischt werden. Das Gemisch von 75% Dioxan und Wasser erlaubt in Gegenwart von Salzen der quaternären Amine das Potential der Quecksilberkathode bis auf —3,0 V (gegen die Kalomelelektrode) zu steigern [39, 40]; im Gebiet von —2 bis —3 V verhalten sich viele ungesättigte und konjugierte Verbindungen, wie Benzoesäure, Salicylsäure, Styrol, Naphthalin, Anthracen, Pyren usw. als Depolarisatoren. Zu den höchst bemerkenswerten Arbeiten in nichtwässrigen Lösungen gehören die

von LAITINEN [41] in flüssigem Ammoniak bei —36°, durch welche nicht nur die strenge Gültigkeit der polarographischen Gesetzmässigkeiten auch unter diesen extremen Verhältnissen bewiesen, sondern auch Bedingungen gefunden wurden, bei denen bei sehr negativen Potentialen (—2,3 V) Elektronen die tropfende

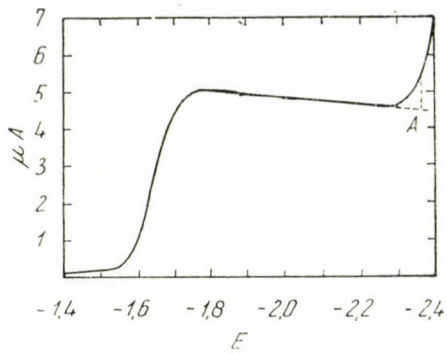


Abb. 21. Die Stufe von Na^+-Ionen und der kathodische Strom der Elektronen (bei *A*) im flüssigen Ammoniak bei —36°. Die Lösung von Tetrabutylammoniumjodid enthält 0,001n NaJ

Quecksilberelektrode verlassen um in die Lösung einzutreten; hier fungiert die tropfende Quecksilberkathode als eine Elektronen-Elektrode (Abb. 21).

ZUSAMMENFASSUNG

Von neueren polarisierbaren Elektroden wurde die gebogene, die horizontale und die strömende Quecksilberkapillarelektrode empfohlen. Die Reversibilität lässt sich durch einen mechanischen oder elektronischen Umschalter der tropfenden Elektrode untersuchen. Verfeinerung der Stromspannungskurven wurde durch ihre Ableitung di/dE erzielt, die automatisch gezeichnet wird. Die Erkennung der kinetischen Ströme, z. B. der Aldosen, des Formaldehyds und reduzierbarer Säuren ermöglicht eine experimentelle Bestimmung sehr grosser Reaktionsgeschwindigkeiten, z. B. der Rekombination von Ionen der schwachen Säuren. Als indirekte Methoden zur polarographischen Bestimmung von Nichtdepolarisatoren wurden das Kondensieren der Carbonylgruppen mit Aminen oder mit dem GIRALDschen Reagens bzw. das Nitrieren, Nitrosieren und Halogenieren erwähnt. Die Isomeren sind durch Chromatopolarographie quantitativ bestimmbar. In flüssigem Ammoniak bei —36° verhält sich die tropfende Elektrode als eine Elektronen-Elektrode.

LITERATUR

1. I. M. KOLTHOFF und H. A. LAITINEN: Science **92**, 152 (1940).
2. P. DEIAHAY: Selecta Chimica **13**, 29 (1955).
   P. DELAHAY: New Instrumental Methods in Electrochemistry, (Interscience Publishers, New York) **1954**. S. 6.
3. D. P. CRAIG: Austral. J. Sci. **17**, 19 (1954).
4. J. MAŠEK: Chem. Listy **46**, 768 (1952); Polarographics **2**, 58 (1952).
5. I. SMOLER: Chem. Zvesti **8**, 867 (1954).
6. M. v. STACKELBERG und V. TOOME: Leybold polarographische Berichte **1**, 55 (1953).
7. J. HEYROVSKÝ und J. FOREJT: Z. physik. Chem. **193**, 77 (1943).
8. J. KORYTA and I. KÖSSLER: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 241 (1950).
9. M. P. SIMONNIN et M. QUINTIN: C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **238**, 892 (1954).

10. Y. YASHIRO: Bull. chem. Soc. Japan **27**, 564 (1954).
11. C. A. STREULI and W. D. COOKE: Anal. Chem. **25**, 1691 (1953).
12. J. V. A. NOVÁK: Chem. Zvesti **8**, 852 (1954); Chem. Listy **49**, 277, 278 (1955).
13. J. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **43**, 149 (1949).
14. J. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **40**, 222 (1946).
15. J. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **40**, 222 (1946).
16. J. HEYROVSKÝ: Analyst **72**, 229 (1947).
17. J. VOGEL et J. RIHA: J. Chim. physique Physico-Chim. biol. **47**, 5 (1950).
18. J. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **40**, 222 (1946).
19. M. KALOUSEK: Chem. Listy **40**, 149 (1946); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **13**, 105 (1948).
20. M. KALOUSEK und M. RÁLEK: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 1099 (1954).
21. R. N. ADAMS, C. N. REILLEY und N. H. FURMAN: Anal. Chem. **25**, 1160 (1953).
22. P. DELAHAY: New instrumental methods in electrochemistry, (Interscience Publishers, New York) 1954.
23. J. A. LEWIS und J. M. GRIFFITHS: Analyst **76**, 388 (1951).
24. W. KEMULA: Chem. Zvesti **8**, 740 (1954); Roczniki Chem. **29**, 643 (1955).
25. D. COZZI und S. VIVARELLI: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **58**, 177 (1954).
26. A. A. VLČEK: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **16**, 230, 465 (1951).
27. I. BERGMANN und J. C. JAMES: Trans. Faraday Soc. **48**, 956 (1952).
28. S. HARRISON und D. HARVEY: Analyst **79**, 640 (1954).
29. B. J. MACNULTY, G. F. REYNOLDS und E. A. TERRY: Analyst **79**, 190 (1954); J. S. BEVERIDGE und G. F. REYNOLDS: Analyst **79**, 267 (1954).
30. J. M. LOS und K. WIESNER: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 6346 (1953).
31. A. A. DOBRINSKAYA und M. B. NEIMAN: Докл. Акад. Наук СССР. (Ber. Akad. Wiss. SSSR) **58**, 1969 (1947).
32. J. H. KNOX und R. G. W. NORRISH: Proc. Roy. Soc. (London), Ser. A **221**, 151 (1954).
33. E. KREJČÍ und M. JIRKA: Chem. Listy **48**, 1411 (1954).
34. K. TAMARI und J. KAJI: Bull. Fac. Agric Niigata Univ. **1954**, No. 6, 1.
35. P. ZUMAN: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 839 (1950).
36. S. ŠKRAMOVSKÝ und J. TEISINGER: Časopis lékařů českých **82**, 621 (1943).
37. H. BAGGESGAARD RASMUSSEN, C. HAIN und K. ILVER: Dansk. Tidsskr. Farmaci **19**, 41 (1945).
38. W. ALLEN, R. L. PASTERNAK und W. SEAMAN: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 3264 (1952).
39. ST. WAWZONEK: J. Amer. Chem. Soc. **65**, 839 (1943).
40. M. v. STACKELBERG und W. STRACKE: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **53**, 118 (1949).
41. H. A. LAITINEN und C. J. NYMAN: J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3002 (1948).

NEW TRENDS IN POLAROGRAPHY

J. Heyrovský

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

Of the recent types of polarising electrodes the curved, the horizontal and the streaming capillary mercury electrodes are recommended. Reversibility may be tested by a mechanic or electronic switch of the dropping electrode. A finer distinction in the curves of current-potential may be secured by their derivation di/dE recorded automatically. By establishing the kinetic currents (*e. g.* of aldoses, of formaldehyde and of reducible acids) the experimental determination of extremely high rates of reaction (*e. g.* of the recombination of ions of weak acids) becomes possible. Among the indirect methods serving for the polarographic determination of non-depolarisers, the condensation of carbonyl groups with ammines or with the Girald reagent, further the nitration, nitrosylation and halogenation are mentioned. Isomers may quantitatively be determined by chromatopolarography. In liquid ammoniac at —36° the dropping electrode behaves as an electron electrode.

Prof. Dr. Jaroslav HEYROVSKÝ Praha I., Vlašska 9.

DIE ENTWICKLUNG DER POLAROGRAPHIE IN UNGARN

L. ERDEY

(Institut für allgemeine Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Eine Studie der chemischen Literatur der letzten zwei-drei Jahrzehnte lässt erkennen, dass in dieser Zeit kaum auf einem anderen Gebiete eine derartig mächtige Entwicklung zu verzeichnen ist, wie die der von Prof. HEYROVSKÝ entwickelten Polarographie. Wenn wir die Kapitel der Referierzeitschriften durchblättern, so können wir feststellen, dass die Zahl der Mitteilungen über Polarographie und verwandte Gebiete in den letzten Jahren nahe gleich der Zahl aller anderen Arbeiten der analytischen Chemie war, ja manchmal übertraf sie die der Mitteilungen der anorganischen Chemie. Das Anwendungsgebiet der Methode ist heute schon so verbreitet, dass sich im Bereich der chemischen Wissenschaften kaum ein Gebiet befindet, wo die Methode der Polarographie nicht erfolgreich angewendet oder weiterentwickelt sei. Dieser ausserordentliche Erfolg ist ein Ergebnis der genialen Erkennung Prof. HEYROVSKÝ's, wonach die Strom-Potential-Kurven die elektrochemischen Prozesse an der kleinoberflächigen polarisierten, tropfenden Quecksilberelektrode viel genauer und charakteristischer beschreiben, als die Oberflächenspannung-Potential-Kurven von LIPPMAN oder KUČERA.

Die zur automatischen Aufnahme der HEYROVSKÝschen Kurven entworfenen Einrichtungen, die sogenannten Polarographen sind in den Händen der Forscher, vor allem in denen von Prof. HEYROVSKÝ und seinen Mitarbeitern ein Mittel, wodurch sich die Fragen der Komplexstabilität und Struktur, die Erscheinungen der Kolloidchemie, wie auch die Probleme der Kinetik bequem studieren lassen. Bei der Entwicklung der Methode erwies sich die tropfende Quecksilberelektrode als grundsätzlich wichtig, nicht nur weil sie wegen ihrer ausserordentlich kleinen Oberfläche und wegen des grossen, positiven Normalpotentials des Metalles leicht polarisierbar ist, sondern auch deshalb, weil ihre, sich immer erneuernde Oberfläche die gute Reproduzierbarkeit sichert. Jeder sich an der Oberfläche eines Tropfens abspielende Vorgang wiederholt sich nämlich reproduzierbar an der Oberfläche des folgenden Tropfens, wodurch das Polarogramm von der Dauer der Elektrolyse und von der Art der Polarisation unabhängig wird. Da aber infolge der kleinen Stromstärke die Zusammensetzung der untersuchten Lösung wesentlich nicht geändert wird, ist das Polarogramm

auch im Falle kleiner Stoffmengen reproduzierbar. Die grosse Wasserstoffüberspannung des Quecksilbers bedeutet einen grossen Vorteil, da so auch die Bestimmung der Alkalimetalle ermöglicht wird; die Methode kann also in einem breiten Potentialbereich angewendet werden.

Die Polarographie ist ihrer historischen Entwicklung nach auf die Untersuchung der elektrokapillaren Erscheinungen zurückzuführen. Diese Gruppe der Erscheinungen besass um die Jahrhundertwende eine grosse theoretische Bedeutung, da damals angenommen wurde, dass der Wert des »absoluten Nullpotentials« der Elektrodpotentiale auf diesem Weg bestimmt werden kann. Es stellte sich jedoch (besonders aus den Arbeiten von FRUMKIN) heraus, dass die Maxima der Elektrokapillarkurve nicht dem absolutem Nullpotential der Grenzfläche entsprechen. Das wurde dann auch durch Versuche mit Thallium-Amalgam und geschmolzenem Gallium unterstützt ; es wurde nämlich gezeigt, dass die Stelle des Maximums der Elektrokapillarkurve eine Funktion der an der Oberfläche vorgehenden Adsorptionsprozesse ist. Im Laufe dieser Untersuchungen wurde zur Bestätigung der LIPPMANN—HELMHOLZschen Differentialgleichung der Elektrokapillarkurve die tropfende Quecksilberelektrode angewendet. Es wurde beabsichtigt die Geschwindigkeit der Oberflächenzunahme so gross zu wählen, dass die Geschwindigkeit der Adsorption neben ihr vernachlässigbar sei. PASCHEN gelang es zu beweisen, dass seine schnell tropfende, oder richtiger strömende Quecksilberelektrode das dem Maximum der Elektrokapillarkurve entsprechende Potential zeigt, also zu der Untersuchung des »absoluten Nullpotentialwertes« dieser Weg nicht erfolgreicher, als die LIPPMANNsche Elektrokapillarkurve sei. Diese Untersuchungen und besonders die Arbeiten des sowjetischen Prof. FRUMKIN veranlassten ERDEY-GRUZ und seine Mitarbeiter, die Frage der Ausbildung des Adsorptions-Potentials an Quecksilberoberflächen zu studieren. Bei diesen Untersuchungen wurde in unserem Lande die langsam tropfende Quecksilberelektrode zum ersten Mal angewendet, u. zw. in der Absicht, die Potentiale der Maxima der Elektrokapillarkurve zu bestimmen. Da die Geschwindigkeit der Oberflächenvergrösserung sich viel kleiner erwies als die der PASCHENschen Elektrode, wurde die Merkuriionen-Konzentration bzw. die Konzentration des im Quecksilber gelösten Metalles so vermindert, dass unter vollständigem Luftausschluss, in reiner Wasserstoffatmosphäre, in geschlossener Einrichtung gearbeitet wurde. Diese Untersuchungen entwickelten sich aus dem Projekt des verstorbenen Prof. G. BUCHBÖCK, der mit dieser Technik die Gültigkeitsgrenzen der — aus thermodynamischen Überlegungen abgeleiteten — NERNSTschen Formel feststellen wollte.

Ich will also hier darauf hinweisen, dass während aus den Untersuchungen der Grunderscheinungen der Elektrokapillarität als Nebenzweig in der Tschechoslowakei durch die Arbeit von Prof. HEYROVSKÝ sich der mächtige Baum der Polarographie entwickelte, ein anderer bescheidener Trieb desselben Stammes, d. h. der oben erwähnten Arbeit sich in unserer Heimat entfaltete. Ich hätte hier

die Aufgabe, über das Aufkeimen und die Entwicklung der Polarographie in unserer Heimat zu sprechen, jedoch soll es mir erlaubt werden, dass ich die Beschreibung der Entwicklung nicht an den Wurzeln, sondern an den heimatlichen Nebentrieben beginne.

G. Buchböck und seine Mitarbeiter wollten erst die Frage lösen, wie der Potentialunterschied an einer Grenzfläche eines Zweiphasensystems aus Metall und dessen eigenioniger Lösung entsteht, bzw. wie die Änderung der Aktivität des Metallions in der Lösung, oder die Änderung der eigenen Metallaktivität an der Elektrode, von den absoluten Werten der Aktivitäten abhängt. Die Arbeit wurde nach dem Tode G. Buchböck's von T. Erdey-Gruz weitergeführt, sodann auf die Lösung von weiteren Problemen gerichtet und schloss sich der Erscheinungsgruppe der Elektrokapillarität an. Die Erfahrungen der Versuche führten nähmlich immer mehr zur Tatsache, dass die Edelmetallelektroden, besonders die des Quecksilbers und seiner Amalgame in Lösungen gewisser Fremdionen ein gut definiertes Potential aufnehmen. Es stellte sich nun die Frage, welcher der potentialbestimmende Prozess in diesen Fällen sei, bzw. welche Struktur die Doppelschicht in der Lösung oder im Metall besitzt. Bei diesen Versuchen wurde, wie erwähnt, die tropfende Quecksilber- bzw. Amalgam-Elektrode auch angewendet, und die Untersuchungen wurden mit der Aufnahme der Elektrokapillarkurven erweitert. T. Erdey-Gruz und P. Szarvas stellten fest, dass das Quecksilber vor allem in Lösungen kapillaraktiver Anionen ein wohldefiniertes Potential annimmt und der absolute Wert des Potentials sich mit der Deformierbarkeit der Anionen proportional ändert. In solchen Lösungen zeigt schon die langsam tropfende Quecksilberelektrode die den Maxima der Elektrokapillarkurve entsprechenden Potentiale. T. Erdey-Gruz und Olga Bajor bewiesen mit der Messung der Oberflächenspannung, dass die auf diesem Potential polarisierte Elektrode tatsächlich die Oberflächenspannung des Maximums der Elektrokapillarkurve zeigt. In den weiteren Untersuchungen zeigte sich, dass neben einer Amalgam-Konzentration, die kleiner als 10^{-5} mol/liter ist, die Verhältnisse dem reinen Quecksilber entsprechen, bei konzentrierteren flüssigen Amalgamen die Maxima in die Richtung der negativeren Polarisationsspannung und der höheren Oberflächenspannung verschoben werden. Es konnte angenommen werden, dass im Inneren des Metalles, infolge der negativen Adsorption, eine weitere Doppelschicht entsteht.

Die weiteren Untersuchungen von T. Erdey-Gruz und L. Erdey bestätigten diese Annahme, es konnte der Zusammenhang, der mit der Anwendung der Gibbsschen allgemeinen Elektrokapillargleichung gewonnen wurde, auch quantitativ bewiesen werden und es konnte auf die Struktur der Doppelschicht in dem Metall geschlossen werden. Das Verhalten der tropfenden Elektrode wurde jedoch, infolge der langsamen Diffusion des im Quecksilber gelösten Metalles, besonders durch die Anionen-Adsorption beeinflusst. Die Versuche von T. Erdey-Gruz und E. Pick beziehen sich auf die Untersuchung des Ein-

flusses einiger organischer kapillaraktiver Stoffe. Aus der Reihe der erwähnten Forscher gelang es mir die Erfahrungen über das elektrochemische Verhalten des Quecksilbers und der Amalgame auf dem Gebiete der Polarographie anzuwenden, als unser Institut durch Prof. GY. GRÓH im Jahre 1939 einen Polarographen erhielt. Die Arbeiten konnten sich jedoch nur auf die Aneignung der Methode und auf ihre Anwendung im Unterricht erstrecken. Im Institut von Prof. T. ERDEY-GRUZ wird das Studium des elektrochemischen Verhaltens des Quecksilbers weitergeführt, besonders im Zusammenhang mit Polarisation-Kapazitätsmessungen (DÉVAY, Frau BÉRES).

Die ersten Spuren der heimatlichen Entwicklung der durch Prof. HEYROVSKÝ in ausserordentlichem Masse entwickelten Polarographie zeigen sich am Ende der zwanziger Jahre. In dieser Zeit kam nämlich der erste in Prag hergestellte Polarograph in unsere Heimat. Er war privates Eigentum und konnte somit die Verbreitung der Polarographie und ihre Entwicklung nicht beschleunigen. Am Ende des Jahres 1930 weckt die Polarographie zufolge der Kenntnisnahme der Literaturangaben grosses Interesse in unserer Heimat und in dieser Zeit verfügen schon einige Institutionen über fabrikmässig hergestellte Polarographen. An dem Sommersemester der Soproner Universität i. J. 1939 hielt Prof. J. PROSZT Vorträge über Polarographie und wendete gemeinsam mit Prof. A. ROMWALTER die Polarographie an der Universität erfolgreich in der Metallanalyse an. In dieser Zeit machte PATAKI seine italienische Studienreise und seine mit Prof. SEMERANO gemeinsam geschriebene Mitteilung erschien im Magyar Kémiai Folyóirat. Im Geologischen Institut zu Budapest wurde ein polarographisches Laboratorium durch Oberdirektor J. KÁRPÁTI eingerichtet, wo er Untersuchungen der Wasser- und Erzanalyse, weiterhin polarometrische Titrationen durchführte. Die Ergebnisse seiner Arbeit wurden in einer in ungarischer und deutscher Sprache erschienenen, 200 Seiten enthaltenden Mitteilung dargelegt, die i. J. 1941 als eine Ausgabe des Institutes erschien. In den ersten Jahren des Krieges verfügen mehrere Universitätsinstitute und industrielle Laboratorien über Polarographen und einige davon sind schon über die Erlernung der Methode hinaus. In den ersten Jahren nach der Befreiung wurden die beschädigten Apparate ausgebessert, bzw. neue angeschafft und in Betrieb gesetzt. Am Ende der 40er Jahre wächst das Interesse für die Polarographie und zu Beginn der 50er Jahre tragen ungarische Vorträge und vervielfältigte Ausgaben zur Popularisierung der Polarographie bei. Gleichzeitig sind die ersten wissenschaftlichen Mitteilungen über die Ergebnisse erschienen. Es ergab sich für einige Forscher und wissenschaftliche Mitarbeiter der Universitäts- und Forschungsinstitute die Möglichkeit, eine Studienreise an den kompetenten Ort, in das Prager Polarographische Institut zu unternehmen, wo sie sich von dem besten Meister der Polarographie, von Prof. HEYROVSKÝ die Gewandtheit in diesem Wissenschaftszweig aneigneten. Zu dem ersten internationalen polarographischen Kongress i. J. 1951 sandte die Ungarische Akademie der Wissenschaften eine

Delegation mit zwei Mitgliedern. Prof. PROSZT nahm auch am zweiten polarographischen Kongress 1954 teil.

Ein wichtiger Umstand der heimatlichen Verbreitung der Polarographie ist, dass besonders Kollege V. CIELESZKY im Verein der Ungarischen Chemiker unermüdet darauf hinwirkte, eine polarographische Abteilung zu bilden, die nicht nur unsere Polarographisten organisierte, sondern auch gemeinsam mit dem Ministerium für Gesundheitswesen einen polarographischen Kurs veranstaltete. Es ergab sich also für die Interessenten dieses wissenschaftlichen Gebietes die Möglichkeit, die Methode anzueignen und somit tätige Arbeiter dieses Zweiges zu werden.

Der Verein der Ungarischen Chemiker hielt vor einer grösseren Öffentlichkeit eine Reihe von zusammenfassenden Vorträgen über Polarographie. Die ungarischen Forscher der Polarographie wurden nun mehr und mehr von Fachleuten ersucht, ihnen eine Grundausbildung und sodann die nötige fachliche Unterstützung zu gewähren. Es kam dann eine Zeit, wo die Verbreitung der Polarographie aus Mangel an Instrumenten und durch die langsame Lieferung der bestellten Apparate verzögert wurde. Damals hatten sich viele zum Selbstbau des Apparates entschlossen. Im Institut des Prof. PROSZT wurde eine Derivationseinrichtung und ein Oszillationspolarograph zusammengestellt. Im Institut von Prof. Z. G. SZABÓ baute Oberassistent CSÁNYI einen Handpolarographen ; im Institut von Gy. STRAUB Oberassistent SZONNTAGH einen automatischen und im Forschungsinstitut für Textilindustrie entwarf und stellte man mit der Führung von Doz. I. RUSZNÁK einen direktschreibenden Polarographen her. In den verschiedenen Instituten entstanden zahlreiche Konstruktionen und wurden kleinere oder grössere Verbesserungen durchgeführt. Die Zahl der im Betrieb stehenden Apparate ist heute über 80 und wir können ruhig feststellen, dass mit den meisten ernst gearbeitet wird. 25% der Apparate befinden sich in Industriebetrieben, die übrigen in verschiedenen Forschungsinstituten und Universitäten. Die Entwicklung ist auffallend, wenn wir bedenken, dass i. J. 1948 insgesamt nur 6—8 Polarographen sich im Lande befanden und sogar von diesen nur wenige benutzt wurden.

Die Polarographie gewinnt immer mehr an Wichtigkeit im Unterricht an der Universität, obwohl ihre Grundlagen und theoretischen Beziehungen im Rahmen der physikalischen Chemie schon seit langem prelegiert wurden. An der Eötvös-Universität zu Budapest wird neuestens ein Spezialkollegium, an der Technischen Universität in Budapest eine Laboratoriumsübung über Polarographie gehalten. Betrachten wir die Änderung der Zahl der Vorträge und Mitteilungen über Polarographie in dieser Zeit, so scheint die Entwicklung eine beträchtliche zu sein. Bis einschliesslich 1950 wurden insgesamt 12 polarographische Mitteilungen von ungarischen Autoren geschrieben und ein Teil dieser war von populärem Charakter, i. J. 1953 demgegenüber erschienen 10 rein wissenschaftliche Arbeiten. Die Bedeutung dieser Zahl kann an dem Um-

stand abgemessen werden, dass in diesem Jahre (1953) die ungarischen Autoren in den Acta Chimica 55 chemische wissenschaftliche Arbeiten veröffentlichten und dass i. J. 1954 diese Zahl auf das Doppelte wuchs. Bisher wurden insgesamt 30 öffentliche Vorträge über Polarographie gehalten und 20 davon fallen auf die letzten drei Jahre. Diese Zahlen sind natürlich in Weltrelation ausserordentlich bescheiden, besonders im Vergleich mit der Arbeit der tschechoslowakischen Kollegen, sie zeigen jedoch klar, dass die Polarographie bei uns Wurzel fasste und eine durch breite Kreise angewendete Wissenschaft ist.

Nach dem Überlick des Weges, der Schwierigkeiten und der Ergebnisse der Entwicklung stellt sich nun die Frage, an welchen Fachgebieten Erfolge erzielt wurden und in welcher Richtung die Polarographie in den einzelnen Instituten angewendet, bzw. welche wissenschaftliche Arbeit in diesen durchgeführt wird.

Von den Arbeiten allgemeinen Charakters über die Methoden und ihre weitere Entwicklung soll der schon erwähnte Vortrag von Prof. J. PROSZT erwähnt werden, der an dem Sommersemester der Soproner Universität über Polarographie i. J. 1939 gehalten wurde. Der Unterricht der Polarographie an der Universität wurde in grossem Masse durch seine Arbeit über Polarographie im physikalisch-chemischen Praktikum gefördert. In verschiedenen ungarischen Zeitschriften wurden allgemeine Artikel von V. CIELESZKY, B. JÁMBOR, I. SZONNTAGH und E. SÁNDI veröffentlicht. Zur Aneignung der praktischen Polarographie hatte die vervielfältigte Mitteilung von V. CIELESZKY und E. SÁNDI stark beigetragen (1952). Weitere solche Mitteilungen wurden i. J. 1953 und 1954 von B. JÁMBOR und A. KAISER veröffentlicht. Zu dieser Gruppe können vielleicht noch die Untersuchungen von E. CSÁNYI und E. SZEMES über die »*dead stop*« Titration, die mit schönem Erfolg durchgeführt wurden, gezählt werden. Auf dem Gebiete der anorganischen Chemie sind vor allem die polarographischen Mitteilungen von J. KÁRPÁTI als die ersten wissenschaftlichen Ergebnisse (1940) zu erwähnen.

Von den anorganischen wissenschaftlichen Arbeiten des Instituts von Prof. J. PROSZT sollen die Mitteilungen über die Bestimmung geringer Mengen Stickstoffs und über die Polarographie des Aluminiums hervorgehoben werden. Bei diesen Arbeiten wirkten E. MAJOR und J. PAULIK als Mitarbeiter mit. Im Institut für Ernährungswissenschaften entwickelten V. CIELESZKY und K. LINDNER eine Methode zur Bestimmung der Zinnverunreinigung der Lebensmittel. Im Forschungsinstitut für die Chemische Schwerindustrie hatten Z. FERENCZY und A. ALMÁSY Methoden zur Analyse der Silikate entwickelt.

Auf dem Gebiete der organischen Chemie und der Biochemie sind die folgenden Ergebnisse aufzuzeichnen: V. CIELESZKY und GY. JOSEPOVITS entwickelten ein Verfahren zur Wirkstoffbestimmung der technischen Präparate von Hexachlorcyclohexan. E. SÁNDI hat die polarographische Bestimmung der Ascorbinsäure weitgehend vereinfacht. B. JÁMBOR befasste sich erfolgreich

mit der Polarographie des Morphins, Gy. Josepovits und Frau Göröc mit der Bestimmung des Parathions, L. Kocsár, M. Simon und I. Jókai mit der Bestimmung des Isonikotinsäurehydrazids. Das polarographische Verhalten des Triphenyltetrazoliumchlorids als biologischer Indikator wurde von B. Jámbor untersucht, Gy. Lamm und seine Mitarbeiter befassten sich mit Eiweissuntersuchungen, V. Cieleszky beschäftigte sich noch mit Antibiotika. Während ihrer Arbeit über die anorganisch-chemische Anwendung der polarometrischen Titrationen haben I. Bozsai und Z. Hegedűs eine Bestimmung von Mn, Cr, V und Te entwickelt, Frau Bozsai löste die Frage der Bestimmung des Chloridgehaltes von Alkaloidsalzen mit argentometrischer Titration.

Neben diesen meist abgeschlossenen Arbeiten arbeiten die Universitäts- und Forschungsinstitute in zahlreichen anderen Richtungen, deren Erfolge teils in den Vorträgen des Kongresses, teils in weiteren Mitteilungen veröffentlicht werden. Diese Ergebnisse sind zur Zeit als Hoffnungen der Zukunft zu betrachten. Es soll hier erlaubt sein, auch eine Übersicht über die Projekte zu geben, da auch diese als Mass der Entwicklung angesehen werden können.

Im Institut für Anorganische und Analytische Chemie von Prof. E. Schulek der L. Eötvös Universität, Budapest, wird an der schnellen Bestimmung des Morphins gearbeitet, und zwar in Arzneimischungen und in intermediären Produkten der Morphin-Herstellung. E. Pungor untersucht die Oxinkupferkomplexe polarographisch.

Im Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Universität zu Budapest wird die Chelatkomplexbildung des Wasserstoffperoxyds und des Perhydroxyd-Ions untersucht und die Stabilitätskonstante grössenordnungsmässig bestimmt. Es werden auch der Mechanismus der Autoxydation der Ascorbinsäure, die Redoxverhältnisse der Indikatoren vom Variaminblautyp und die indirekte Bestimmung der Alkalierdeionen untersucht. Im Institut für Anorganische Chemie der Technischen Universität zu Budapest wurde unter der Leitung von Prof. J. Proszt die oszillographische Polarographie untersucht, und die Kombination des Prinzips der Coulometrie mit der Polarographie ergab bereits neue Erfolge.

Im Institut für Organische Technologie der Technischen Universität zu Budapest befasst sich Dozent F. Péter mit der polarographischen Untersuchung anorganischer Schwefelverbindungen, mit der Zersetzungskinetik der Diazoniumverbindungen, mit der Kondensation von Carbamid — Formaldehyd und mit dem Chrombindungsvermögen der Aminosäuren.

An der Universität zu Szeged will Prof. Á. Kiss die Polarographie zur Lösung komplexchemischer Probleme, Prof. G. Fodor zur Untersuchung organischer Verbindungen anwenden.

An der L. Kossuth Universität zu Debrecen benützt Prof. P. Szarvas im Institut für Anorganische Chemie die Methode der Polarographie zu Strukturuntersuchungen in der Komplexchemie, und Akademiker R. Bognár zur

Bestimmung der Alkaloiden. Im Analytischen Institut der Universität für Chemische Industrie zu Veszprém führen Lehrstuhlleiter GY. STRAUB und Oberassistent J. SZONNTAGH die polarographische Untersuchung des Galliums durch. Im Institut für Allgemeine und Anorganische Chemie befasst sich Lehrstuhlleiter E. BODOR mit der Untersuchung von Germanium und metallorganischen Verbindungen.

Im Institut für Erdöl- und Erdgasforschung zu Veszprém untersucht P. SZEPESVÁRY Aceton und Acetaldehyd nebeneinander, weiterhin das polarographische Verhalten der Metallcarbonyle. Die polarographische Methode wird zur Lösung zahlreicher Probleme der Erdölanalytik angewendet. Im Forschungsinstitut für die Chemische Schwerindustrie zu Veszprém führt Z. FERENCZY Forschungsarbeit über Silikate und über analytische Bestimmungen von Künstdünger und von gemischtem Dünger durch. Die Forschergruppe lieferte im Laufe der Serieanalysen mehrere tausend Angaben für das Institut.

Im Elektronenmikroskop-Laboratorium der Akademie, später in dem Pflanzenphysiologischen Institut der L. Eötvös Universität untersuchen B. JÁMBOR und seine Mitarbeiter polarographisch die Muskelproteine, einige Strukturfragen des d-Glykosazons und führen die Bestimmung einiger organischer Wirkstoffe und Arzneimittel durch.

Im Forschungsinstitut für Fernmeldung entwickelten T. MILLNER und K. FUKKER die analytische Bestimmung einiger Metallspuren in Metallpulvern, in metallischem Molybdän bzw. in den Oxyden des Molybdäns.

Im Forschungsinstitut für Textilindustrie und im Institut für praktische Chemie der Technischen Universität zu Budapest wenden I. RUSZNÁK und seine Mitarbeiter die Methode der polarographischen Maximadämpfung zur Untersuchung hochmolekularer Stoffe, Farbstoffe, Seifen- und Benetzungsmittel, weiterhin zur Bestimmung der Methylenblau-Zahl an. Sie bewiesen, dass bei vielen untersuchten Stoffmischungen die Mischungsregel gültig ist.

Im Landesinstitut für Ernährungswissenschaft (V. CIELESZKY) untersucht man mit Hilfe des Polarographen den Gehalt an Mikroelementen in Lebensmitteln, die Vitamine, die Pflanzenschutzstoffe, die Monomere, die aus den zur Verpackung der Lebensmittel angewendeten Kunststoffen in Lösung gehen, die Weichmachungsmittel, die Füll- bzw. Farbstoffe. Die polarographische Kennzeichnung der Metallkomplexe von Eiweissen und Eiweisshydrolysaten ist bei der Klärung gewisser Ernährungsfragen wertvoll.

Das wissenschaftliche Programm des Landesinstituts für Arbeitshygiene enthält serumpolarographische Untersuchungen und die Bestimmung der Spuren von Elementen im biologischen Material. Die chemische Abteilung des Institutes wendet unter der Leitung von Frau AJTAY die Polarographie bei der Bestimmung zahlreicher arbeitshygienischer Probleme an.

Im Forschungsinstitut der Kunststoffindustrie konnte man den Ablauf der Reaktion in Redoxpolymerisations-Versuchen polarographisch verfolgen.

Bei der Untersuchung von Katalysatoren, bei der Serienanalyse von Acetaldehyd, bei der Bestimmung des Akroleins und des Crotonaldehyds, bei der Kondensation mit Carbamid und bei zahlreichen übrigen Problemen der Kunststofferzeugung erwies sich der Polarograph als ein wertvolles Hilfsmittel.

Im Forschungsinstitut der Konserven-, Fleisch- und Kühlindustrie wurde eine neue polarographische Bestimmung der Vitamine entwickelt, die auf Doppeladdition beruht, und zur Bestimmung kleiner Stoffmengen vorzüglich geeignet ist.

Im Forschungsinstitut der Zuckerindustrie befasste sich M. TEGZE mit der polarographischen Untersuchung der oberflächenaktiven Stoffe des Rübensaftes durch die Methode der Sauerstoffmaximadämpfung. Er führte die Titration organischer Säuren zwischen polarisierten Elektroden durch, und wendete den Polarographen kombiniert mit übrigen Instrumenten auch als Registriergerät an.

Mein unvollständiger und sich nur auf die wichtigsten Gebiete beziehender Vortrag zeigt, dass die Entwicklung der Polarographie in unserem Lande sich in der Anfangsphase befindet und obzwar verhältnismässig viele an diesem Gebiet der Wissenschaft arbeiten, fehlen oder keimen eben die Forschungen in die Richtung der grundsätzlichen Probleme. An dem jetzt folgenden Kongress stellen wir offensichtlich nur bescheidene Ergebnisse neben den Erfolgen unserer erfahrenen tschechoslowakischen Kollegen, die auf eine grosse polarographische Laufbahn zurückblicken können.

THE DEVELOPMENT OF POLAROGRAPHY IN HUNGARY

L. Erdey

(Institute of General Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

The history of polarography is closely connected with the study of electrocapillary phenomena. Prof. BUCHBÖCK and Prof. ERDEY-GRÚZ have dealt with researches of this type and attained results of fundamental importance. Hungarian research workers have availed themselves of polarography, as developed by Prof. HEYROVSKÝ, for some thirty years. The results obtained so far and the more important themes under study are described in detail.

Prof. Dr. László ERDEY Budapest, XI. Gellért tér 4

DIE POLAROGRAPHIE DES MAGNESIUMS

K. GYŐRBÍRÓ, L. POÓS und J. PROSZT

(Institut für Anorganische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Das Bestreben zur polarographischen Erfassung des Magnesiums ist fast so alt, wie die Polarographie selbst [1, 2]. HEYROVSKÝ und BEREZICKÝ haben bereits in den zwanziger Jahren festgestellt, dass das Magnesium in Tetramethylammonium-Leitsalz auf die Kalomelnormalelektrode bezogen etwa bei —2,2 Volt eine polarographische Stufe gibt, die jedoch sehr schlecht definiert ist, da sie durch ein vorangehendes enormes Maximum gestört wird. Die Stufe konnte aber ausserdem auch schon deshalb nicht ausgewertet werden, weil der Diffusionsstrom nicht konzentrationsproportional und nebenbei viel stärker als der theoretisch zu erwartende war. Die Frage wurde später von KIMURA, dann auch von MÜLLER untersucht und es galt, dass für die anomale Stromstärke eine durch die katalytische Wirkung des abgeschiedenen Magnesiums verursachte Wasserstoffabscheidung verantwortlich ist, die selbst in neutraler Lösung erfolgt.

Die polarographische Bestimmung des Magnesiums gelang also bisher nur auf indirektem Wege [1, 2], unter anderem z. B. mittels Oxins (8-Oxychinolins). Nach CARRUTHERS löst man das abgeschiedene Mg-oxinat in Salzsäure und nachher bestimmt man das Oxin polarographisch. STONE und FURMAN schlugen demgegenüber vor, ohne den Niederschlag zu filtrieren, einfach den Oxinüberschuss zu polarographieren. Die störenden Metallionen — und es gibt leider deren mehrere — müssen natürlich vorerst sorgfältigst entfernt werden. Nach SANKO kann das Magnesium endlich mit Oxin auch polarometrisch titriert werden.

Wegen der Umständlichkeit und der geringeren Genauigkeit solcher indirekten Verfahren, ja auch aus prinzipiellen Gründen schien es also angezeigt die Frage der unmittelbaren polarographischen Bestimmung des Magnesiums zu revidieren und nach Möglichkeit eine entsprechende Methode zu entwickeln. Der eine von uns hat unter Mitarbeit von J. PAULIK bereits vor zwei Jahren versucht, das Magnesium mittels der Tropfelektrode zu polarographieren, u. zw. zur Vermeidung des störenden Maximums in nichtwässrigen Lösungsmitteln.

Zuerst wurden organische Flüssigkeiten verwendet, jedoch ohne Erfolg, da in solchen Lösungen, insofern sie eine genügende Leitfähigkeit besassen, stets dieselben Schwierigkeiten auftraten wie in den wässrigen Lösungen. Die

Maxima waren auch hier nicht zu unterdrücken und die Tropfelektrode begann bei einem kritischen Potential, u. zw. in der Nähe des Maximums ebenso zu rinnen wie in den wässrigen Lösungen. Da die Ursache des Auftretens des betreffenden Maximums, sowie der schon erwähnten anomal grossen Stromstärke uns damals noch nicht sicher bekannt war, konnte vermutet werden, dass für diese Erscheinung und besonders für die anomale Stromstärke auch das nicht genügend negative Reduktionspotential des Leitsalzkations verantwortlich sein könnte. Deshalb haben wir eine Anzahl verschieden substituierter Alkylammoniumsalze präpariert und erprobt, konnten aber auch auf diese Weise nicht in einen wesentlich negativeren Potentialbereich gelangen.

Obigem Gedankengange folgend verwendeten wir sodann als nichtwässrige Lösungsmittel leicht schmelzbare Schmelzen, z. B. solche von Aluminiumbromid. Nach Überwinden gewisser experimenteller bzw. apparativer Schwierigkeiten hat dann I. PRAHÁCS einige Polarogramme in diesen Schmelzen aufgenommen. Die erhaltenen Kurven konnten aber wegen des unregelmässigen Tropfens der Elektrode in der Schmelze nicht ausgewertet werden. Die Versuche, eine passende Kapillare zu finden, waren noch im Gange, als wir mit der Methodik der oszillographischen Polarographie [3, 4] im Institute so weit kamen, dass wir das polarographische Verhalten des Magnesiums auch auf diesem Wege studieren konnten.

Es wurde also zunächst die Aufnahme von V-t Kurven Mg-haltiger Elektrolyte mit der HEYROVSKÝ-Schaltung versucht. Da aber in der oszillographischen Polarographie gut auswertbare Aufnahmen bekanntlich nur dann zu erhalten sind, wenn die Konzentration des Leitsalzes recht gross, d. h. 1—2 m ist, konnte wegen seiner bei Zimmertemperatur geringeren Löslichkeit (0,30—0,35 m) das im Handel meistens vertriebene Alkylammoniumsalz, das Tetramethylammoniumjodid nicht verwendet werden. Dieses Salz wurde nun durch mehrfaches Umkristallisieren gereinigt, sodann seine wässerige Lösung mit einem Überschuss von Silberchlorid geschüttelt um das Jodid in das besser lösliche Chlorid umzuwandeln. Zum Lösen des Jodids wurde nur so viel Wasser verwendet, dass die entstandene Lösung des Chlorids auch noch gesättigt, d. h. ungefähr 0,70m war.

In dieser Leitsalzlösung konnte nun mit Hilfe der in einem der folgenden Vorträge zu beschreibenden modifizierten strömenden Quecksilberelektrode [5] eine brauchbare V-t Kurve aufgenommen werden, die am kathodischen Ast bei —2,55 V eine deutliche und — da diese auch am anodischen Ast zum Vorschein kommt — eine recht reversible Mg-Stufe aufwies (Abb. 1). Bei Auswertung des Oszillogramms ergab sich ferner, dass die Reduktion des Tetramethylammonium-Ions erst bei —2,85 V erfolgt. Die Konzentration des Mg^{2+}-Ions in der Lösung betrug 0,003m.

Des weiteren haben wir dieselbe Lösung ebenfalls mit Hilfe der strömenden Elektrode, jedoch um $i-V$ Kurven aufzunehmen mittels eines Polarographen

(Radiometer-Type PO 3) untersucht und unserer Erwartung entsprechend ein maximumfreies Polarogramm mit gut entwickelter Mg-Stufe erhalten (Abb. 2). Die Aufnahme mit dem schreibenden Polarographen ging mit einer Empfind-

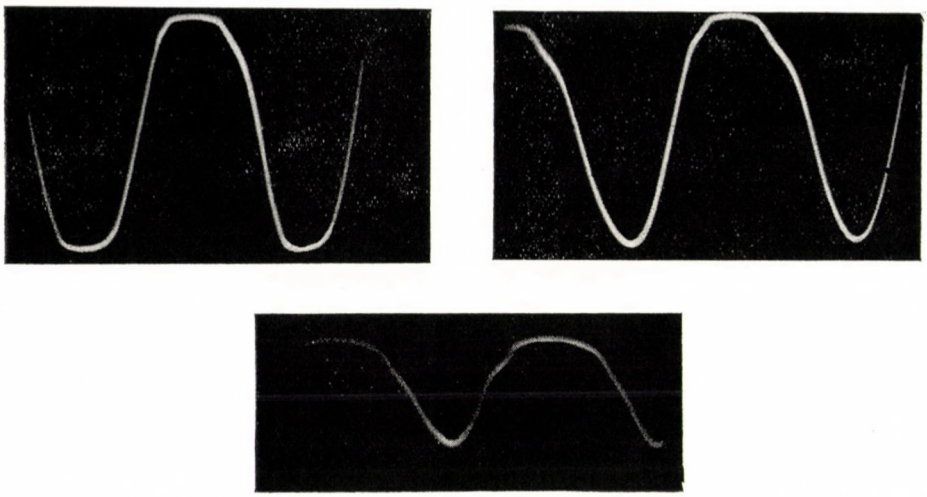


Abb. 1. Oszillographische *V-t* Kurve von einer $3 \cdot 10^{-3}$m $MgCl_2$-Lösung. Grundlösung 0,70m $[N(CH_3)_4]$ Cl.
Die an die Zelle gelegte Spannung betrug bei *a)* 2,85 V, bei *b)* 1,69 V und bei *c)* 0,70 V

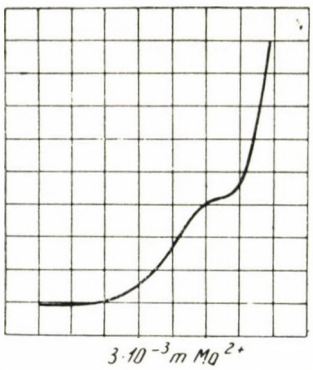


Abb. 2. Das Polarogramm (*i-V* Kurve) einer $3 \cdot 10^{-3}$m $MgCl_2$-Lösung in 0,70m $[N(CH_3)_4]$ Cl-Grundlösung mit der strömenden Quecksilberelektrode aufgenommen

lichkeit 10,000 und mit der Kompensation 2 vor sich. Das Halbstufenpotential des Mg^{2+}-Ions ergab sich auf Grund dieser Polarogramme in ausgezeichneter Übereinstimmung mit den oszillographischen Messungen zu — 2,58 V. Aufnahmen mit einer Lösung der Konzentration $1{,}6 \cdot 10^{-3}$m führten zum selben Ergebnis.

Nach diesen Vorversuchen wurde die polarographische Magnesiumbestimmungsmethode in den Einzelheiten ausgearbeitet. In der ersten Versuchsreihe haben wir den Zusammenhang zwischen Mg^{2+}-Ionenkonzentration und Stufenhöhe d. h. dem Diffusionsstrome untersucht (Abb. 3). Die Anwendung der neuen strömenden Elektrode ermöglichte nun, dass die Länge des Queck-

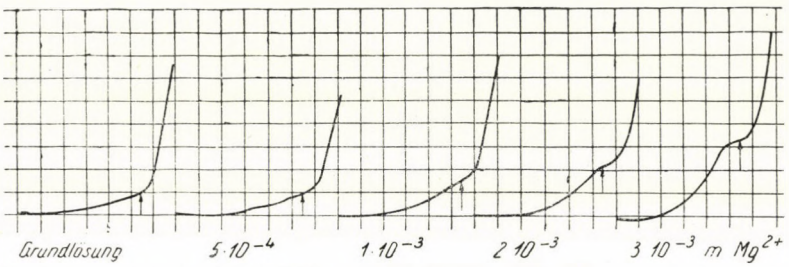


Abb. 3. Die Abhängigkeit der Stufenhöhe von der Mg^{2+}-Ionenkonzentration (Sämtliche Kurven mit derselben Galvanometerempfindlichkeit aufgenommen, daher die Stufen kleinerer Konzentrationen nicht sehr deutlich entwickelt, jedoch gut auswertbar)

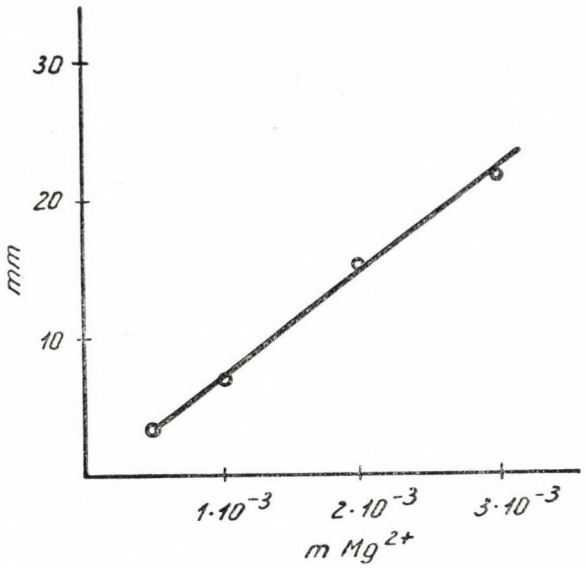


Abb. 4. Kalibrationsdiagramm

silberstrahles innerhalb der Flüssigkeit und hiemit die Oberfläche der mit dem Elektrolyten in Berührung stehenden Kathode streng konstant gehalten werden konnte. Die Länge des eintauchenden Strahles betrug bei diesen Aufnahmen stets etwa 1,5 mm. Zuerst wurde das Polarogramm der Grundlösung aufgenommen, dann der Reihe nach die Mg-Stufen von Lösungen $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$ und $4 \cdot 10^{-3}$ molarer Konzentration. Wie man aus den Kurven ersieht, enthielt die Grundlösung trotz viermaligen Umkristallisierens des Alkyl-

ammoniumjodids immer noch geringe Verunreinigungen (woran aber vielleicht das Silberchlorid schuld war), die jedoch durchaus nicht störten. Zur Bestimmung der Stufenhöhen wurde die allgemein als exakt anerkannte Methode [6] gebraucht, wonach sowohl der Grenzstrom als auch der Reststrom bei einer bestimmten Spannung abgelesen und der Diffusionsstrom als Differenz beider Grössen berechnet wird. Die Stufenhöhe wurde in unserem Falle stets bei —2,75 V abgelesen. Dieser Potentialwert ist an einem jeden Polarogramm mit einem Pfeil bezeichnet. Die Stufenhöhen sind in Abhängigkeit der Mg^{2+}-Ionenkonzentration in Tab. I und auf Abb. 4 auch graphisch dargestellt. Hieraus ersieht man, dass die Diffusionsstromstärke im Konzentrationsbereich von $5 \cdot 10^{-4}$—$3 \cdot 10^{-3}$m der Mg^{2+}-Ionenkonzentration proportional ist. Aus dem Vergleich mit einer unter gleichen Bedingungen aufgenommenen Kaliumstufe ergab sich, dass an dem Elektrodenvorgang zwei Elektronen beteiligt sind. Bei kleineren Konzentrationen als 10^{-4}m wird die Mg^{2+}-Ionenstufe immer undeutlicher und bleibt bei solchen Verdünnungen auch der Konzentration nicht mehr proportional, wie dies beim Arbeiten mit der strömenden Elektrode im allgemeinen schon von KORYTA [7] festgestellt und von uns auch in anderer Beziehung bestätigt werden konnte.

Tabelle I

Mg-Ionenkonzentration der Lösung	Stufenhöhe (mm)
$1 \cdot 10^{-4}$m	3,5
$1 \cdot 10^{-3}$m	7,0
$2 \cdot 10^{-3}$m	15,0
$3 \cdot 10^{-3}$m	21,5

Bei Lösungen höherer Konzentration als $3 \cdot 10^{-3}$m trat demgegenüber ein Maximum auf, wodurch die Auswertung der Polarogramme ebenso illusorisch wurde, wie bei Anwendung der tropfenden Elektrode (Abb. 5). Das Auftreten dieses Maximums ist unserer Meinung nach durch die rasche Zersetzung des etwas konzentrierteren Mg-Amalgams bedingt. Nach unseren Erfahrungen tritt jedoch auch in solchen Lösungen ein niedrigeres Maximum auf, wenn die Länge der in die Lösung tauchenden strömenden Kathode verkürzt wird und selbst in verdünnteren Lösungen erscheint sogleich ein merkliches Maximum, wenn die Oberfläche der Kathode vergrössert wird. So wurde z. B. auch in einer auf Mg^{2+}-Ionen $3 \cdot 10^{-3}$m Lösung bei gut entwickelter Stufe und bei konzentrationsrichtigem Diffusionsstrom ein kleines Maximum beobachtet, falls die Tauchlänge der Kathode etwa 4 mm betrug. Diese Erscheinung kann nun so gedeutet werden, dass sich bei Vergrösserung der Kathodenoberfläche und gleichbleibender Stromdichte an der Amalgamkonzentration zwar nichts ändert, doch wegen

der verlängerten Berührungszeit eine merkliche Amalgamzersetzung erfolgt. Um die soeben erwähnte Annahme weiter zu bekräftigen, wurde auch versucht, bei gleichbleibender Kathodenlänge die Strömungsgeschwindigkeit des Quecksilberstrahles durch Heben des Niveaugefässes zu vergrössern, doch konnten die hiebei aufgetretenen Effekte einstweilen nicht analysiert werden, weil im Falle strömender Elektroden die Verhältnisse etwas kompliziert sind, hier setzen sich nämlich aller Wahrscheinlichkeit nach auch gewisse balloelektrische Ströme usw. ins Spiel.

Nach all diesen Beobachtungen kann man also die Ursache des störenden Maximums der polarographischen Mg-Stufe nicht in der durch das abgeschiedene

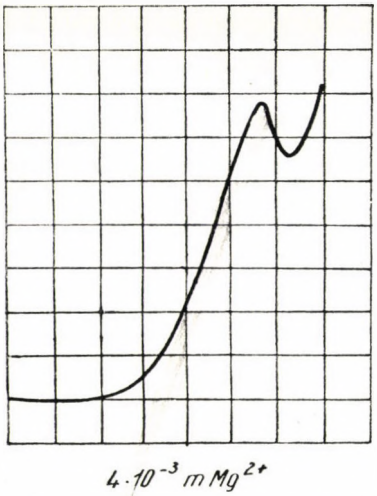


Abb. 5. Bei höherer Mg^{2+}-Konzentration, bzw. grösserer Tauchlänge des Quecksilberstrahles tritt auch bei Anwendung der strömenden Elektrode ein Maximum auf

Magnesium katalysierten Wasserstoffabscheidung suchen, sondern im Gegenteil darin, dass an der Oberfläche der Quecksilberkathode — sei es eine langsam tropfende oder eine lange strömende Elektrode — eine durch die wasserzersetzende Wirkung des Mg-Amalgams bedingte Anreicherung der Mg^{2+}-Ionen stattfindet, die aber später wegen Hydrolyse des Mg-Salzes wieder abnimmt.

Das Halbstufenpotential des Mg^{2+}-Ions wurde bei pH 5,8 in der 0,69m Tetramethylammoniumchlorid Grundlösung, bezogen auf die Kalomelanode zu $-2{,}62 \pm 0{,}02$ V bestimmt. Die Strömungsgeschwindigkeit des Quecksilberstrahles wurde durch einen Höhenunterschied von 365 mm konstant gehalten. Auf die n Kalomelelektrode umgerechnet, ergibt sich ein Halbstufenpotential von $-2{,}60 \pm 0{,}02$ V, also ein um 0,3 bis 0,4 V negativerer Wert als an der tropfenden Elektrode gefunden wurde. Dies ist nur natürlich, da die Reduktionspotentiale der Ionen an der strömenden Elektrode, wie bekannt, im allgemeinen in den Bereich negativerer Potentiale verschoben werden.

Des weiteren wurde auch die pH-Abhängigkeit der Stufen untersucht. Es wurden die Polarogramme einer $1{,}6 \cdot 10^{-3}$m Lösung im pH-Bereiche von 4,5 bis 9,7 aufgenommen (Abb. 6). Aus den in Tabelle II zusammengestellten Messergebnissen ist ersichtlich, dass man unter pH 5 bzw. oberhalb von pH 9 keine auswertbaren Stufen erhält, und dass die Stufenhöhe bereits von pH 8 an zu sinken beginnt. Die in alkalischen Lösungen beobachteten Erscheinungen können in Kenntnis der Löslichkeit des $Mg(OH)_2$ auch quantitativ recht gut erklärt werden. Das Löslichkeitsprodukt des $Mg(OH)_2$ beträgt nämlich

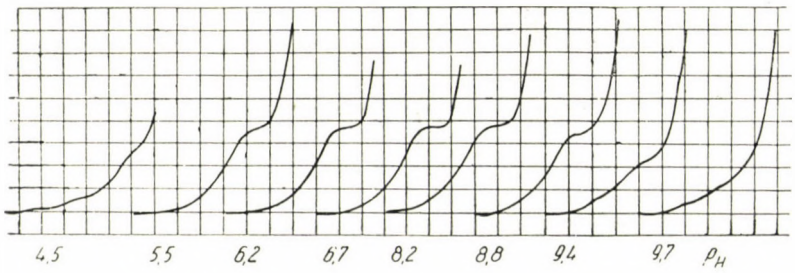


Abb. 6. Abhängigkeit der Mg^{2+}-Stufe vom pH-Wert

$6 \cdot 10^{-10}$ und für die gesättigte Lösung ergibt sich hieraus eine Konzentration von $5{,}32 \cdot 10^{-4}$ m sowie ein pH von 11. Tadellose, gut auswertbare Polarogramme sind aber zwischen pH 5,4 bis 6,8 zu erhalten und es soll betont werden, dass das pH einer etwa 10^{-3} molaren Lösung eines Mg-Salzes in destilliertem Wasser gerade in diesen Bereich fällt. — Die Abhängigkeit des Halbstufenpotentials vom pH-Wert wurde ebenfalls geprüft und gefunden, dass es

Tabelle II

pH	Stufenhöhe (m/m)
4,5	nicht auswertbar
5,5	34,5
6,2	34,5
6,7	34,5
8,2	33,5
8,8	33,0
9,4	19,5
9,7	nicht auswertbar

zwischen den angegebenen Grenzen von jenem als unabhängig angesehen werden kann, indem es in einem pH-Intervalle von 5,5 bis 8,8 von —2,59 V bloss auf —2,52 V sank.

Um festzustellen ob und inwieweit die polarographische Bestimmung des Magnesiums durch die Nachbarionen gestört wird, wurde die Wirkung der K^+-, Li^+- und Ca^{2+}-Ionen untersucht. Die Reduktionsreihenfolge dieser Ionen an der strömenden Elektrode stimmt mit der an der Tropfelektrode überein. Zuerst wurde das Polarogramm des Magnesiums allein in einer $1{,}6 \cdot 10^{-3}$m Lösung aufgenommen, woraus sich eine Stufe von 38,5 mm ergab (Abb. 7, Kurve 1); danach wurde durch Zugabe von KCl die K^+-Ionenkonzentration auf 10^{-3}

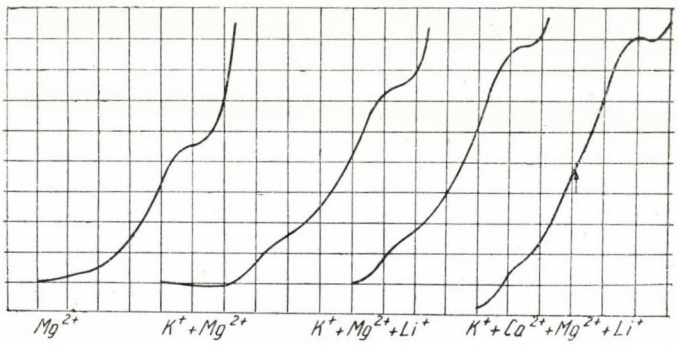


Abb. 7. Einfluss einiger Ionen auf das Polarogramm des Mg^{2+}

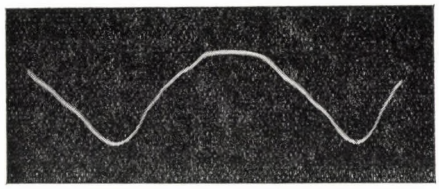


Abb. 8. Oszillographische *V-t* Kurve einer Lösung, die KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ und LiCl enthielt. — Grundlösung 0,70m $[N(CH_3)_4]\,Cl$

eingestellt. Beide Stufen erschienen am Polarogramm gut separiert und fast unverändert; die Stufenhöhe des Mg^{2+} betrug 38,0 mm (Abb. 7, Kurve 2). Das dritte Polarogramm wurde nach Zugabe zur Lösung von Li^+-Ionen (in der Konzentration 10^{-3}m) aufgenommen, und man sieht, dass die Li^+-Stufe mit der des Mg^{2+}-Ions zusammenfliesst. Das vierte Polarogramm lässt zwar auch eine Ca^{2+}-Stufe erkennen, sie macht jedoch die Auswertung der Mg-Stufe etwas unsicher.

Zum Schluss wurde auch die oszillographische *V-t* Kurve dieser, insgesamt vier Ionen enthaltenden Lösung aufgenommen (Abb. 8). Hier konnten auch nur drei Wellen unterschieden werden u. zw. die der K^+- und der Ca^{2+}-, bzw. der $(Mg^{2+} + Li^+)$-Ionen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde auf Grund oszillographisch-polarographischer Erfahrungen eine Methode zur unmittelbaren polarographischen Bestimmung des Magnesiums ausgearbeitet. Mit einer modifizierten strömenden Quecksilberelektrode wurden in einer gesättigten Tetramethylammoniumchlorid-Leitsalzlösung im Konzentrationsbereiche von $3 \cdot 10^{-3}$ bis $5 \cdot 10^{-4}$m gut auswertbare Mg^{2+}-Ionenstufen erhalten. Das Halbstufenpotential des Mg^{2+}-Ions ergab sich an der strömenden Kathode zu —2,60 V. Es ist am zweckmässigsten zwischen den pH-Grenzen von 5,4 bis 6,8 zu polarographieren. Die Auswertung der Polarogramme wird durch Anwesenheit von Ca^{2+}-Ionen etwas beeinflusst, durch Li^{+}-Ionen hingegen stark gestört. In Gegenwart von K^{+}-Ionen erhält man tadellos auswertbare Kurven.

LITERATUR

1. I. M. Kolthoff und J. J. Lingane: Polarography 2nd ed., (Interscience Publishers, New-York—London) 1952, Vol. II. p. 430.
2. M. v. Stackelberg: Polarographische Arbeitsmethoden (Walter de Gruyter & Co., Berlin) 1950. S. 112.
3. J. Heyrovský und J. Forejt: Z. physik. Chem. **193**, 77 (1943).
4. J. Heyrovský und J. Forejt: Oscilografická polarografie (Státni nakladatelstvi techn. literatury. Praha) 1953.
5. K. Győrbíró und L. Poós: Acta Chim. Hung. **9**, 185 (1956).
6. M. v. Stackelberg: loc. cit. S. 92.
7. J. Koryta: Chem. Listy, **45**, 204, 246 (1952).

DISKUSSION

J. Heyrovský: In der Frage der Polarographie des Magnesiums wussten wir nicht Bescheid. Wir hatten schon alles probiert, viele Mitarbeiter von unserem Institut arbeiteten mit Magnesium. Wir dachten schon, Magnesium sei nicht polarographierbar. Verschiedene Verfeinerungen wurden angewendet, jedoch erfolglos. Jetzt wurde aber gezeigt, dass das Problem gelöst werden kann. Lithium und Calcium müssen erst getrennt werden, um tadellose Polarogramme zu erhalten. Ich möchte fragen, ob Sie bei der Bestimmung des Halbstufenpotentials den Potentialfall in der Lösung, das Produkt $i \times R$, berücksichtigt haben? In der Polarographie müssen die Kurven bei hohem Widerstand oder bei grosser Stromstärke mit dem Produkt $i \times R$ korrigiert werden. Haben Sie geprüft, wie hoch der Wert dieses Produktes ist?

J. Proszt: Wir arbeiteten mit recht konzentrierten Grundlösungen, so konnte der Wert des Produktes $i \times R$ nicht bedeutend hoch kommen. Das Halbstufenpotential des Mg^{2+} ist also warscheinlich ein reeller Wert. Die Anwesenheit des Lithiums stört die Mg^{2+}-Stufe tatsächlich, die Calcium-Stufe erscheint aber deutlich gesondert; wir glauben, dass die Polarographie der beiden letzteren Ionen nebeneinander möglich ist. Mit der Methode der Derivation lässt sich dies sicher durchführen.

J. Koryta: Haben Sie das gemessene Halbstufenpotential des Magnesiums mit dem normalen Redoxpotential verglichen? Hier an der Wandtafel sehe ich nämlich, dass die Potentialwerte ziemlich übereinstimmen, da der Wert 2,43 V gegen die Normal-Wasserstoffelektrode, umgerechnet auf die normale Kalomelelektrode, beinahe genau den Halbstufenpotentialwert ergibt. Ich denke, dass diese Stufe zur Bestimmung des Redoxpotentials des Magnesiums gut geeignet ist. Vielleicht wird der Wert höher sein, als der von den potentiometri-

schen Messungen ermittelte. Die Messung ist aber auch in wässerigen Lösungen durchführbar.

J. PROSZT: Der Normal-Potentialwert ist bei mehreren Metallen in der Tabelle, wie bekannt, ein Ergebnis thermodynamischer Berechnungen und kein unmittelbar gemessener Wert, ist er jedoch ein solcher, so kann er gewissermassen unbestimmt sein. In diese Kategorie gehört auch das Magnesium und besonders das Aluminium, dessen Normalpotential wir eben jetzt unmittelbar zu messen beabsichtigen und zwar an einer, aus nichtwässerigem Lösungsmittel durch Elektrolyse abgeschiedenen Aluminiumfläche, wobei im gleichen Medium ein gesättigtes Aluminiumamalgam als Bezugselektrode dienen soll.

J. KORYTA: Akademiker HEYROVSKÝ hatte schon i. J. 1920 bei Prof. DONNAN im Rahmen des University College potentiometrische Redoxpotentialmessungen mit des Aluminiumamalgam-Elektrode durchgeführt. Ich wollte Sie fragen, Herr Professor, ob Sie sich auch mit der Polarographie anderer Erdalkalimetalle, wie z. B. des Calciums und Strontiums befasst haben, die an der tropfenden Quecksilberelektrode auch sehr schlecht ausgebildete Stufen geben?

J. PROSZT: Bisher haben wir es nocht nicht getan, doch planen wir demnächst natürlich auch diese Versuche durchzuführen.

THE POLAROGRAPHY OF MAGNESIUM

K. Győrbíró, L. Poós and *J. Proszt*

(Institute of Inorganic Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

On the basis of experiences in oscillographic polarography, a method was evolved for the direct polarographic determination of magnesium. Readily evaluable Mg^{2+}-ion waves may be obtained with the use of a modified streaming mercury electrode in a saturated solution of tetramethyl ammonium chloride (as conducting liquid) in the concentration range $3 \cdot 10^{-3}$—5.10^{-4} *M*. The half-wave potential of the Mg^{2+}-ion on the streaming cathode amounted to —2,60 v. It is practical to carry out polarography between the pH limits 5,4—6,8. The evaluation of polarograms was slightly affected by the presence of Ca^{2+}-ions, whereas Li^{+}-ions severely interfered with the determination. Curves obtained in the presence of K^{+}-ions allow for a satisfactory evaluation.

Károly GYŐRBÍRÓ
László POÓS
Prof. Dr. János PROSZT

Budapest, XI. Gellért tér 4

POLAROGRAPHISCHE DAUERANALYSATOREN

J. V. A. Novák

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Es ist eine der Aufgaben der modernen analytischen Chemie, die Serienanalysen im Laboratorium durch eine selbsttätige und womöglich kontinuierliche Konzentrationsbestimmung der reagierenden oder sich in einer anderen Weise am Erzeugungsprozess beteiligenden Stoffe zu ersetzen und Methoden zu suchen, die zu einer automatischen Lenkung des chemischen Betriebes geeignet wären. Ich möchte hier die Aufmerksamkeit auf die von der Polarographie auf diesem Felde gebotenen Möglichkeiten lenken.

Die Polarographie scheint zu Automatisierungszwecken besonders dadurch geeignet zu sein, dass hier das Mass der Konzentration des zu bestimmenden Stoffes der elektrische Strom ist, der eine leicht messbare Grösse und ausserdem direkt zur Aufzeichnung der Ergebnisse und zur Handhabung der Regulationseinrichtungen verwendbar ist.

Wenn wir die zu untersuchende Lösung durch ein elektrolytisches Gefäss von einer polarisierbaren und von einer unpolarisierbaren Elektrode durchströmen lassen, erhalten wir bei einer bestimmten konstant angelegten Spannung einen Grenzstrom, der die Konzentration des anwesenden Depolarisators, das heisst des zu bestimmenden Stoffes, dauernd anzeigt.

Damit eine derartige Einrichtung zur automatischen Kontrolle eines chemischen Betriebes, gegebenenfalls als Indikator bei der automatischen Regulierung der einzelnen Betriebsabschnitte, verwendet werden kann, ist es notwendig, dass sie lange Zeit dauernd und verlässlich arbeitet und dass sie elektrolytische Grenzströme liefert, die mit den üblichen Betriebsinstrumenten gemessen werden können.

Leider arbeitet ein Analysator, der aus den in der klassischen Laboratoriumspolarographie bewährten Bestandteilen zusammengestellt ist, in der Regel nur während einer begrenzten Zeit, so dass er zu Betriebsmessungen nicht geeignet ist. Die Hauptschwierigkeiten werden durch die Bezugselektroden, die Kalomel-, Mercurisulfat- oder andere Elektroden »zweiter Art« geboten, die unlösliche Reaktionsprodukte liefern, durch den dauernden Stromdurchgang passiviert werden und so ihr Potential beträchtlich ändern.

Für einige polarographische Daueranalysatoren bewährte sich als Bezugs-

elektrode eine in die langsam durchströmende Lösung eingetauchte Quecksilbertropfelektrode [1], die eine die Potentialachse steil schneidende Strompotentialkurve liefert. Als Beispiel führe ich einen Analysator zur Messung kleiner Konzentrationen von Titan(III)-Ionen neben einem grossen Überschuss an Titan(IV)-Ionen in Titanlaugen an. (Die Titanlauge ist eine konzentrierte schwefelsäure Lösung von Titan(IV)-Sulfat.) In dieser Lösung liefert das Titan auf den polarographischen Stromspannungskurven eine Redox-Stufe, deren kathodischer Teil der Reduktion des vierwertigen Titans zum dreiwertigen, und deren anodischer Teil der Oxydation des dreiwertigen Titans zum vierwertigen entspricht. Wir lassen die Titanlauge durch ein elektrolytisches Gefäss mit zwei Tropfelektroden, an die wir eine konstante Spannung von etwa 0,2 V anlegen, durchströmen. Das Potential der einzelnen Elektroden stellt sich auf Werte ein, die den gleichen Stromwerten entsprechen (allerdings von entgegengesetzter Richtung), und deren Differenz der angelegten Spannung gleich ist. Aus der Stromspannungskurve ist ersichtlich, dass auch bei verhältnismässig grossen Konzentrationsänderungen des dreiwertigen Titans die Kathode ihr Potential nur in vernachlässigbar kleinen Grenzen ändert und daher als Bezugselektrode dienen kann. Da sich ihr Potential andauernd erneuert, kommt eine Passivierung nicht in Frage. Der Analysator ist zur kontinuierlichen Dauermessung im Betrieb und als Indikator bei der automatischen Regulierung eines Erzeugungsabschnittes bei der Produktion von Titanweiss bestimmt.

Als praktisch universale Bezugselektroden erweisen sich feste Elektroden, die von einer ein Redoxsystem enthaltenden, lösliche Reaktionsprodukte liefernden Lösung umspült sind [2]. Besonders geeignet ist eine Platinelektrode, die in eine durchfliessende Lösung eines Gemisches von Eisen(III)- und Eisen(II)-Ionen in verdünnter Schwefel- oder Salzsäure, gegebenenfalls eines Gemisches von Hexacyanoferrat(III) und Hexacyanoferrat(II) eingetaucht ist. Bei Veränderungen des Stromes sind die Potentialänderungen einer derartigen Elektrode geringer als bei der Kalomelelektrode. Von der Zeit ist ihr Potential unabhängig, besonders wenn der durchströmende Elektrolyt in der Nähe der Elektrode gerührt wird, z. B. durch Einleiten von Luft. Die Elektrode zeichnet sich durch eine unbegrenzte Dauerhaftigkeit aus, was an Dauerversuchen bewiesen wurde.

Im elektrolytischen Gefäss gelangen beide Lösungen — die untersuchte Lösung und die für die Bezugselektrode bestimmte Lösung — in unmittelbare Berührung, d. h. ohne Diaphragma oder Salzbrücke. Die für die Bezugselektrode bestimmte Lösung wird stets so gewählt, dass sie sich durch ihr spezifisches Gewicht von der untersuchten Lösung unterscheidet. Beide Lösungen strömen in das elektrolytische Gefäss durch eigene Zuleitungen ein und fliessen durch einen gemeinsamen Syphonverschluss ab. Im Gefäss bilden die Lösungen, ohne sich zu vermischen, eine scharfe Grenzfläche aus (Abb. 1). Um eine Vermischung infolge Diffusion zu vermeiden, genügt es, die Lösungen mit einer

Geschwindigkeit von etwa 0,05 ml pro Minute durchströmen zu lassen. Der Lösungsverbrauch der Bezugselektrode beträgt also etwa 75 ml pro Tag.

Zu Zwecken einer Messelektrode entspricht die Quecksilbertropfelektrode bei Daueranalysatoren ebenso gut wie bei der klassischen Laboratoriumspolarographie. Bei der Messung kleiner Konzentrationen liefert sie jedoch zu schwache Ströme. Besonders störend wirkt der verhältnismässig starke Ladungsstrom. Es wurden deswegen Versuche unternommen, bei einigen Dauermessungen Elektroden mit einer grösseren ruhenden Oberfläche (1 bis 3 cm^2) als

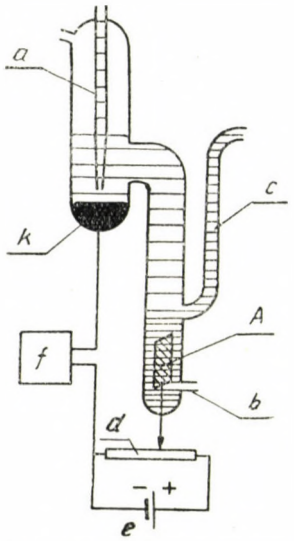


Abb. 1. Schema des Analysators mit Platinbezugselektrode und ruhender, von der Analysenlösung umspülter Quecksilbermesselektrode.
A — Platinbezugselektrode (Anode); *K* — Quecksilbermesselektrode (Kathode); *a* — Zuleitung der Analysenlösung; *b* — Zuleitung der Lösung für die Bezugselektrode; *c* — gemeinsamer Abfluss beider Lösungen; *d* — Spannungsteiler; *e* — Akkumulator; *f* — Registriermikroampermeter

Messelektroden zu verwenden [3]. Die Erneuerung der Oberfläche wird in diesem Fall durch Spülung der Elektrode durch den Strom der zu untersuchenden Lösung ersetzt. Man lässt die Lösung durch den Messelektrodenraum durchströmen, und zwar mit einer Geschwindigkeit, die eine genügend grosse Bewegung der Lösung an der Oberfläche der Elektrode sichert, oder langsam (weniger als 0,1 ml pro Minute), jedoch unter intensiver Gaseinleitung. Die durch die Gaseinleitung verursachten Stromfluktuationen überschreiten nicht die Grösse der Oszillation, die bei den mit der Quecksilbertropfelektrode erhaltenen polarographischen Kurven üblich sind. Zur Messung der Konzentrationen von kathodisch wirksamen Stoffen bewährte sich eine ruhende Quecksilberschicht [3] als Messelektrode (Abb. 1). Zur Bestimmung anodisch wirksamer Stoffe wurde eine Platinelektrode benutzt.

Die mit derartigen Elektroden erhaltenen Grenzströme sind bis zu hundertmal grösser als die mit der Tropfelektrode gewonnenen. Zu ihrer Messung wird daher kein empfindliches Spiegelgalvanometer benötigt, und es können die üblichen Betriebsinstrumente und Registriergeräte verwendet werden. Der Kapazitätsstrom ist hier bei konstanter, an die Elektroden angelegter Spannung gleich null. Die mit diesen Elektroden versehenen Analysatoren besitzen eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Erschütterungen, die bei der Messung in Betrieben auftreten.

Bei einer Potentialveränderung stellt sich bei Messelektroden mit ruhender Oberfläche der entsprechende Stromwert zu langsam ein und nicht immer in reproduzierbarer Weise. Deswegen eignen sich diese Elektroden nicht zu Messungen, bei welchen die Stromspannungskurven registriert werden sollen. Sie bewährten sich jedoch bei Messungen mit konstanter Spannung.

Zu Betriebsdauermessungen ist ein Polarograph nicht notwendig. Zur Abzweigung der an die Elektroden angelegten konstanten Spannung genügte ein einfacher, von einem Akkumulator gespeister Spannungsteiler.

Als Beispiel für einen Analysator mit einer tropfenden Messelektrode und einer festen Bezugselektrode sei hier der Analysator zur Messung der Konzentration von Cyanwasserstoffwasser erwähnt, der für den kontinuierlichen Betrieb der Cyaniderzeugung bestimmt ist.

Ein Beispiel eines Analysators hingegen mit einer ruhenden Quecksilberschicht als Messelektrode und einer Platinelektrode als Bezugselektrode ist der Sauerstoffanalysator. Durch den Messelektrodenraum lässt man eine 0,1n Natriumchloridlösung langsam durchfliessen (etw. 0,05 ml pro Minute). In unmittelbarer Nähe der Elektrode wird das zu untersuchende Gas mit einer konstanten Geschwindigkeit (200 bis 300 ml pro Minute) in die Lösung eingeleitet. An die Elektroden wird eine konstante Spannung von etwa 1,1 V angelegt. Man misst den Grenzstrom des Sauerstoffes, der in der Lösung unter dem im untersuchten Gas vorliegenden Partialdruck aufgelöst ist. Der Analysator ist vor allem für die Messung kleiner Sauerstoffkonzentrationen im Butadiengas bei der Erzeugung von synthetischem Kautschuk und in Äthylen bei der Herstellung von Polyäthylen bestimmt, wo er als Indikator für die automatische Regulierung des für die Polymerisation optimalen Sauerstoffgehaltes dienen soll.

Mit einer ruhenden Quecksilbermesselektrode, die von einem Strom der zu untersuchenden Flüssigkeit gespült wird (Abb. 1), wurde ein Analysator zur Messung der Sauerstoffkonzentration in Kesselspeisewässern konstruiert, sodann ein anderer Analysator zur Bestimmung der Quecksilberionen in Abwässern von Quecksilber erzeugenden Betrieben.

Ein Beispiel eines mit Platinanode als Messelektrode arbeitenden Analysators ist der zur Bestimmung von Schwefeldioxyd in technischen Gasen gebaute Analysator. Hier wird in Schwefelsäure in dichter Nähe der Messelektrode mit dem zu untersuchenden Gas durchperlt. Man misst den Grenzstrom der

anodischen Oxydation des Schwefeldioxyds. (Bei der kathodischen Bestimmung geringer Schwefeldioxydkonzentrationen stört die Gegenwart von Sauerstoff, bei der oben beschriebenen Bestimmung jedoch keinenfalls.)

Auf einem ähnlichen Prinzip ist der Analysator für Kohlenmonoxyd aufgebaut. Die durchströmende Lösung von 1n Schwefelsäure mit etwa 20% Aceton wird mit dem untersuchten Gas, das vorher durch ein erhitztes Rohr geleitet wurde, durchperlt. Das Rohr ist mit Jodpentoxyd gefüllt. Man misst den anodischen Grenzstrom des Jodids. Mit dieser Methode kann eine Kohlenmonoxydkonzentration von 0,01 bis unterhalb 0,0001 Volum% bestimmt werden. Der Analysator ist hauptsächlich zur Verfolgung des Kohlenmonoxydgehaltes in der Atmosphäre von Kohlenbergwerken bestimmt, wo er zu einer rechtzeitigen Aufdeckung und zur Vermeidung von Grubenbränden beitragen soll.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden Elektroden beschrieben, die zu einer dauernden, kontinuierlichen polarographischen Messung der Konzentration technisch wichtiger Stoffe im Betrieb geeignet sind. Als Bezugselektrode bewährt sich besonders eine Platinelektrode in einer durchströmenden sauren Lösung eines Gemisches von Fe^{3+} und Fe^{2+} oder in einer alkalischen Lösung einer Ferri- und Ferrocyanid-Mischung. Als Messelektroden werden ausser der Quecksilbertropfelektrode auch grössere, von der untersuchten Lösung umspülte feste Elektroden verwendet, die grössere, mit den üblichen Betriebsinstrumenten messbare Ströme liefern. Es werden einige Beispiele polarographischer Daueranalysatoren angeführt.

LITERATUR

1. J. V. A. Novák: Chem. Listy **49**, 277 (1955); Collection Czechoslov. Chem. Communs., im Druck.
2. J. V. A. Novák: Chem. Listy **49**, 289 (1955); Collection Czechoslov. Chem. Communs., im Druck.
3. J. V. A. Novák: Chem. Listy, im Druck.

DISKUSSION

B. Fabuss: In bezug auf den Kohlenmonoxyd-Analysator möchte ich fragen, ob er sich zur Analyse von Rauchgasen eignet, die das Kohlenoxyd in einer Konzentration von etwa 5% enthalten?

J. V. A. Novák: Wir hatten uns bisher mit Rauchgasen nicht beschäftigt, die Reaktion beruht jedoch auf der Einwirkung des Kohlenoxyds auf Jodpentoxyd; ich glaube, dass eine so grosse Menge des Kohlenoxyds derart reagiert, dass das entstandene Jod nicht in der Gasphase bleibt, sondern sich auflöst. Mit diesem Problem wollen wir uns in der näheren Zukunft beschäftigen.

Z. Szabó: Im Apparat berühren sich zwei Flüssigkeitsschichten. Zwischen diesen Schichten wird ein Diffusionspotential auftreten. Auch führen die zwei Schichten Bewegungen aus. Wird diese Erscheinung keine instabilen Diffusionsströme hervorrufen?

J. V. A. Novák : Diese Diffusionspotentiale sind nicht so hoch, dass sie die Messung der Höhe des Grenzstromes beeinflussen würden. Eine Schwankung von 0,1 V bedeutet auf den gewöhnlichen Polarogrammen eine Verschiebung von 0,5 cm, da 200 mV 1 cm entsprechen. Das erwähnte Diffusionspotential kann höchstens Werte von einigen Millivolt erreichen, was sich bei der Messung des Grenzstromes überhaupt nicht auswirkt.

POLAROGRAPHIC ANALYSERS OF LONG-PERIOD AUTOMATIC RECORDING

J. V. A. Novák

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

Electrodes suited for the durable and continuous polarographic measurement of the concentrations of substances important in plant operation are described. A platinum electrode proved extremely serviceable as a reference electrode in a streaming acidic solution of a mixture of Fe^{3+} and Fe^{2+} or in an alkaline solution of a mixture of iron(III) and iron(II) cyanides. In addition to the dropping mercury electrode, also larger solid electrodes surrounded by the solution to be tested were applied as measuring electrodes, yielding currents readily measurable by conventional plant instruments. Several examples of polarographic analysers of long-period recording are described.

J. V. A. Novák Praha II., Opletalova 25.

DIE POLAROMETRISCHE BESTIMMUNG DER EISEN(III)-IONEN MIT ASCORBINSÄURE

L. ERDEY und A. KARSAY

(Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Die polarometrischen Bestimmungen der Eisen(III)-Ionen können in zwei Gruppen geteilt werden. In die erste Gruppe gehören die Methoden von STRUBL [1] und SPÁLENKA [2], die zu der Bestimmung die anodische Stufe des $TiCl_3$ benützen. Das Redoxpotential des Ti(IV)-Ti(III)-Systems liegt bei —0,2 V, so stören alle Kationen, deren Depolarisations-Spannung positiver ist, weiterhin diese, die auf Einwirkung des $TiCl_3$ reduziert werden. In der zweiten Gruppe finden wir die Methoden, deren Grundlage die Messung der kathodischen Stufe der Eisen(III)-Ionen ist. SANDBERG [3] führt die polarometrische Titration mit Bromoxin durch. KOLTHOFF und LIBERTI [4] verwenden zu diesem Zwecke Kupferron. Die Methoden sind schwierig, weil die Titration mit Bromoxin bei 50° durchgeführt werden muss, bei niedrigen pH-Werten stört die Fällung mit Kupferron die Messung des Diffusionsstromes. Die Masslösungen sind schwer zu beschaffen, ihre Titerstellung ist kompliziert.

Zur titrimetrischen Bestimmung der Eisen(III)-Ionen schlagen ERDEY und BODOR [5] die wässrige Lösung der Ascorbinsäure vor. Die Anzeige des Endpunktes geschieht durch KCNS. Wir hielten das Verfahren zur polarometrischen Bestimmung der Eisen(III)-Ionen bei niedriger Konzentration geeignet, es schien sogar in gewissen Hinsichten auch vorteilhaft, wir hatten nämlich gehofft, dass hierdurch die störende Wirkung der farbigen Ionen (Ni^{2+}, Co^{2+}, Cr^{3+}, usw.) beseitigt, die Erwärmung der Lösung vermieden und die Bestimmung der Fe^{3+}-Ionen auch in etwa 0,001 mol/-lit Konzentration ermöglicht werden kann.

Obzwar die Ascorbinsäure an der tropfenden Quecksilberelektrode oxydierbar ist kann die anodische Stufe zur Auswertung doch nicht benutzt werden, weil das Redoxpotential des Fe(III)-Fe(II)-Systems so positiv liegt (+0,47 V), dass die Stufen einander stören. Die Grundlage der Bestimmung ist also die kathodische Stufe der Fe(III)-Ionen. Bei den üblichen Eisenbestimmungen werden zur Lösung Komplexbildner zugegeben, um das Halbstufenpotential in negative Richtung zu verschieben. In komplexen Lösungen reduziert jedoch die Ascorbinsäure die Eisen(III)-Ionen sehr langsam ; demzufolge musste eine neue Methode gesucht werden.

Es sind Verfahren bekannt, durch die die kathodische Stufe der Eisen(III)-Ionen auch in komplexfreien Lösungen bestimmt werden kann. KOLTHOFF und MATSUYAMA [6] und CAPITANIO [7] haben solche Verfahren ausgearbeitet. Die Verfahren gleichen einander insofern, als gesonderte Bezugselektroden benützt und als Leitelektrolyt konzentrierte Salzlösungen (5,5n NH_4Cl) angewendet werden. Wegen der hohen Konzentration des Leitelektrolytes wird aber die Reduktion der Eisen(III)-Ionen durch Ascorbinsäure verlangsamt. Um den schnellen Verlauf der Reaktion zu sichern, versuchten wir die Anwendung von 0,1n HCl als Leitelektrolyt.

Beschreibung der Versuche

1. Herstellung der 0,001 mol/lit $FeCl_3$-Lösung: 27,1 g des analytisch reinen $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ wurden in 1n HCl gelöst und in einem 1000 ml Messkolben mit 0,1n HCl bis Marke aufgefüllt. Der Eisen(III)-Iongehalt der Lösung wurde permanganometrisch und ascorbinometrisch fest-

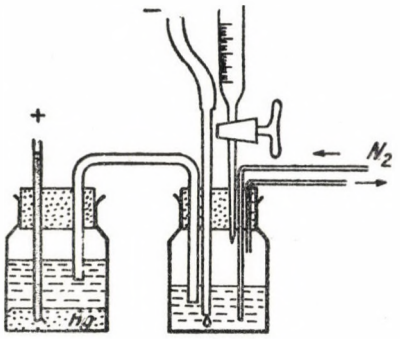


Abb. 1

gestellt. Aus der erhaltenen 0,1 mol/lit Lösung wurde die 0,001 mol/lit Lösung durch Verdünnung hergestellt.

2. Herstellung der 0,1n Ascorbinsäurelösung: 1,75 g der kommerziellen Ascorbinsäure wurden in, in Glaseinrichtung destilliertem Wasser gelöst und in einem 200 ml Messkolben bis Marke aufgefüllt. Der Titer der Lösung wurde vor der Messung mit 0,1n KJO_3 bestimmt. Die 0,01n Lösung wurde durch Verdünnung hergestellt und wiederholt titriert.

Das polarographische Gefäss wurde von uns selbst hergestellt. Da an der Anode das Quecksilber durch $FeCl_3$ gelöst wird, musste eine gesonderte Gegenelektrode angewendet werden. Die Anordnung des polarographischen Gefässes ist aus Abb. 1. ersichtlich. Als Gegenelektrode wurde eine gesättigte Kalomelelektrode verwendet, die mit einer Agar-Agar-Brücke mit der Untersuchslösung verbunden war. Die Aufnahme musste unter Luftausschluss durchgeführt werden, da die Stufe des Sauerstoffes die kathodische Stufe der Eisen(III)-Ionen stört. Zur Titration wurde eine Mikrobürette mit 0,01 ml Einteilung verwendet. Der Leitelektrolyt war 0,1n HCl, die gleichzeitig die Hydrolyse der Eisen(III)-Ionen verhinderte. Vor der Titration wurde der gelöste Sauerstoff durch Durchsprudeln von Stickstoffgas vertrieben, wodurch gleichzeitig auch die Rührung besorgt wurde. Die Höhe des Quecksilberniveaus betrug 400 mm, die Tropfzeit war 2,6 sec. Das Polarogramm wurde bei 4 V Spannung bei kathodischer Anordnung mit dem HEYROVSKÝschen Polarograph aufgenommen. Die Empfindlichkeit war 1/10.

Im ersten Teil unserer Messungen wurde untersucht, wie sich die Höhe der kathodischen Stufe der Eisen(III)-Ionen mit der Konzentration ändert.

Wie beobachtet, zeigte das Galvanometer schon bei 0 V Spannung einen Ausschlag, der mit der Konzentration der Eisen(III)-Ionen proportional war. Die Eichkurve ist in Abb. 2 veranschaulicht. Es ist auffallend, dass die Eichkurve die Abszisse schneidet und in einer Eisen(III)-freien Lösung das Galvano-

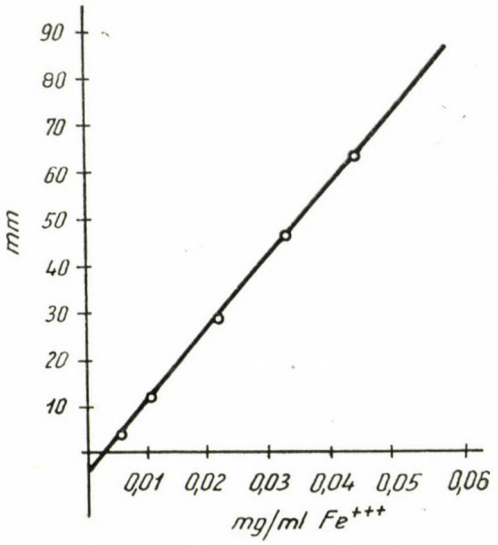


Abb. 2

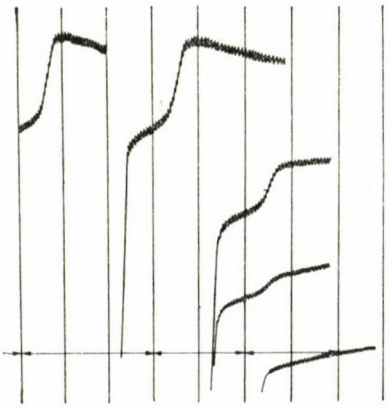


Abb. 3

meter in entgegengesetzter Richtung ausschlägt. Unsere Messungen bewiesen, dass zur Auswertung nicht die übliche 0-Achse, sondern der Diffusionsstrom der Eisen(III)-Ion-freien Lösung gewählt werden muss.

Um zu bestätigen, dass die Stufenhöhe bei 0 V Spannung als Grundlage der Auswertung geeignet ist, wurde untersucht, wie sich die Form des Polarogramms bei anodisch-kathodischer Schaltung ändert. Die schon beschriebenen

Versuchsbedingungen wurden nur dermassen modifiziert, dass das Polarogramm bei einer Empfindlichkeit von 1/15 aufgenommen und die Form der Stufe auch bei negativen Spannungen beobachtet wurde (Abb. 3). Die erste Kurve zeigt die kathodische Stufe von 0 V Spannung aufgenommen, die zweite die anodisch-kathodische Stufe von +0,12 V. Im letzteren Falle wurden zwei Stufen beobachtet. Die Höhe der ersten Stufe ist der 0 V Spannungsstufe gleich, die zweite ergibt sich wahrscheinlich aus der Reduktion der komplexgebundenen Eisen(III)-Ionen. Nach Zugabe von Ascorbinsäure (folgende Kurven) vermindern sich die beiden Stufen proportional und beim Äquivalenzpunkt verschwin-

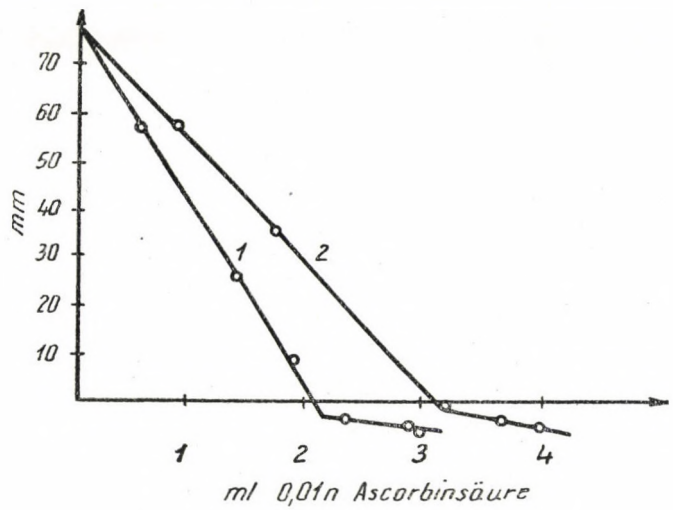


Abb. 4

den sie. Es kann gefolgert werden, dass zur Auswertung die Bestimmung der Stufenhöhe bei 0 V Spannung genügend ist.

Die Durchführung der polarometrischen Titration erfolgte folgendermassen: In das in Abb. 1 gezeigte Polarographgefäss liess man 20—40 ml der 0,001 mol/lit in 0,1n HCl gelösten $FeCl_3$ zulaufen. Der gelöste Sauerstoff wurde durch Durchperlen von Stickstoff während 5 Minuten vertrieben, sodann die Höhe der Stufe bei 0 V Spannung festgestellt. Danach wurde zur Lösung 0,1n bzw. 0,01n Ascorbinsäure in bekanntem Volumen und Konzentration zugegeben. Nach jeder Zugabe wurde die Stufenhöhe wiederholt gemessen. Während der Titration musste darauf geachtet werden, dass vor dem Äquivalenzpunkt mindestens 3, nach ihm mindestens 2 Messangaben vorhanden sein sollten. Nach jeder Aufnahme wurde eine Minute lang Stickstoff durchgeleitet, der neben Vertreibung des gelösten Sauerstoffes auch die Rührung ausführte. Der Verlauf der Titrierkurve ist in Abb. 4 gezeigt, die Ergebnisse der Messung sind in der Tabelle enthalten.

Tabelle

No	0,001 mol/lit $FeCl_3$ ml	Verbrauchte ml		Berechnete ml		Fehler % bei	
		0,1 n	0,01 n	0,1n	0,01n	0,1n	0,01n
		Ascorbinsäure		Ascorbinsäure			
1.	20,57	0,210	2,06	0,206	2,057	1,94	0,15
2.	20,57	0,203	2,04	0,206	2,057	1,45	0,82
3.	41,14	0,410	—	0,411	—	0,25	—
4.	41,14	0,408	—	0,411	—	0,73	—
5.	30,86	—	3,10	—	3,086	—	0,45
6.	30,86	—	3,06	—	3,086	—	0,84

Wie aus der Tabelle ersichtlich, konnte mit 0,1n und 0,01n Ascorbinsäure auch noch eine Lösung, die Eisen(III)-Ionen in kleiner Konzentration enthielt, gut titriert werden. 1 ml der Lösung enthielt 0,05584 mg Eisen(III)-Ionen und zu der Titration wurden 1—2 mg Eisen verbraucht. Der Fehler betrug im Falle 1 mg Eisens bei Titration mit 0,1n Ascorbinsäure 2%, bei 0,01n Ascorbinsäure weniger als 1%. Bei höherer Eisenmenge als 2 mg beträgt der Fehler 1%. Titriert man mit 0,01n Ascorbinsäure, so muss man die Volumenkorrektion natürlich berücksichtigen. Eine weitere Verminderung der Eisen-(III)-Ionen schien unzweckmässig, da dazu eine Ascorbinsäurelösung von sehr geringer Konzentration gewählt werden musste, deren Aufbewahrung schwierig gewesen wäre. War die Konzentration höher, so musste eine Volumenkorrektion auch bei 0,1n Ascorbinsäure beachtet werden. Ein Vorteil des Verfahrens besteht darin, dass es sich — da keine Spannungsquelle nötig — mit einfacheren Apparaten als der Polarograph ausführen liess. Natürlich konnte die Arbeit auf lichtempfindlichem Papier ebenfalls weggelassen werden.

Bei der Feststellung des Einflusses der fremden Ionen wurden die früheren Arbeiten von L. Erdey und E. Bodor herangezogen. Auch die polarometrische Titration wird von den stark oxidierenden Stoffen, wie z. B. J_2, JO_3^-, BrO_3^-, MnO_4^-, CrO_4^{2-}, H_2O_2, V^{5+}, Ce^{4+} gestört, die üblichen Verunreinigungsionen, wie z. B. Alkalimetalle, Alkalierden, Al^{3+}, Zn^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Mn^{2+}, Ti^{4+}, sind mit der Ausnahme von Ag^+ und Cu^{2+} ohne Wirkung. Die farbigen Ionen (Ni^{2+}, Co^{2+}, Cr^{3+}) stören nicht einmal in 100fachem Überschuss.

ZUSAMMENFASSUNG

Zu der polarometrischen Bestimmung der Eisen(III)-Ionen schien die wässrige Lösung der Ascorbinsäure als geeignet. Die beschriebene Methode gibt eine Bestimmung der Eisen(III)-Ionen bis 0,001 mol/lit Konzentration. Der Fehler ist im Falle von 1—2 mg Eisen kleiner als 1%, somit ist das Verfahren mit den bisher bekannten Methoden gleichwertig. Ein Vorteil des Verfahrens besteht darin, dass die Masslösung leicht herzustellen und der Titer leicht zu prüfen

ist. Die Titriereinrichtung kann wesentlich vereinfacht werden, da die Messung des Diffusionsstromes der Fe^{3+}-Ionen bei 0 V Spannung durchgeführt werden kann. Die üblichen Verunreinigungskationen stören mit Ausnahme von Kupfer und Silber nicht. Stark oxydierende Stoffe stören.

LITERATUR

1. R. STRUBL: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **10**, 475 (1938).
2. M. SPALENKA: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 146 (1939).
3. B. SANDBERG: Svensk Chem. Tidskr. **58**, 197 (1946).
4. I. M. KOLTHOFF und A. LIBERTI: Analyst **74**, 635 (1949).
5. L. ERDEY und E. BODOR: Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 277 (1950); Analytic. Chem. **24**, 418 (1952).
6. I. M. KOLTHOFF und G. MATSUYAMA: Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **17**, 615 (1945).
7. V. CAPITANIO: Atti. Mem. R. Accad. Sci. Lettere Arti Padova, Mem. Cl. Sci. fisicomat. **57**, 107 (1942).

DISKUSSION

P. SZEPESVÁRY: Was ist die Meinung des Vortragenden, kann der Eisengehalt einer Lösung nicht so bestimmt werden, dass der Wert des Diffusionstromes bei 0 V Spannung gemessen wird, da wir eine Linearität zwischen Diffusionstrom und Konzentration beobachteten? Was wäre die Genauigkeit in diesem Falle?

A. KARSAY: Die Bestimmung lässt sich auf diese direkte Weise ebenfalls durchführen. In diesem Falle müssten aber die Aufnahmebedingungen immer konstant gehalten werden, und wir müssten uns an die ursprünglichen Eichdaten, wie Temperatur, Tropfzeit, Quecksilberbehälterhöhe halten. Mit unserer Methode lässt sich dies vermeiden.

Was die Genauigkeit der Messungen betrifft, so bewegt sich, wie schon erwähnt, bei 1—2 mg Eisen, mit 0,01n Ascorbinsäure titriert, der Fehler unter 1%, da die Vorteile der polarometrischen Bestimmungen eben in der Steigerung der Empfindlichkeit liegen, was aber eine erhöhte Genauigkeit der Bestimmungen ermöglicht.

POLAROMETRIC DETERMINATION OF IRON(III)-IONS BY ASCORBIC ACID

L. Erdey and *A. Karsay*

(Institute of General Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

The aqueous solution of ascorbic acid readily lends itself to the polarographic determination of iron(III)-ions. The method evolved may be used for the determination of iron(III)-ions of as low a concentration as 0,001 *M*. In the case of 1—2 mg of iron the error is below 1%, *i. e.* in the order of magnitude of other methods known so far. The method has the advantage of requiring a standard solution which may readily be prepared and the titer of which is easy to test. The apparatus for titration may essentially be simplified because the measurement of the diffusion current of Fe^{3+}-ions can be carried out at a potential of 0 v. The usual accompanying ions, excepting copper and silver, do not interfere with the determination whereas the presence of strong oxidizing substances should be eliminated.

Prof. Dr. László ERDEY
Antal KARSAY
} Budapest, XI. Gellért tér 4

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG HOCH-MOLEKULARER STOFFE MITTELS MAXIMADÄMPFUNG

I. Rusznák, K. Fukker und I. Králik

(Institut für Praktische Chemie der Technischen Universität, Budapest und Forschungsinstitut für die Textilindustrie, Budapest)

In unserem Institut befassen wir uns seit einigen Jahren mit der Frage der polarographischen Maximadämpfung. Während des Studiums der Literatur zeigte es sich, dass sich unter den bekannten Maximadämpfern Stoffe mit verschiedenen chemischen und physikalischen Eigenschaften befinden, so z. B. neben verhältnismässig niedermolekularen Farbstoffen mit verschiedener Struktur und Eigenschaften auch in grossem Masse aromatische Verbindungen, Polymerisate und Makromoleküle. Die Konzentrationsabhängigkeit einiger dieser Stoffe wurde eingehend studiert und zur quantitativen Bestimmung geeignet gefunden (Fuchsin, Methylenblau); bei anderen hingegen musste sie der Streuungen wegen abgelehnt werden.

Wir waren besonders an der Frage interessiert, ob irgendein Zusammenhang zwischen dem Masse der Maximadämpfung und den Eigenschaften der Dämpfer besteht und inwieweit die Konzentration, der chemische Aufbau, die Molekelgrösse im Einzelnen oder gemeinsam die Erscheinung beeinflussen.

Unsere Untersuchungen wurden mit hochmolekularen Stoffen begonnen. Eine Anzahl von verschiedenen hochmolekularen Stoffen wurden vom Standpunkt der Maximadämpfung studiert, u. a. zwei Stärkesorten: eine sogenannte »native« und eine lösliche Stärke, »*amylum solubile*«. Es war auffallend, dass die native Stärke im untersuchten niedrigen Konzentrationsbereich (2,5 γ/ml—40 γ/ml) praktisch keine Dämpfung verursachte, während die lösliche Stärke unter denselben Bedingungen und Konzentrationen eine gut messbare Dämpfwirkung zeigte.

Da wir annahmen, dass das verschiedenartige Verhalten nur auf den Unterschied der Molekülgrösse der beiden Sorten zurückzuführen ist, leiteten wir unsere weiteren Untersuchungen in diese Richtung. Die Stärke wurde durch Mineralsäuren (Salpetersäure und Salzsäure) verschiedener Konzentration in verschiedenem Grade abgebaut. Wir erhielten dadurch polymerhomologe Mischungen, bei denen sich das durchschnittliche Molekulargewicht eindeutig änderte. Unter gleichen Bedingungen und bei gleicher Trockensubstanzkonzentration wurden die Proben untersucht und es wurde zwischen der Dämpfung und der Molekülkonzentration eine Proportionalität festgestellt.

Da dieser Zusammenhang in der Literatur nicht einmal angedeutet ist, wurden unsere Versuche mehrmals sorgfältig wiederholt. Die Ergebnisse schwankten binnen den erlaubten Grenzen, die beobachtete Tendenz blieb vollkommen eindeutig.

Es wurden sodann auch andere hochmolekulare Stoffe ähnlicherweise untersucht um zu entscheiden, ob dieses Verhalten die spezifische Eigenschaft der Stärke oder aber von allgemeiner Gültigkeit für andere hochmolekulare Stoffe sei. So wurde z. B. Agar-Agar, Tragant, Gummi-arabicum, Gelatine, Carboxymethylzellulose, Zellulosexanthogenat, Zelluloseacetatphthalat und

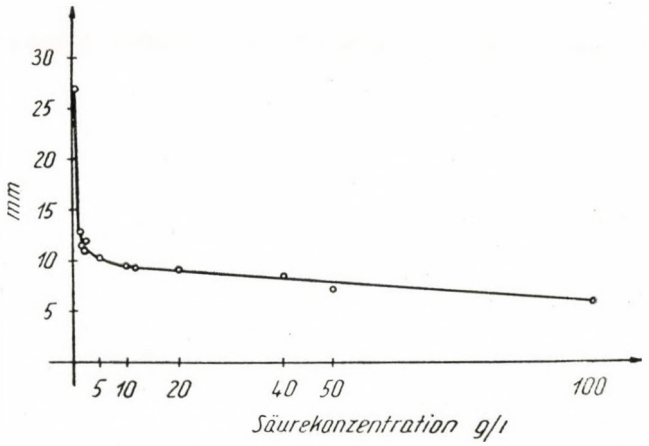


Abb. 1. Zusammenhang zwischen dem Dämpfungsvermögen und der zum Abbau angewandten Säurekonzentration

Polyvinylalkohol untersucht. Diese Versuche zeigten prinzipiell die gleichen Ergebnisse. Demnach besteht zwischen der Höhe des Maximums und der Molkonzentration (Molekülgrösse) — die sich bei gleicher Trockensubstanzkonzentration der einzelnen Fraktionen wegen des verschiedenen Molekulargewichtes des angewendeten Maximadämpfers ändert — der folgende Zusammenhang.

Die Erhöhung der Molkonzentration verursacht eine Zeit lang ein steigendes Dämpfungsvermögen, nach Überschreitung des Optimums verminderte es sich, d. h. die Maxima wurden grösser. Demnach ist zur Erreichung der grössten Unterdrückung bei den durch uns untersuchten hochmolekularen Verbindungen eine »optimale« Molekülgrösse erforderlich. Ist unser Stoff von höherer Molekülgrösse, so steigt während des Abbaues das Dämpfungsvermögen, ist er von kleinerer, so vermindert es sich. Wir wollen einige Versuchsmodelle betrachten.

5—5 Gramm der gewählten nativen Stärke wurden mit Mineralsäuren von gegebener Konzentration abgebaut. Die Menge der Säure war immer

10 ml. Nach dem Abbau wurde die Probe neutralisiert, dialysiert und zur Trockene eingedampft. Aus der Trockensubstanz wurden 0,05%ige Lösungen hergestellt und mit diesen wurde das Sauerstoffmaximum in 10^{-3} n KCl-Lösungen gedämpft. Der Zusammenhang zwischen dem Dämpfunsvermögen

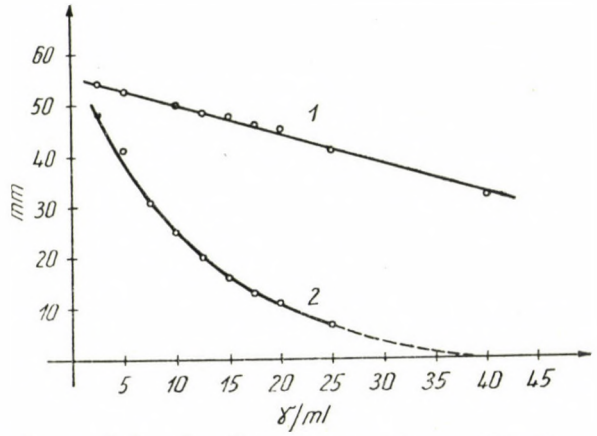


Abb. 2. Zusammenhang zwischen dem Dämpfungsvermögen und der Konzentration der abgebauten Stärke. Die zur Hydrolyse angewandte HNO_3-Konzentration: 1.) 0,01 g/l, 2.) 100 g/l

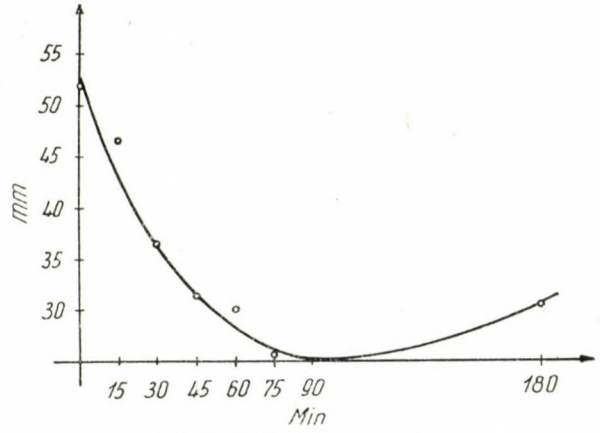


Abb. 3. Carboxymethylzellulose

und dem Abbaugrad wird in Abb. 1 gezeigt. Wie ersichtlich, wächst das Dämpfungsvermögen bei Steigerung der Säurekonzentration anfangs schnell, dann nach Erreichung eines Grenzbereiches immer langsamer.

Studieren wir die Kurve der Wechselwirkung der Dämpfung mit der Konzentration innerhalb einzelner Abbaugrade (Abb. 2), so erfahren wir, dass diese erst beinahe linear verläuft, später aber über eine — dem Abbaugrad entsprechende — Konzentration biegt und sich einem Grenzwert asymptotisch

nähert. Unseren Messungen nach neigt sich die Kurve bei einer um so kleineren Konzentration, je mehr die Stärke abgebaut ist. Diese Erscheinungen bestätigen, dass der Dämpfungsgrad nicht allein von der Trockensubstanzkonzentration abhängt, sondern auch eine Funktion der Molkonzentration ist. Von den Endprodukten des Stärkeabbaues wurden die Glucose und die

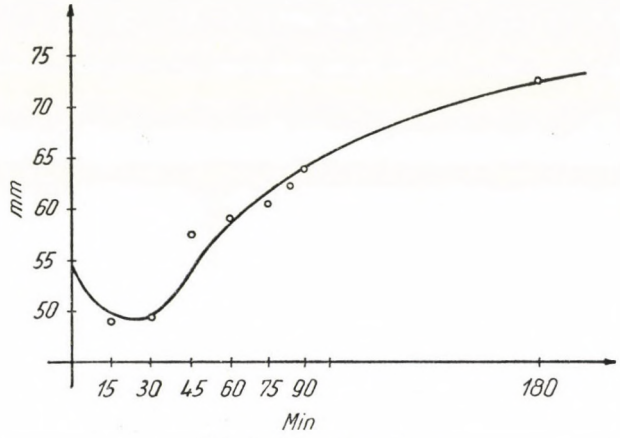


Abb. 4. Gummi-arabicum

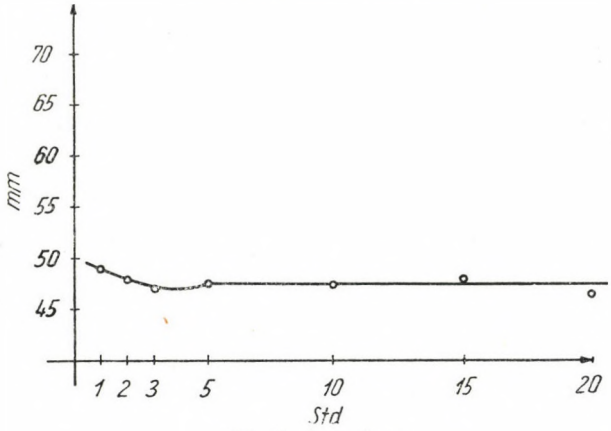


Abb. 5. Agar-Agar

Zuckersäure untersucht und gefunden, dass diese die Maxima nicht einmal in 100facher Stärkekonzentration dämpfen.

Es scheint, dass neben der Molekülkonzentration auch die Molekülgrösse eine Rolle spielt.

Zur Klärung dieser Erscheinung wurden die in Abb. 3—8 dargestellten hochmolekularen Stoffe untersucht und die Maximadämpfung als eine Funktion der Hydrolyse angegeben. Diese alle zeigen der Stärke ganz ähnliche Eigenschaften.

Die Hydrolyse wurde in jedem Falle den Eigenschaften der Stoffe entsprechend mit Säuren oder Laugen durchgeführt und die entstandenen Fraktionen durch Dialyse gereinigt. Die Dämpfung wurde bei verschiedenen Konzentrationen gemessen. Die Abbildungen veranschaulichen jene, bei denen sich das Maximum etwa auf die Hälfte verminderte.

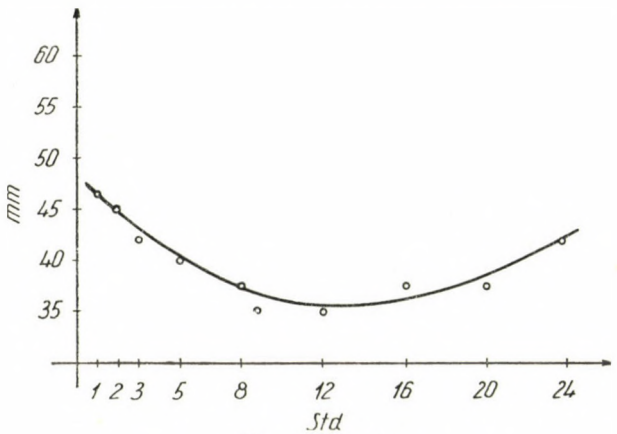


Abb. 6. Tragant

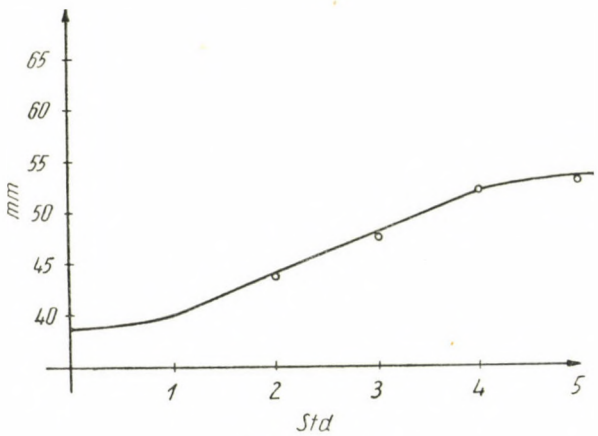


Abb. 7. Gelatine

Um diese Beobachtung auch praktisch anzuwenden, untersuchten wir einige Zellulosederivate, bei denen man annehmen konnte, dass sie ihre Molekülgrösse während der technologischen Aufarbeitung, bzw. durch ein späteres alkalisches Auflösen ändern. So wurde der Zusammenhang zwischen dem Maximadämpfungsvermögen und dem Polymerisationsgrad an regenerierter Zellulose verschiedener Polymerisationsgrade nach der Xanthogenierung geprüft. Das getrocknete Xanthogenat wurde zuerst mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen um die entstandenen störenden Neben-

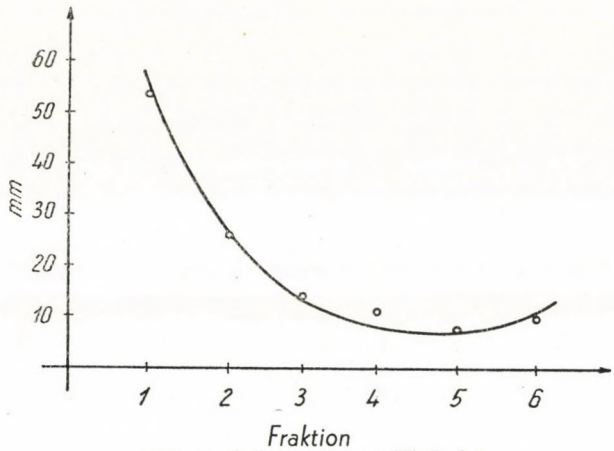


Abb. 8. Zellulose-Acetat-Phthalat

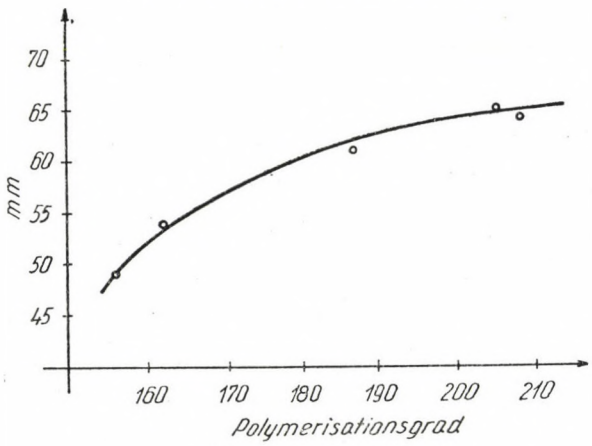


Abb. 9. Zellulose-Xanthogenat

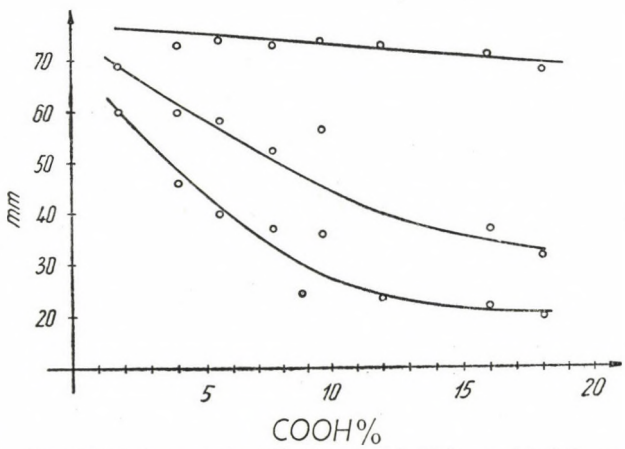


Abb. 10. Monocarboxyl-Zellulose, mit 1.) 120 γ, 2.) 180 γ, 3.) 240 γ Trockensubstanz

produkte zu beseitigen und dann in alkalischer Lösung polarographiert. Die Ergebnisse sind auf Abb. 9 dargestellt. Da die Molkonzentration bei gleichem Trockensubstanzgehalt mit der Erhöhung des Polymerisationsgrades abnimmt, ist es verständlich, dass die Kurve im Vergleich zu den oben erwähnten eine entgegengesetzte Form annimmt.

Die Kenntnis des Carboxylgehaltes der Carboxylzellulose ist gleichfalls von praktischer Bedeutung; die Bestimmung konnten wir ebenfalls mittels einer polarographischen Maximadämpfung ausarbeiten. Oxydieren wir nämlich die Zellulose auf dem bekannten Wege mittels Stickstoffdioxyd, so entsteht ausschliesslich an dem 6-ten Hydroxyl eine Carboxylgruppe. Die Alkaliempfindlichkeit ist dem Carboxylgehalt proportional; die Carboxylzellulose depoly-

Abb. 11

Abb. 12

merisiert in alkalischen Lösungen dem Carboxylgehalt entsprechend. Somit erwies sich die Molekülgrösse, die bei der Maximadämpfung eine Rolle spielt, als eine Funktion des Carboxylgehaltes. Der Zusammenhang bei verschiedenen Trockensubstanzkonzentrationen ist aus Abb. 10 ersichtlich. Um festzustellen, ob der Anfangspolymerisationsgrad des Musters die Messungen beeinflusst, unternahmen wir weitere Versuche. Muster verschiedener Polymerisationsgrade stellten wir auf einen annähernd gleichen Carboxylgehalt ein und prüften sodann viskosimetrisch und polarographisch die aus ihnen erhaltenen Lösungen. Die Ergebnisse zeigten, dass bei diesen Versuchen das Dämpfungsvermögen auf keinen Fall vom Anfangspolymerisationsgrad, sondern ausschliesslich vom Carboxylgehalt abhängig ist.

Ausserdem untersuchten wir noch Polyvinylalkohol. Es standen uns nur drei gut definierte Fraktionen von Molekulargewichten 11400, 25700 und 41000 zur Verfügung. Sie genügten jedoch um zu ersehen, dass die Tendenz der Dämpfung — wie in den schon oben besprochenen Fällen — auch diesmal die gleiche blieb.

ZUSAMMENFASSUNG

In unseren Versuchen wurde der Zusammenhang zwischen der Molekülgrösse bzw. Molkonzentration und der Maximadämpfung untersucht. Es wurde zwischen den beiden ein Zusammenhang festgestellt. Weitere Versuche auf diesem Gebiete haben zu entscheiden, ob dieses Verhalten eine Folge spezifischer Eigenschaften oder der absoluten Molekülgrösse ist. Wir erwarten von diesen Versuchen eine Antwort auf die Frage, ob die Methode zur Bestimmung der Molekülgrösse allgemein oder nur an einzelnen Stoffen gesondert anwendbar sei.

DISKUSSION

L. MOLNÁR: Wie aus dem Vortrag hervorging, haben sie sich nur mit der Dämpfung der Sauerstoffmaxima beschäftigt. Haben Sie keine Versuche mit Metallmaxima unternommen? An denen haben wir nämlich interessante Zusammenhänge beobachtet. Es ist zwar wahr, dass wir mit Stoffen anderen Charakters wie z. B. mit der Dämpfwirkung des Bienengiftes bei verschiedenen Metallsalzen, hauptsächlich bei den Salzen des Kobalts, z. B. mit der BRDIČKA-Lösung in ammonalkalischen Lösungen des Kobalt-Hexammins gearbeitet haben. Diese Versuche sollen auch auf weitere Verbindungen wie z. B. Aminosäuren und Eiweiss-Stoffe erweitert werden. Wahrscheinlich würden die diesbezüglichen Versuche auch für Sie interessante Beobachtungen liefern.

K. FUKKER: Wir untersuchten zwar die Sauerstoffmaximadämpfung von Eiweissen und Eiweissabbauprodukten ganz bis zu Aminosäuren, nicht aber die der Metallsalze. Wir untersuchten 10—15 verschiedene Aminosäuren, und beobachteten, dass sie der Stärke ähnlich wirkten, indem weder die Aminosäuren, noch die Endabbauprodukte der Stärke maximadämpfende Eigenschaften zeigten.

L. MOLNÁR: Wenn schon von Eiweissen und Aminosäuren die Rede ist, will ich erwähnen, dass wir nicht nur die Verminderung des Kobaltmaximums untersuchten, sondern auch die Erhöhung der Doppelstufe des Kobalts. Irregularitäten wurden nur bei den Eiweissprodukten beobachtet. Stärke wurde nicht untersucht, dort sind aber solche Unregelmässigkeiten nicht zu erwarten, da in dem oben erwähnten Falle eine Wirkung der Sulfhydrilgruppe die Rolle spielt.

P. ZUMAN: Ich hätte eine Frage. Haben Sie irgendwelche Änderung der Form der Kurve beobachtet? Wir haben nämlich erfahren, dass das übliche Sauerstoffmaximum sich abrundet, was auf andere Ursachen zurückzuführen ist (Abb. 11).

K. FUKKER: Die Änderung der Form tritt auch bei uns auf. Aber nicht als eine Funktion der Dekomposition, sondern als die der Konzentration. Bei steigender Trockensubstanzkonzentration rundet sich die Kurve auf die von Ihnen angedeutete Weise ab, sie erhält sogar in manchen Fällen die auf Abb. 12 dargestellte Form. Wir nahmen in diesen Fällen den Wert des grössten Grenzstromes in Berechnung. Die Erscheinung, dass sich die übliche Form der Kurve bei gleicher Trockensubstanzkonzentration parallel des Abbaugrades ändere, wurde nicht beobachtet.

INVESTIGATION OF HIGH MOLECULAR SUBSTANCES BY POLAROGR APHIC MAXIMA SUPPRESSION

I. Rusznák, K. Fukker and *I. Králik*

(Institute of Practical Chemistry, Technical University, Budapest, and Research Institute for the Textile Industry, Budapest)

Summary

The correlation of molecule size, on one hand, and mole concentration and maxima suppression, on the other, was studied by experiments. Further investigations are required in this field to ascertain whether this behaviour is due to the specific properties or to the absolute molecule size of the substance. Experiments in progress are expected to clear up whether the method is suited, in general, for the determination of molecule size or applicable only to certain substances.

Dozent Dr. István Rusznák Budapest, XI., Budafoki út 4—6.
Károly Fukker Budapest, XI., Ábel Jenő u. 15.
Iván Králik Budapest, X., Gyömrői út 86.

POLAROGRAPHISCHE BESTIMMUNG DER METHYLENBLAUZAHL AN HOCH CARBOXYLIERTEN REGENERIERTEN ZELLULOSEN MITTELS DER UNTERDRÜCKUNG DES SAUERSTOFFMAXIMUMS

I. Rusznák, I. Králik und K. Fukker

(Forschungsinstitut der Textilindustrie, Budapest und Institut für Praktische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

I. Theoretischer Teil

Das Intensitätsmaximum ist eine bekannte und häufig vorkommende Erscheinung der polarogrphischen Bestimmungen. Die Stromstärke beginnt bei einem bestimmten Potential den Diffusionstrom steil zu übersteigen und fällt erst nach Erreichung eines Maximums auf den normalen Grenzstrom zurück. Infolge des jähen und meist diskontinuierlichen Abbrechens des Stromes entsteht am Polarogramm ein gut ausgeprägtes Maximum. Es ist bekannt, dass u. a. Ca^{++}, Ni^{++}, Mn^{++} solche Maxima aufweisen und erst nach dem Abbrechen die zur quantitativen Bestimmung geeigneten Stufen ergeben. Zu Beginn der polarographischen Untersuchungen, als man vorwiegend nur die Stufen ermitteln wollte, trachtete man diese auswertungstörenden Erscheinungen zu vermeiden. Infolgedessen wurden die Maxima mit mannigfaltigen, hauptsächlich oberflächenaktiven Stoffen unterdrückt, ohne die Erscheinung selbst eingehender zu untersuchen. Erst anfangs der zwanziger Jahre waren es Heyrovský [1], später Ilkovič [2] und ihre Mitarbeiter, die die Aufmerksamkeit wieder auf das Problem lenkten, indem sie eine theoretische und mathematische Erklärung der Maxima gaben.

Seitdem entwickelten sich zahlreiche Anschauungen, die von Heyrovský gegebenen Erklärungen [3—6] teilweise unterstützend, teilweise widerlegend.

In unserer nachstehenden Arbeit trachteten wir auf keine exakte Erklärung der Maxima, einesteils weil diese elektrochemische Erscheinung auch heute noch nicht befriedigend erläutert ist, anderseits weil wir bei unseren Untersuchungen nur die analytischen Möglichkeiten ausnutzten, ungeachtet der Gründe, welche die Maxima verursachen.

Diesen Erwägungen zufolge suchten wir für unsere Versuche ein gut ausgeprägtes und reproduzierbares Maximum, dessen Unterdrückungen zwecks analytischer Auswertungen im Späteren geeignet wären. Es war an der Hand gelegen, das oft geprüfte Sauerstoffmaximum zu verwenden, welches in einer 1/1000 n KCl Grundlösung unseren Forderungen vollkommen entsprach. Somit waren auch die von Heyrovský gesetzten Grundbedingungen erfüllt, indem

die zur Untersuchung gelangende Sauerstoffkonzentration nicht viel niedriger lag, als die des Grundlösung bildenden KCl Elektrolytes.

Zur Maximaunterdrückung wurden — wie schon erwähnt — bisher zahlreiche, hauptsächlich oberflächenaktive Stoffe angewendet, u. a. Seifen, Gelatine, Tylose, usw. Die Erkennung, dass das Unterdrückungsvermögen dieser Stoffe in quantitativer Beziehung zu dem hinzugefügten oberflächenaktiven Mittel steht, führte zu weiteren ausgedehnten Untersuchungen, die erwiesen, dass auch gewisse Verbindungen makromolekularer Struktur ohne allgemeiner Oberflächenaktivität geeignet sind Maximaunterdrückungen hervorzurufen.

Auf Grund dieser früheren Arbeiten versuchten wir die Anwendbarkeit des Polarographen auf das textilchemische Gebiet zu erweitern, da ja die analytischen polarographischen Möglichkeiten in diesem Fach nur vereinzelt ausgenützt wurden, ganz zu schweigen von den Maximaunterdrückungen. Die Bedeutung dieses Gebietes wurde auch dadurch beträchtlich gehoben, dass zahlreiche klassische Bestimmungsmethoden auf grosse Schwierigkeiten stiessen, so u. a. die serienartige Schnellbestimmung des Reinheitsgrades der Farbstoffe und Textilhilfsmittel.

Unsere Versuche bestrebten daher in erster Linie die Ausarbeitung einzelner Farbstoffbestimmungsmethoden, da auch HEYROVSKÝ schon beachtenswerte Ergebnisse auf diesem Gebiete aufweisen konnte [7, 9]. Es wurde als Erstes das leicht herstellbare und für mikroskopische, resp. analytische Zwecke geeignete Methylenblau (Geigy) untersucht (M = 319,6).

Die ersten Eichkurven wurden mit einer 0,001 m Methylenblau-Lösung in 0,001 n KCl ermittelt. Es erwies sich, dass der pH-Wert keinen wesentlichen Einfluss auf die Kurven ausübte, um aber den Schwierigkeiten, die bei den späteren Untersuchungen auftraten, vorzubeugen, wurden weiterhin die Methylenblaulösungen mittels 0,2 n Essigsäure auf einen pH-Wert von 2,7 eingestellt.

Die schwach essigsauren Lösungen waren erforderlich, um die Wasserlöslichkeit der im Folgenden untersuchten, carboxylierten Zellulosen herabzusetzen. Hoch carboxylierte Muster erwiesen sich nämlich in neutralen oder alkalischen Medien als schwach löslich.

Um die verschiedenen Methylenblaukonzentrationen nach den Untersuchungen mit der 0,001 m Eichkurve vergleichen zu können, musste man vor der polarographischen Bestimmung verdünnen.

Um etwaige Fehler zu vermeiden, wurde probeweise eine 0,02 m Lösung in verschiedenem Masse verdünnt. Die ermittelten und errechneten Werte sind in Tabelle I zusammengefasst.

Es erwies sich, dass die Abweichungen sogar bei grossen Verdünnungen 1,5% nicht überschreiten. Somit waren die Grundlagen einer äusserst genauen Methylenblaubestimmung gelegt.

Tabelle I

Empfindlichkeit = 1/100

Verdünnung der 1/50m Lösung	Am Polarogramm ermittelte mm	An der Kalibrationskurve gemessene mm	Verwendete ml
7 × = 1/350 m	54,0	54,3	0,02
11 × = 1/550 m	71,5	71,0	0,02
14 × = 1/700 m	30,0	29,5	0,1
18 × = 1/900 m	35,0	34,5	0,1

Diese hervorragenden analytischen Eigenschaften boten dann Gelegenheit, die Untersuchungen sogleich auf die Bestimmung der Methylenblauzahl zu erweitern. Diese schon früher ausgearbeitete und oft erprobte Methode [10, 11] fand wegen ihrer grossen Unsicherheit, hauptsächlich bei hoch carboxylierten Zellulosen keine vollwertige Anwendung. Sie diente eher als Vergleichsbestimmung neben der Kupferzahl und dem Polymerisationsgrad. Die klassische Bestimmung wurde mit 0,004 m Lösungen bei einem Flottenverhältnis von 1 : 6, bei pH 2,7 oder 7 durchgeführt, wobei die Methylenblauzahl die durch 100 g Zellulose gebundene und in Millimol angegebene Farbstoffmenge bedeutete.

Später bewiesen DAVIDSON und NEVELL [12, 13], dass die Methylenblauzahl vom pH-Wert beeinflusst wird. Ihren pH-Funktionen zufolge schlugen sie Messungen in einer neutral gepufferten Lösung vor. Zugleich wurde auch der Einfluss der zur Pufferung verwendeten Kationen (K^+, Na^+) auf die Farbaufnahme geprüft. Das Ergebnis ihrer Untersuchungen brachte eine Methodik, die mit 0,1 millimolarer Methylenblaulösung bei einem gepufferten pH-Wert von annähernd 8 arbeitet. Anhand dieser Ergebnisse versuchten wir die oben angegebene Methodik zur Bestimmung hoch carboxylierter Viskosekunstseide zu verwenden, es zeigten sich jedoch schon bei den Vorversuchen Schwierigkeiten.

1. Carboxylierte Zellulose löst sich gewissermassen in Wasser bei einem pH-Wert 8, so dass das Sauerstoffmaximum auch ohne Methylenblauzugabe unterdrückt wurde.

2. Muster mit grösserem COOH-Gehalt erschöpften in wenigen Minuten die Flotte, indem sie den ganzen vorhandenen Farbstoff auszogen. Demzufolge ergaben sich vom COOH-Gehalt unabhängig annähernd gleiche, resp. nicht reproduzierbare Methylenblauwerte. Zur Erreichung eines Gleichgewichtes hätte man entweder mit sehr grossen Flotten oder minimalen Einwägungen arbeiten müssen. Abgesehen jedoch von den methodischen Schwierigkeiten, mussten diese Verfahren wegen ihrer Ungenauigkeit ausser Acht gelassen werden.

Nach Erwägung dieser Schwierigkeiten verzichteten wir auf die neutralen Lösungen und arbeiteten weiterhin mit 0,02 m, 0,2 n essigsauren Methylenblaulösungen bei einem pH 2,7.

Es ist unbestreitbar, dass in Einklang mit DAVIDSON und NEVELL's früheren Arbeiten der pH-Wert nach der Farbaufnahme sinkt und damit die Methylenblauzahl vom Gleichgewichts-pH abhängig wird. Um grösseren Fehlern vorzubeugen, wurde mit einer 18% carboxylierten Zellulose der pH-Wert während der Farbaufnahme mittels Glaselektrode kontrolliert. Es ergab sich, dass der Ausgangswert von 2,57 auf 2,04 sinkt. Vergleichen wir die Differenz mit dem DAVIDSON'schen Diagramm, so ist es ersichtlich, dass die koordinierten Methylenblauzahlen infolge der pH-Schwankungen nur um 1—1,5 Einheiten höher liegen.

Da jedoch in der Praxis die Untersuchungen meistens an weit niedriger carboxylierten Mustern durchgeführt werden, sinkt sogar die oben genannte Ungenauigkeit auf einen Bruchteil.

Es konnte weiterhin später bewiesen werden, dass sogar der starke Dissoziationsrücktritt der carboxylierten Zellulosen in sauren Lösungen keinen störenden Einfluss auf die stöchiometrische Bestimmung ausübt.

Schon früher erschienene Forschungsarbeiten [16] weisen auf die Tatsache, dass nämlich Methylenblau stark basische Kationen aus den Carboxylsalzen zu verdrängen imstande sei.

Somit waren auch die theoretischen Bedingungen für eine neue Methylenblauzahl-Bestimmungsmethode gelegt.

II. Experimenteller Teil

Die ersten polarographischen Bestimmungen gelangten nach der im I. Teil erwähnten klassischen Methode an 5%-iger, carboxylierter Viskosekunstfaser zur Durchführung. Wie schon erwähnt, reichten die Farbmengen der 0,004 m und im Flottenverhältnis 1 : 6 angewendeten Lösungen bei weitem nicht zur Entstehung eines Gleichgewichtes, indem die kurzen Flotten schon nach wenigen Minuten vollkommen erschöpft wurden. Da wir in Späterem Muster mit weitaus höherem COOH-Gehalt zu untersuchen hatten, mussten wir für unsere Versuche eine grössere Farbstoffmenge zum Ausziehen sichern. Dies geschah auf zwei Wegen: einesteils durch eine erhöhte Flotte, andererseits mit der Steigerung der Methylenblaukonzentration bei gleichbleibenden Flotten. Die Ergebnisse sind aus den Tabellen II, III und IV ersichtlich.

Aus Tabelle II ist das proportionelle Ansteigen der Methylenblauzahl mit dem Flottenverhältnis ersichtlich; erst nach Erreichung der Sättigung (1 : 480) gelangt man zu kleineren Differenzen. Zur Kontrolle wurden die Werte auch mit dem Pulfrich Stufenphotometer nachgeprüft. Die Ergebnisse standen mit den polarographischen in gutem Einklang.

Tabelle II

Muster	Flotte	Methylenblauzahl	
		mit dem Polarograph	mit dem Stufenphotometer
Mattierte (TiO_2) Viskosefaser COOH = 5% 1/250 m, pH = 2,7 nach 15 Stunden	1 : 15	6,67	5,81
	1 : 20	7,86	7,71
	1 : 30	11,17	11,85
	1 : 60	22,64	23,30
	1 : 120	44,90	47,10
	1 : 240	90,68	91,92
	1 : 480	171,40	166,80
	1 : 960	185,80	190,10

Da jedoch bei den Versuchen mattierte Kunstseidenfaser verwendet wurde, mussten die Ergebnisse auch an unbehandelten, nicht mattierten Fasern nachgeprüft werden (siehe Tab. III und IV).

Tabelle III

Muster	Flotte	Methylenblauzahl
Unmattierte Viskosefaser, Carboxyl-Gehalt 13,5%, 1/250 m, pH 2,7, nach 15 Stunden	1 : 15	5,63
	1 : 20	7,66
	1 : 30	11,62
	1 : 60	22,70
	1 : 240	77,50
	1 : 360	90,80
	1 : 480	101,20
	1 : 600	101,00
	1 : 720	100,30

Die Angaben der Tabellen II und III dürfen natürlich nicht gegenübergestellt werden, da sie mit grundverschiedenen Mustern erreicht wurden. Das proportionelle Ansteigen der Methylenblauzahl bis zur Sättigung (1 : 480) ist jedoch auch diesmal erwiesen. Das Gleiche ist aus Tabelle IV ersichtlich, wo bei konstantem Flottenverhältnis die Farbenkonzentration stufenweise erhöht wurde.

Die Werte bei 0,004 m stehen in gutem Übereinstimmen mit jenen aus Tabelle III, die aus dem Flottenverhältnis berechnet wurden. Das Gleichgewicht konnte abermals bei einer Methylenblauzahl von annähernd 100—101 erreicht werden.

Tabelle IV

Muster	Konzentration m	Methylenblauzahl	Umgerechnet aus Tabelle III auf ein Flottenverhältnis 1 : 100
Unmattierte Viskosefaser, Carboxyl-Gehalt 13,5%, Flotte 1 : 100, pH 2,7 nach 15 Stunden	1/25	101,1	
	1/40	99,5	
	1/60	95,8	
	1/75	82,5	1 : 15 1 : 20
	1/90	75,0	37,5 38,3
	1/100	58,5	1 : 30 1 : 50
	1/200	48,9	38,6 37,6
	1/250	37,5	
	1/400	25,0	
	1/500	20,8	

Um den Einfluss der Änderung des Flottenverhältnisses auch bei stark konzentrierten Farbstofflösungen zu prüfen, wurde derselbe Versuch mit 0,04 m Methylenblaulösungen wiederholt und somit annähernd an der Löslichkeitsgrenze des Methylenblaues gearbeitet. Die Ergebnisse sind in Tabelle V zusammengestellt und bestätigen eine gute Übereinstimmung mit den bisher durchgeführten Messungen.

Tabelle V

Muster	Flotte	Methylenblauzahl
Unmattierte Viskosefaser, Carboxyl-Gehalt 13,5%, 1/25 m, pH 2,7 nach 15 Stunden	1 · 15	54,0
	1 · 20	62,8
	1 · 30	88,5
	1 · 40	102,2
	1 · 100	101,6

Da jedoch das Serienarbeiten mit 0,04 m Lösungen wegen des langsamen Farbstoffausscheidens Schwierigkeiten verursachte, entschlossen wir uns bei den stöchiometrischen Bestimmungen für eine 0,02 m Konzentration.

Nach all diesen Ergebnissen erwarteten wir, dass die klassische Methode wenigstens bei schwach carboxylierten, bzw. nicht carboxylierten Mustern zu einer befriedigenden konstanten Gleichgewichtszahl führt. Deshalb wurden vollkommen unbehandelte rohe Viskosefasern (COOH-Gehalt 0%) wie unten stehend behandelt (Tabelle VI). Es wurden Höchstwerte von Methylenblauzahlen 1—3 erwartet, was jedoch die Messergebnisse nicht bestätigten.

Tabelle VI

Muster	Flotte	Methylenblauzahl
Unbehandeltes Muster, 1/250 m, pH 2,7 nach 15 Stunden	1 : 15	1,50
	1 : 30	1,95
	1 : 60	3,85
	1 : 120	7,75
	1 : 600	27,0
	1 : 720	27,0

Da jedoch bei nicht carboxylierten Zellulosen chemosorptive Kräfte die Farbstoffaufnahme nicht beeinflussen, muss die anwachsende Methylenblauzahl dem adsorptiven Verlauf zugeschrieben werden, der ebenfalls einem Gleichgewichtswert zustrebt.

Es erwies sich somit, dass bei den carboxylierten Zellulosen die Methylenblauzahl durch zwei Komponente :

a) die chemosorptiven und

b) die adsorptiven

beeinflusst wird.

Erstere werden ausschliesslich von der stöchiometrischen Reaktion und somit vom prozentuellen COOH-Gehalt gelenkt. An zweiter Stelle stehen die adsorptiven Faktoren, welche Funktionen der Versuchsbedingungen sind. Nur wenn beide ihr Maximum bzw. Gleichgewicht erreichen, kann aus der Gesamtzahl durch Subtrahieren des Adsorptionswertes die stöchiometrische Methylenblauzahl ermittelt werden. Hierzu müsste man jedoch den absoluten Zahlenwert der Adsorption jederzeit kennen. Ihn zu bestimmen war im Folgenden unser Ziel.

Um ausserdem die weiteren Serienanalysen zu verkürzen, trachteten wir die 15 Stunden dauernden Reaktionen zu beschleunigen. Es erwies sich, dass mit 0,02 m Lösungen und in einer Flotte von 1 : 100 arbeitend, diese Zeit durch Schütteln wesentlich herabgesetzt werden kann. Nach vier Stunden erreichten auch die hochcarboxylierten Muster das Gleichgewicht und es konnte keine weitere Farbstoffaufnahme beobachtet werden. Die DAVIDSON'sche Methode brauchte hingegen in einer 0,002 m Lösung zu einem Muster von einer 20-gen Methylenblauzahl 18 Stunden. Die Vorschriften von CLIBBENS und GEAKE [14] wiederum ergaben bei unseren Versuchen für einen COOH-Gehalt von 18% nach 24stündigem Stehen ohne zu Schütteln nur 85—90% des maximalen Wertes.

In den nachstehenden Versuchen wurde somit jedesmal in 0,02 m Lösungen, 1 : 100, 4 Stunden geschüttelt und nach Entfernung des Musters, polarographiert. Um, wie schon erwähnt, den Adsorptionswert unter solchen Versuchs-

bedingungen zu ermitteln, wählten wir Muster mit verschiedenem COOH Gehalt. Zugleich wurde auch der Carboxylgehalt mit der Ca-Acetat-Methode bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle VII angeführt.

Tabelle VII

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
Carboxylgehalt %	Methylenblauzahl (Mbz) gemessen am Polarograph	Mbz reduziert	Carboxyl, berechnet	Mbz stöchiometrisch berechnet	
				aus I.	aus IV.
12,6	90	85,1	12,2	93,5	90,5
9,7	72,5	68,6	9,7	72,0	72,0
6,8	54,0	49,1	7,0	50,5	51,3
3,8	34,0	29,1	4,1	28,1	30,3
1,0	11,9	7,0	1,0	7,4	7,4
		$x = 4{,}9$			

In der ersten Spalte sind die mit der Ca-Acetat-Methode ermittelten COOH %, in der zweiten die am Polarographen gemessenen Methylenblauzahlen angeführt. Letztere sind ihrem COOH Gehalt nicht proportionell. Nur nach Subtraktion des vorläufig unbestimmten Adsorptionswertes könnte man auf den quantitativen Zusammenhang beider Mengen Schlüsse ziehen. Um diesen unbestimmten Faktor zu ermitteln, wurden mathematische und chemische Wege gesucht.

Mathematisch konnte der Adsorptionswert aus zwei beliebigen Messergebnissen berechnet werden, indem wir in der unten stehenden Gleichung jene Zahl suchten, deren Subtraktion die COOH Proportionalität erfüllt. Z. B. für 1 und 9,7% COOH

$$\frac{72{,}5 - x}{11{,}9 - x} = \frac{9{,}7}{1{,}0} \quad x = 4{,}9 \, .$$

Es ergibt sich, dass dieser Wert bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen nahezu konstant ist und in der oben angegebenen Tabelle zwischen 4,7—5,3 schwankt.

Stellt man nun jetzt die rein chemosorptiven, reduzierten Methylenblauzahlen (Spalte III) dem COOH Gehalt gegenüber, so ergibt sich eine strenge Proportionalität. Die so errechneten COOH Werte (Spalte IV) stehen in gutem Einklang mit jenen der Ca-Acetat-Methode. Somit kann die Methylenblauzahl mit Abzug der Konstante zur direkten COOH Bestimmung herangezogen werden. Zu den, in Spalten V und VI stehenden stöchiometrischen Werten wird später noch Stellung genommen.

Im Weiteren wurden mittels der NO_2-Methode oxydierte Viscose-Muster zur Untersuchung herangezogen, welche einen Carboxylgehalt von 0,5—22% aufwiesen.

Für die Kontrollmessungen blieben wir bei der Ca-Acetat-Methode, da diese, trotz ihren Fehlerquellen [19] von YACKEL und KENYON [16, 17], sowie HAYMAN und RABINOV [18] zur Erlangung annähernder Ergebnisse wesentlich verbessert wurde. Die so erhaltenen weiteren Methylenblauzahlen sind in Tabelle VIII zusammengefasst.

Tabelle VIII

COOH Ca-acetat	Polarographische Methylenblauzahl	Reduzierte Methylenblauzahl	COOH, aus der reduzierten Mbz berechnet
0,5%	7,9	3,0	0,41% unbehandelt
3,6%	31,18	26,18	3,73%
3,6%	30,78	25,78	3,68%
11,1%	76,92	72,02	10,29%
14,2%	103,6	98,70	14,10%
16,1%	125,2	120,20	17,17%
20—22%	162,0	157,1	22,4 %

Zur Bestätigung des zwischen 4,7—5,3 schwankenden Adsorptionswertes wurde noch ein anderer Weg eingeschlagen. Nach Entfernen des Musters wurde durch Gewichtsmessung der hinterlassenen Flotte das auf dem feuchten Muster gebliebene Volumen ermittelt. Das Muster wurde sodann mit einer essigsauren wässrigen Lösung (pH = 2,7) erst kalt, dann heiss (90°) bis zum Aufhören des Blutens gespült. In den kalten und warmen Spülwässern wurde sodann die Methylenblauzahl bestimmt. Es ergab sich, dass die abgespülte Farbstoffmenge auf die Methylenblauzahl berechnet kalt zwischen 5—6, bzw. warm zwischen 0,1—0,2 schwankte.

Somit ergab sich, dass die kalt adsorptiv haftende Farbstoffmenge nahezu vollkommen abgespült werden kann, weiterhin, dass diese Menge auf die Methylenblauzahl umgerechnet in gutem Einklang mit dem schon früher mathematisch bestimmten 4,9 Durchschnittswert steht.

Die einzelnen Ergebnisse sind in Tabelle IX veranschaulicht.

Es muss natürlich in Betracht gezogen werden, dass die hier ausser Acht gelassenen verschiedenen spezifischen Gewichte der erschöpften Methylenblaulösungen, weiterhin die grossen Spülmengen unvermeidliche methodische Ungenauigkeiten bei den Messungen verursachten. Die soeben besprochenen Gewichtsbestimmungen können also nur zur annähernden Kontrolle herangezogen werden. Trotz alledem weisen die in Tabelle IX angeführten Werte mit der schon früher mathematisch ermittelten Adsorptionskonstante eine gute Übereinstimmung auf.

Sind die oben erläuterten Behauptungen richtig, so kann auch zu den in Tabellen VII, VIII und IX stöchiometrisch errechneten Werten Stellung

Tabelle IX

A. COOH % Ca-acetat	1,5—2	1,5—2	3,6
B. Polarographische Methylenblauzahl	17,25	17,33	31,18
C. Reduzierte Methylenblauzahl	12,35	12,43	26,28
D. COOH % aus der reduzierten Methylenblauzahl [C/7]	1,76	1,78	3,75
E. Methylenblauzahl aus der Gewichtsbestimmung	16,6	16,45	—
F. Reduzierte Methylenblauzahl (E—4,9)	11,7	11,55	—
G. COOH % aus der Gewichtsbestimmung reduzierter Methylenblauzahl [F/7]	1,67	1,65	—
H. Kalt abgespülte Methylenblauzahl (pH = 2,7)	5,90	5,78	5,40
I, Methylenblauzahl nach dem Spülen (B—H)	11,5	11,55	25,78
J. COOH % nach dem Spülen	1,64	1,65	3,68

genommen werden. Es wurden deshalb auf Grund des COOH-Gehaltes die stöchiometrischen Methylenblauzahlen ermittelt. Hierzu wurde das Methylenblau als dreibasisch (2 Mol Methylenblau bindet 3 Mol Oxalsäure) und das Molgewicht der Carboxylgruppe für 45 betrachtet.

Die Berechnungen gestalten sich z. B. für einen 12,6%-igen Carboxylgehalt folgendermassen:

$$3 \times 45 \text{ g Carboxylgruppen binden 1 M Methylenblau}$$

$$12{,}6 \text{ g Carboxylgruppen binden } \frac{12{,}6 \text{ M}}{135} \text{ Methylenblau.}$$

Da jedoch die Methylenblauzahl die auf 100 g Zellulose berechnete und in Millimol angegebene Farbstoffmenge bedeutet, ist

$$\text{die Methylenblauzahl} = \frac{12{,}6\text{M}}{135 \cdot \text{M}/1000} = 93{,}5\,.$$

So konnten in den Tabellen die aus dem Carboxylgehalt zu erwartenden Methylenblauzahlen schon vor der polarographischen Bestimmung ermittelt werden.

Im Weiteren wurde natürlich die Methode zur Bestimmung des COOH %-Gehaltes angewendet, da sich dieser nach der Subtraktion des nahezu konstanten Adsorptionswertes aus der reduzierten Methylenblauzahl sofort ergibt.

Es erwies sich (Tabelle VII), dass bei hohem Carboxylgehalt der Adsorptionswert vernachlässigt werden kann, da in diesen Fällen die effektiv mittels des Polarographen gemessenen Werte mit den stöchiometrischen Berechnungen übereinstimmten. Je niedriger hingegen der Carboxylgehalt des geprüften Musters ist, desto bemerkbarer gestaltet sich der Adsorptionswert. Dies ist bei schwach carboxylierten Zellulosen aus der Übereinstimmung der stöchiometrischen und reduzierten Werte ersichtlich.

Die aus den Tabellen VII—VIII polarographisch bestimmten Werte sind in Tabelle X zusammengefasst.

Tabelle X

Methylenblauzahl polarographisch bestimmt	COOH bestimmt mit der Calciumacetat-methode	COOH berechnet stöchiometrisch aus der Mbz
7,9	0,5	0,41
11,9	1,0	1,00
31,0	3,6	3,70
34,0	3,8	4,10
54,0	6,8	7,00
72,0	9,7	9,70
90,0	12,6	12,20
103,6	14,2	14,10
125,2	16,1	17,17
162,0	20,22	22,40

Die hier angeführten Betrachtungen können gewissermassen die Gegensätze bei den früheren Methylenblauzahl-Bestimmungen erklären. Da nämlich vor dem Bekanntwerden der NO_2-Methode durchwegs Muster mit kleinem COOH-Gehalt in der Praxis zur Analyse kamen, trachtete man, ungeachtet des chemosorptiven Charakters der Reaktionen, die Bestimmungen in kurzen Flotten durchzuführen. Somit hoffte man eine reine basische Farbstoffaffinität zu erfassen. Als es jedoch zur Untersuchung der hochcarboxylierten Zellulosen kam, erwies sich, dass weder das Flottenverhältnis, noch die Farbstoffkonzentration ausreichend ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Unser Arbeitsziel war:

1. Die einwandfreie Bestimmung der Methylenblauzahl an hoch carboxylierten Zellulosen.

2. Die Bestimmung des stöchiometrischen Zusammenhanges zwischen der polarographisch ermittelten Methylenblauzahl und dem COOH-Gehalt.

3. Die Ausarbeitung einer polarographischen Methylenblauzahl-Bestimmungsmethode.

Es konnte festgestellt werden, dass die bisher angewendeten 0,004 m Konzentrationen und Flottenverhältnisse von 1 : 6 schon bei mittelmässig carboxylierten Zellulosen wegen ungenügender Farbstoffmenge unzureichend sind. Einwandfreie Ergebnisse wurden mit 0,02 m und 1 : 100 erreicht.

Die so modifizierten Serienanalysen ergaben einen exakten Zusammenhang zwischen der Methylenblauzahl und dem COOH-Gehalt. Nach Subtraktion des Adsorptionswertes kann aus der reduzierten Methylenblauzahl durch dividieren mit 7 (entspricht einem COOH-Gehalt von 1%) der prozentuelle COOH-Gehalt angegeben werden.

Die Methylenblaukonzentrationen konnten mittels der polarographischen Sauerstoffunterdrückungsmethode äusserst genau bestimmt werden.

Unsere Versuche wurden mit NO_2 oxidierten Viscose-Kunstfasern durchgeführt.

LITERATUR

1. N. V. Emelianova und J. Heyrovský: Trans. Faraday Soc. **24**, 257 (1928).
2. D. Ilkovič: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **8**, 13 (1936).
3. H. J. Antweiler: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 831, 888 (1938).
4. M. v. Stackelberg, H. J. Antweiler und L. Kieselbach: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 663 (1938).
5. A. Frumkin und B. Bruns: Acta Physicochim. URSS **1**, 232 (1934).
6. B. Bruns, A. Frumkin, L. Vanyukova und Z. A. I. Ofa: Acta Physicochim. URSS **9**, 359 (1938).
7. J. Heyrovský: Polarographie, theoretische Grundlagen, praktische Ausführung und Anwendungen der Elektrolyse mit der tropfenden Quecksilberelektrode (Springer-Verlag, Wien) 1941, S. 159—184.
8. M. v. Stackelberg: Polarographische Arbeitsmethoden (Walter de Gruyter & Co., Berlin) 1950, S. 356—362.
9. J. Heyrovský: Polarographisches Praktikum. Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis. (Zintl-Brill Sammlung Bb. IV., Springer Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg) 1948, S. 77—79.
10. D. A. Clibbens und A. Geake: J. Textile Inst. **17**, I. 127 (1926).
11. O. H. Weber: J. prakt. Chem. **158**, 33 (1941).
12. G. F. Davidson: J. Textile Inst. Trans. **39**, 165 (1948).
13. G. F. Davidson und T. P. Nevell: J. Textile Inst. Trans. **39**, 159 (1948).
14. D.A Clibbens und A. Geake: J. Textile Inst. **17**, I. 126 (1926).
15. M. Lüdtke: Angew. Chem. **48**, 650 (1935).
16. E. C. Yackel and W. O. Kenyon: J. Amer. Chem. Soc. **64**, 121 (1942).
17. C. C. Unruh and W. O. Kenyon: J. Amer. Chem. Soc. **64**, 127 (1942).
18. E. Haymann and G. Rabinov: Trans. Faraday Soc. **38**, 209 (1942).
19. G. F. Davidson und T. P. Nevell: J. Textile Inst. Trans. **39**, 102 (1948).
20. K. Venkataraman: The Chemistry of Synthetic Dyes. Vol. V, 792.

DISKUSSION

P. Zuman: Warum haben Sie in ihren Messungen nicht die gut definierte Reduktions-Stufe des Methylenblaues benützt, und warum haben Sie die weniger sichere und ermüdende Methode der Maximadämpfung gewählt? Wir arbeiten nämlich bei unseren Untersuchungen womöglich mit der Bestimmung der Stufenhöhen.

I. KRÁLIK : Bei Carboxylzellulosen konnten wir leider die vorgeschlagene Methode nicht anwenden, da die anwesende Carboxylzellulose die Reduktions-Stufe des Methylenblaues so verzerrte, dass sie zur Auswertung ungeeignet wurde.

P. ZUMAN : So haben Sie richtig gearbeitet. Noch eine Frage. Untersuchten Sie ausser den Sauerstoff-Maxima auch die der anderen Kationen?

I. KRÁLIK : Wir befassten uns mit der näheren Untersuchung anderer Maxima nicht, da wir bei den an Carboxylzellulose angestellten Untersuchungen beobachteten, dass zwischen dem Kation und der COOH-Gruppe eine Salzbindung entstand.

P. ZUMAN : Tatsächlich besteht hier diese Gefahr. Ich danke für die Antwort.

K. LINDNER : Wir haben den Vortrag über das Maximadämpfungsvermögen des Methylenblaues mit grossem Interesse angehört, umsomehr als wir bei unseren Eiweissforschungen die Methylenblau-, sowie auch andere Farbstoffbindungsfähigkeiten der einzelnen Eiweiss-Stoffe untersuchen wollen. Die angeführten Tatsachen werden wir auch bei unserer Forschung anwenden.

POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF THE METHYLENEBLUE NUMBER OF REGENERATED CELLULOSES OF HIGH CARBOXYL CONTENT, BY THE SUPPRESSION OF OXYGEN MAXIMA

I. Rusznák, I. Králik and *K. Fukker*

(Research Institute for the Textile Industry, Budapest and Institute of Practical Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

Investigations have aimed at: 1) an unambiguous determination of the methyleneblue number in cellulose samples of high carboxyl content, 2) establishing the stoichiometric correlation of methyleneblue number and carboxyl content, and 3) evolving a polarographic method for the determination of the methyleneblue number.

It was found that with samples of a medium carboxyl content no reproducible results are obtained when using a 1/250 *M* concentration of methyleneblue applied so far and a liquor ratio 1 : 6, since the quantity of methyleneblue is below that required for the reaction. A concentration of 1/50 *M* and a liquor ratio of 1 : 100 proved to secure reliable results.

The method of determination thus modified yielded a stoichiometric correlation between the methyleneblue number and carboxyl content of the samples. The percentage of carboxyl content is directly obtained when dividing by 7 (corresponding to the carboxyl content of 1%) the methyleneblue number reduced by the value of adsorption.

In the course of the experiments the concentration of the methyleneblue solutions was determined with high accuracy by polarography, by the method of suppressing oxygen maxima.

Samples of regenerated cellulose oxidized by nitrogen dioxyde were used in the tests.

Dozent Dr. István RUSZNÁK Budapest, XI. Budafoki út 4—6.
Iván KRÁLIK Budapest, X. Gyömrői út 86.
Károly FUKKER Budapest, XI. Ábel Jenő u. 15.

ALLGEMEINES ÜBER OSZILLOGRAPHISCHE POLAROGRAPHIE

J. HEYROVSKÝ

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Die Erhöhung der Empfindlichkeit der Kathodenstrahl-Oszillographen erweckte das Interesse der Polarographisten, da ein moderner Oszillograph als ein hochempfindliches Galvanometer und auch als ein Voltmeter für polarographische Zwecke dienen kann. Überdies zeigt sich am Leuchtschirm eines Oszillographen die Abhängigkeit des Stromes von der Spannung als ein Diagramm, in

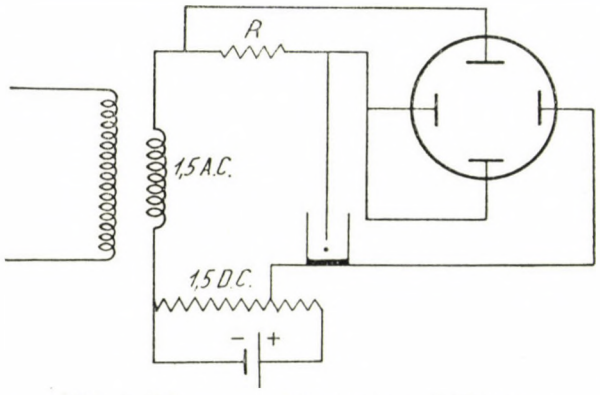


Abb. 1. Schema von MATHESON und NICHOLS
A. C. = Wechselstrom, D. C. = Gleichstrom, Spannung in Volt

dem die Abszisse die Spannung und die Ordinate den Strom anzeigen. Da die älteren Oszillographen nur schnell wechselnde Spannungen zu verstärken vermochten, musste an die Quecksilberelektroden die Netzwechselspannung angelegt werden, um die Verstärkung zu ermöglichen. Auf diese Weise konnten MATHESON und NICHOLS [1] zuerst am Leuchtschirm Stromspannungskurven veranschaulichen. Zum Unterschied von den polarographischen Kurven sind die oszillographischen in 1/50 oder 1/60 sec fertig und sind deswegen mit einem sehr grossen Ladungsstrom belastet. Der Ladungs- oder Kapazitätsstrom ist nämlich durch $i_c = \frac{dQ}{dt}$ gegeben, wo die Elektrizitätsmenge $Q = C.V$ ist (C ist die Kapazität des Quecksilbertropfens und V sein Potential). Da $C = 0{,}3$

μ F, $dV = 2$ V und $dt = 0{,}01$ sec sind, ist $i_c = 0{,}3 \cdot 10^{-6} \cdot 200 = 0{,}6 \cdot 10^{-4}$ A, also beinahe 100 μ A. Dieser Strom ist also bedeutend grösser als der elektrolytische Strom eines Depolarisators in millimolarer Konzentration, und die beiden Ströme superponieren sich, so dass man die zwei Komponenten nicht unterscheiden kann.

Um diesen Mangel zu beseitigen, musste man in der Oszillographie mit angelegter Wechselspannung die Steigerung des Potentials ziemlich verlangsamen, so dass die Erhöhung der Spannung um ein Volt in 3 bis 4 sec erfolgt. RANDLES und AIREY [2], die den sogenannten »*Cathode ray*« Polarographen entwarfen, benutzen eine sehr langsam — 4 bis 8 Sekunden lange — tropfende Kapillare und einen fluoreszierenden Schirm mit langem Nachleuchten. Binnen

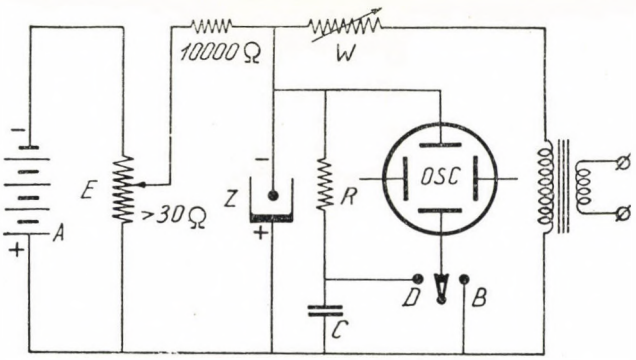


Abb. 2. Schema von HEYROVSKÝ und FOREJT

den ersten 5 Sekunden wird eine konstante Spannung, die unter der Zersetzungsspannung des zu bestimmenden Depolarisators, z. B. bei Cd^{2+} in Chloridlösung bei —0,5 V liegt, angelegt, ohne den Schirm zu beleuchten. Dabei entsteht ein Strom, der aus dem ziemlich grossen Ladungsstrom des schnell anwachsenden Tropfens und dem Diffusionsstrom der edleren Depolarisatoren, wie Hg^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}-Ionen besteht. Dann setzt der Kathodenstrahl ein und zugleich vergrössert sich die Spannung regelmässig von —0,5 zu —1,0 V, was in 2 Sekunden erreicht wird. Die Stromspannungskurve zeichnet sich in der Form einer Spitze (»*peak*«), deren Höhe (Abb. 3) die Konzentration des Depolarisators angibt. Prinzipiell können derartige Kurven auch mit einem Galvanometer erhalten werden, der Kathodenstrahloszillograph spielt dabei keine wesentliche Rolle. Das neue ist, dass die Stromspannungskurve an einem einzigen Tropfen mit langer Tropfzeit erfolgt. Die quantitativen Bestimmungen werden schwierig, wenn sich die Spitzen von zwei oder mehreren Depolarisatoren teilweise überdecken (wie z. B. bei Pb^{2+} und Cd^{2+}-Ionen).

Die Bedingungen, unter welchen diese Potential-Zeit-Kurven entstehen, sind sehr nahe denen der gewöhnlichen Polarographie, und deswegen kommen bei

dieser Oszillographie keine neuen Erscheinungen zum Vorschein. Die experimentelle Anordnung nützt die Vorteile des Kathodenstrahl-Oszillographen nicht aus.

Um dem unbequemen Ladungsstrom auszuweichen und nur die Änderungen der Polarisation, also des Potentials V der polarisierbaren Elektrode inner-

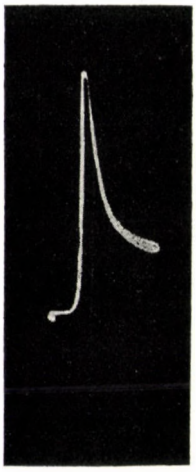


Abb. 3. Eine Spitze *(Peak)* der Stromspannungskurve von 0,001m $CdCl_2$ in 0,1n HCl

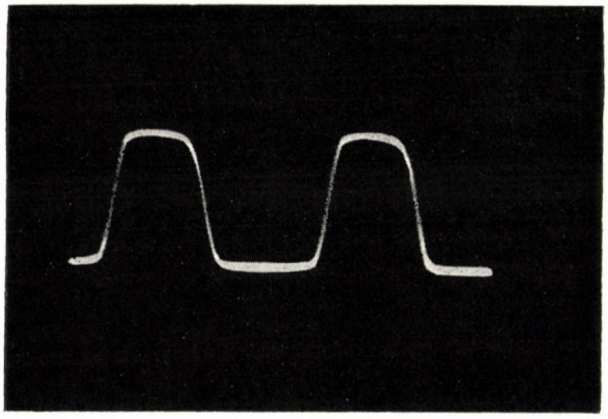


Abb. 4. Potential-Zeit-Kurve $(V = f(t))$ der leeren elektrolytischen Lösung (1n KCl)

halb der kurzen Zeitintervallen der hohen Frequenzen messen zu können, fing ich mit FOREJT im Jahre 1941 an [3], die Potential-Zeit-Kurven *(V-t)* mit dem Kathodenstrahl-Oszillographen zu studieren. Dabei wird der grosse Vorteil dieses Instrumentes ausgenützt, nämlich die Zeitbase, die an der Abszisse die Zeit sehr genau angibt. Der Unterschied zwischen den polarographischen und den früheren oszillographischen Verfahren liegt darin, dass nicht eine gewählte

äussere Spannung angelegt und dabei der Strom bestimmt wird, sondern dass wir in die elektrolytische Zelle einen bestimmten Strom einführen, um die Spannung der polarisierbaren Elektrode zu messen. Die Methode der angelegten Spannung eignet sich für die Polarographie (mit dem Galvanometer), die Methode des erzwungenenStromes dagegen kann nur durch den Kathodenstrahl-Oszillographen erforscht werden. Nur in der letzten Anordnung zeigen sich neue Erscheinungen reichlich.

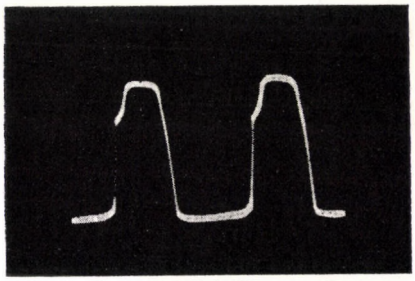


Abb. 5. Potential-Zeit-Kurve einer ammoniakalischen Lösung von 0,001m $MnCl_2$; es entsteht nur der kathodische Knick (vollständige Irreversibilität)

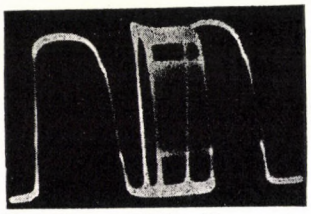


Abb. 6. Potential-Zeit-Kurve einer verdünnten Messinglösung in 1n NH_3 und das entsprechende oszillographische Spektrum

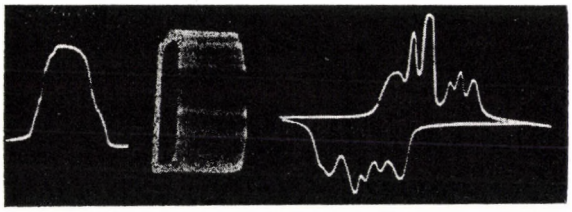


Abb. 7. Links die Potential-Zeit-Kurve, in der Mitte das entsprechende oszillographische Spektrum, rechts die Ableitungs-Zeit-Kurve einer ammoniakalischen Lösung mit Kationen Tl^+, Cd^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}

Die Methode der polarographischen Oszillographie besteht im schnellen Aufladen und Entladen der tropfenden Quecksilberelektrode mit gewöhnlichem Wechselstrom (von 50 Hz und 110 oder 220 V Spannung) und im Verfolgen der Potentialänderungen der polarisierbaren (tropfenden) Elektrode bei Abwesenheit und Anwesenheit von Depolarisatoren (Abb. 7). Die Änderungen des Potentials pflegt man an der Ordinate des fluoreszierenden Schirms eines Kathodenstrahl-Oszillographen zu veranschaulichen, während die Abszisse die Zeitbase bezeichnet.

Bei Anwesenheit von Depolarisatoren entstehen bei entsprechenden Potentialen, die den polarographischen Halbstufenpotentialen nahe liegen, Knicke, und zwar sowohl am aufsteigenden (kathodischen) wie auch am absteigenden

(anodischen) Ast der Potential-Zeit-Kurve. Am aufsteigenden Ast ist nämlich die tropfende Elektrode die Kathode, d. h. der positive Strom fliesst von der Lösung in die Elektrode und am absteigenden Ast fliesst er umgekehrt, d. h. aus der Elektrode in die Lösung.

Die zweite Elektrode ist durch die am Boden des Gefässes ruhende Quecksilberschicht gebildet; ihr Potential bleibt während des Wechselstromdurchganges unverändert, weshalb sie als unpolarisierbar betrachtet wird. Mit einer

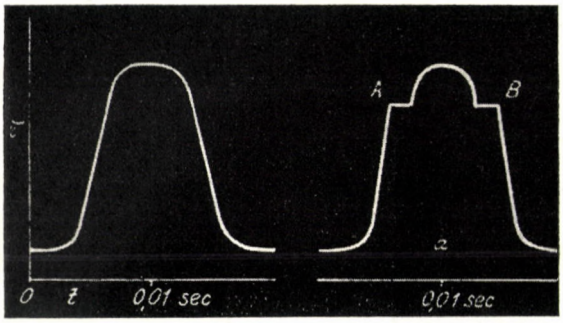


Abb. 8. Kapazitätseffekt: Potential-Zeit-Kurve links von reinem 1m KOH, rechts nach Zugabe von 1% Pyridin

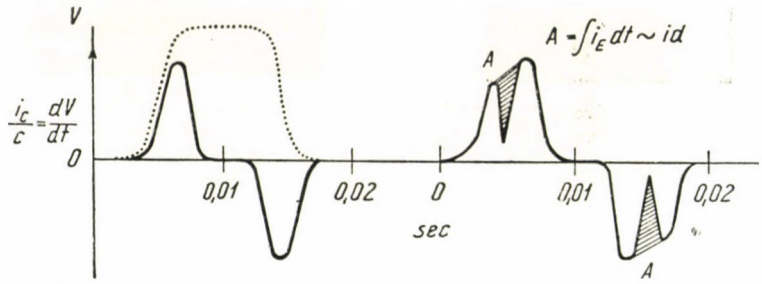


Abb. 9. Potential-Zeit-Kurve von 1m KOH, $V = f(t)$, punktiert; deren Ableitungskurve $\frac{dV}{dt} = f(t)$ links. Nach Zugabe von Pb^{2+}-Ionen (zu 0,001m), Kurve rechts

äusseren konstanten Spannung wird der tropfenden Elektrode ein im Vergleich mit ihrem Ruhepotential negativeres Potential erteilt, so dass sie durch den Wechselstrom symmetrisch im ganzen Bereich ihrer Polarisierbarkeit, d. h. zwischen dem Potential der Kalomelelektrode, also bei 0 V und −2 V geladen wird.

Damit der Wechselstrom unabhängig von den elektrolytischen Vorgängen der Zelle mit konstanter Amplitude verläuft, wählt man die Spannung womöglich hoch (220 V) und regelt den Widerstand W zu ungefähr 200 000 Ohm, so dass der durch die Zelle fliessende Strom ungefähr 1 mA erreicht.

Als erstes Ergebnis dieser Messungen konnte die Reversibilität von der Irreversibilität scharf unterschieden und dabei die Depolarisatoren qualitativ bestimmt werden. Diese Bestimmungen sind spezifischer als die gewöhnlichen polarographischen Halbstufenpotentiale, da sie sowohl einen kathodischen Wert als auch einen gesonderten anodischen Wert liefern. Wenn man die Zeitbase über 100 000 Hz steigert, nimmt das leuchtende Diagramm die Form eines Spektralbandes an, an dessen hellem Hintergrunde die leuchtenden Verzögerungen der Depolarisatoren in Linien ausgestreckt werden. Durch diese Vorrichtung erreicht die Empfindlichkeit betreffend der Depolarisatoren 10^{-4} Mol pro Liter [9].

Die Gestalt der Potential-Zeit-Kurve *(V-t)* wird von der *i-t* Kurve des Sinuswechselstromes abgeleitet. Der Strom *i* ladet nämlich den Helmholtzschen

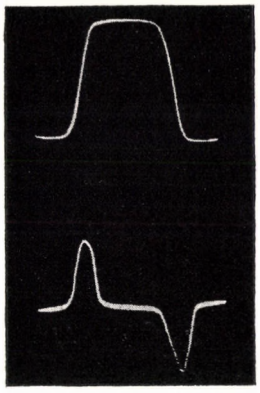


Abb. 10. »Primitive Kurve« d. i. Potential-Zeit-Kurve (oben) und deren Ableitung $\frac{dV}{dt} = f'(t)$ (unten) einer 1n KOH Lösung

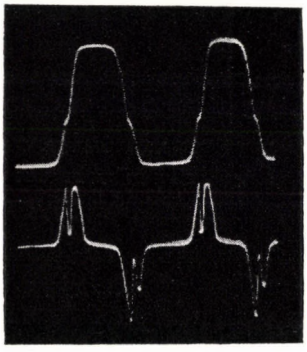


Abb. 11. Oben »primitive Kurve«, unten ihre Ableitungs-Zeit-Kurve in einer 0,001 n $CdCl_2$ Lösung mit 1n KCl

Doppelschichtkondensatoren von der Kapazität *C* zum Potential *V* durch die Ladung Q auf. Wir haben also $i = \frac{dQ}{dt} = C\frac{dV}{dt} = \frac{E}{R}\sin \omega t$, woraus $V = -\frac{E}{RC\omega}\cos \omega t$ folgt. Man bemerke, dass das Potential *V* der Kapazität *C* indirekt proportional ist (4). Bei Verminderung der Kapazität, die durch Adsorption von oberflächenaktiven Stoffen verursacht wird, erscheint die Kurve höher. Es kommt vor, dass bei einem gewissen Potential (Dichte der Ladung) die adsorbierte Schicht (oder der Film) plötzlich desorbiert wird, wodurch sich die Kapazität vergrössert ; dann geht die höhere Kosinusoide in eine niedrigere über, was zu einer eigenartigen Gestalt der Kurve führt. Eine bemerkenswerte Erscheinung beim Verhalten der Depolarisatoren in Anwesenheit von adsorbierten Filmen ist ihre bremsende Wirkung bei Vorgängen, die mehr als ein Elektron pro Atom annehmen. Ein z. B. aus Pyridin, höheren Alkoholen oder Gelatine bestehender Film verhindert die Auscheidung von Pb^{2+}, Cd^{2+} oder In^{3+}, nicht aber von

Tl^+-Ionen. Deformierbare Anionen wie Br^-, J^-, CNS^-, beschleunigen die Metallausscheidung [5].

Um die Empfindlichkeit noch weiter zu steigern und dabei die Abhängigkeit des Potentials von der Zeit in Einzelheiten kennen zu lernen, wurde die Ableitung der V-t-Funktion, also $\frac{dV}{dt}$ —t am luminiszierenden Schirm veranschaulicht. Diese Ableitung erhält man, wenn ein verhältnismässig kleiner Wider-

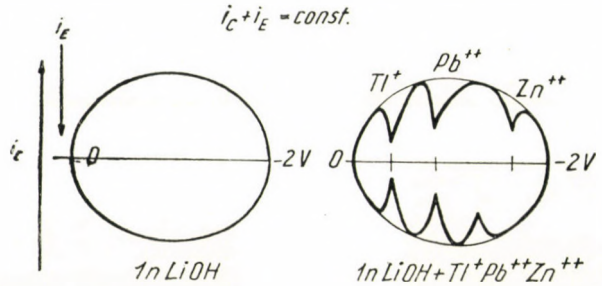


Abb. 12. Ableitungs-Potential-Kurve $\frac{dV}{dt} = f(V)$. Links von reinem 1m LiOH, rechts nach Zugabe von Tl^+, Pb^{2+}, Zn^{2+}-Ionen

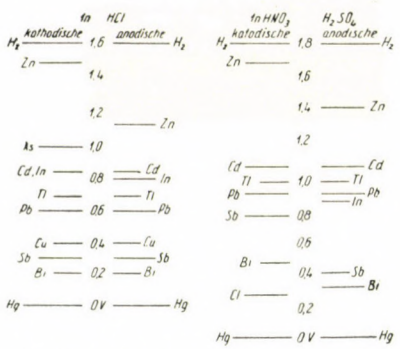


Abb. 13/a. Tabellen der Depolarisationsspannungen in Volt in sauren Lösungen

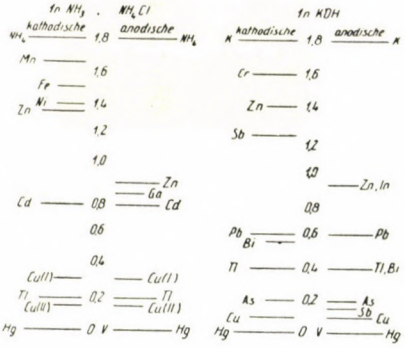


Abb. 13/b. Dieselben in ammoniakalischen und alkalischen Lösungen

stand $R = 1000$ Ohm und ein Kondensator, dessen Kapazität $C' = 0{,}01\ \mu F$ gegen die des Tropfens klein ist, parallel eingeschaltet werden. Dann fliesst ein Kapazitätsstrom i_c' durch die parallele Schaltung, der durch die Beziehung

$$i_c' = \frac{dQ}{dt} = C' \frac{dV}{dt}$$

gegeben ist, wobei V das Potential der Tropfelektrode bezeichnet. Die gewünschte Ableitung $\frac{dV}{dt}$ ist also gleich $\frac{i_c'}{c'}$ und wird als Ordinate gezeichnet.

Die Ableitung $\frac{dV}{dt}$ bezeichnet auch zugleich $\frac{i_c}{C}$, wo i_c den Ladungsstrom der tropfenden Elektrode und C ihre Kapazität bedeuten. Die Höhe der $\frac{dV}{dt}$ -Diagramme $= \frac{i_c}{C}$ ist also dem Ladungsstrome der Tropfelektrode direkt und ihrer Kapazität indirekt proportional.

Da der durch die Zelle fliessende Wechselstrom i immer dieselbe Amplitude hat, gilt für einen jeden entsprechenden Moment der Phase die Formel $i_t = i_c + i_E = K$, wo K eine Konstante ist. Deswegen muss sich beim Einsetzen der Elektrolyse, bei dem der elektrolytische Strom i_E zu fliessen beginnt, der Kapazitätsstrom vermindern, denn die Summe beider ist konstant. Somit entstehen an den $\frac{dV}{dt} - t$ Kurven Einschnitte, deren Flächen den bei der Elektrolyse verbrauchten Coulombs, also der Konzentration des Depolarisators proportional sind.

Die Fläche A eines Einschnittes der Ableitungs-Zeit-Kurve $\frac{dV}{dt} - t$ ist gleich dem Integral zwischen den Zeiten t_1 bis t_2 des elektrolytischen Stromes i_E, also dem Produkte des mittleren elektrolytischen Stromes i_Z und dem Zeitintervalle $t_2 - t_1$, d. h. $A = i_E\ (t_2 - t_1)$.

Die Ableitungs-Zeit Oszillogramme haben meist eine theoretische Bedeutung, da sie die Geschwindigkeit der elektrolytischen Vorgänge angeben. Von praktischem Nutzen sind die Ableitungs-Potential Diagramme, $\frac{dV}{dt}$ gegen V, die an der Abszisse die Depolarisationspotentiale, also die Qualität und an der Ordinate die Konzentration des Depolarisators, d. h. seine Quantität angeben.

Die oszillographische Polarographie bietet also reichlich Anwendungsmöglichkeiten in der Analyse. Die Depolarisatoren sind sowohl durch den kathodischen als auch durch den anodischen Einschnitt an der $\frac{dV}{dt} - V$ Kurve gekennzeichnet. Die qualitative Angabe ist deshalb günstiger als in der Polarographie, die nur eine dieser Depolarisationen angeben kann (siehe Tabellen). In quantitativer Hinsicht sind jedoch die oszillographischen Angaben weniger genau (auf 5 bis 10%); dazu genügt 1 ml der zu untersuchenden Lösung und der Luftsauerstoff braucht meistens nicht entfernt zu werden.

Zur Darstellung der $\frac{dV}{dt} - V$ Diagramme wird in Prag vom Nationalunternehmen »*KŘIŽIK*« ein Apparat, »Polaroskop« genannt, erzeugt. Der Oszillograph und sonstige Elektronenröhren, Widerstände, Kondensatoren und Transformatoren befinden sich in einem kleinen Kasten von den Ausmassen 30 × 26 × 32 cm, der mit einer Zuleitungsschnur für den Netzanschluss und mit zwei

Zuleitungsdrähten versehen ist, die mit der Quecksilberelektrode und dem ruhenden Bodenquecksilber verbunden werden.

Der durch den parallel zur elektrolytischen Zelle geschalteten Kondensator C' und den Widerstand R fliessende Strom i_c', wird als die Spannung $i_c' \cdot R$ an die horizontalen, d. h. die vertikal ablenkenden Platten des Oszillographen

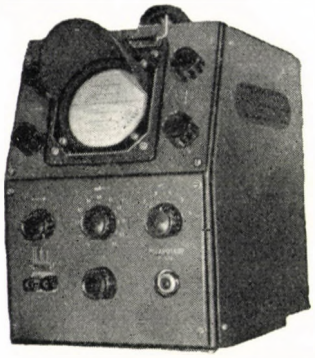


Abb. 14. Elektronenröhren-Polaroskop

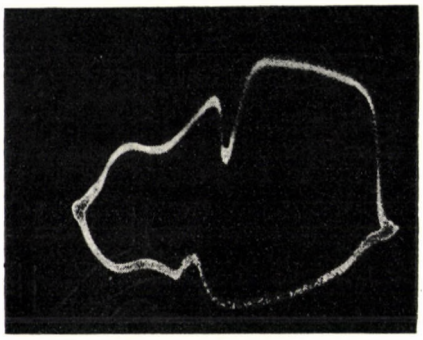


Abb. 15. Die Wirkung der Al^{3+}-Ionen. Ableitungs-Potential-Kurve von 4n LiCl mit 10^{-2}n $AlCl_3$

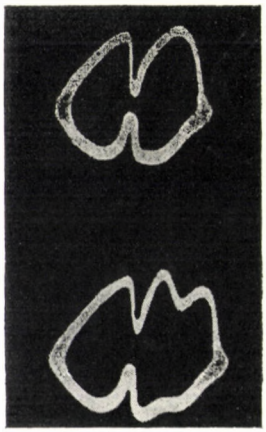


Abb. 16. Die Wirkung der Jodidionen: unten 10^{-3}n Zn^{2+} in 1n KJ, oben in 2n KJ

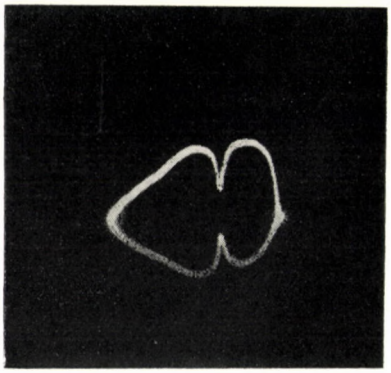


Abb. 17. Die Wirkung der Jodidionen: 10^{-3}n La^{3+} in 0,5n KJ

angelegt, und die Spannung V zwischen den beiden Elektroden, d. i. das Potential der tropfenden Elektrode, wirkt auf die vertikalen, d. h. horizontal ablenkenden Platten.

Das Oszillogramm des reinen Grundelektrolyten hat dann die Form einer Ellipse. Man benutzt hier dieselben Grundelektrolyte wie in der Polarographie, aber in etwa zehnfacher Konzentration, also 1 bis 2 m LiCl, LiOH, Li_2SO_4,

H_2SO_4, Acetatpufferlösungen u. s. w. Die zwischen 0 V und —2 V wirkenden Depolarisatoren verursachen durch ihren elektrolytischen Strom mehr oder weniger symmetrische Einschnitte in die Ellipse. Aus den Flächen der Einschnitte berechnet man die Quantität der entsprechenden Depolarisatoren gemäss der Formel

$A = \frac{\Delta}{\Delta'}(V_2 - V_1)\, C'$, wobei Δ die Fläche des Einschnittes, und Δ' die zwischen den entsprechenden Ordinaten bei V_1 und V_2 und der Abszisse liegende Ergänzungsfläche bedeutet [7].

Ein stabiles Oszillogramm für das Photographieren und Ausmessen erhält man am besten beim Benutzen der *strömenden Elektrode* [3], die zu diesem

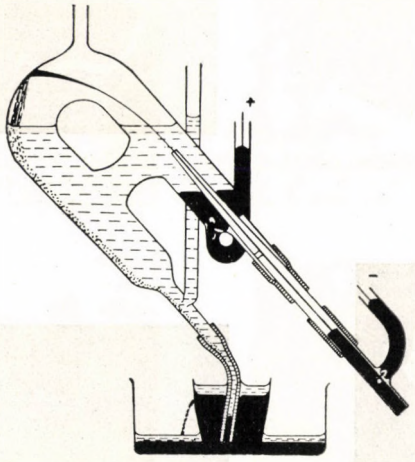


Abb. 18. Die strömende Quecksilberelektrode

Zwecke hergestellt wurde und auch in der gewöhnlichen Polarographie häufig angewendet wird. Das Quecksilber strömt unter dem Drucke etwa einer halben Atmosphäre aus einer konischen Kapillarmündung (von etwa 0,1 mm Durchmesser) durch eine etwa 5 mm hohe Schicht der Lösung empor und bietet so eine stabile, fortwährend sich erneuernde Elektrodenoberfläche, die ebenso wie die Tropfelektrode, vollständig polarisierbar ist. Der Quecksilberverbrauch ist jedoch etwa der hundertfache und der Ladungsstrom (i_c) muss auf 2 bis 3 Milliampere erhöht werden.

Die unpolarisierbare Referenzelektrode wird durch die rund um die Kapillare ruhende Quecksilberschicht gebildet. Das Volumen der Lösung beträgt 18 ml. Die mit der strömenden Elektrode erhaltenen Oszillogramme sind meist einfacher als die mit der tropfenden, weil wegen des raschen Strömens keine konsekutiven oder Nebenreaktionen an der Elektrodenoberfläche möglich sind, und nur die einfachsten Elektronenübergänge verlaufen.

Aus diesem Grund eignet sich auch die strömende Elektrode zur Trennung von Isomeren. Die $\frac{dV}{dt} - V$ Kurven zeigen z. B. den Unterschied zwischen Nitrobenzol und o-, m-, und p-Nitrophenolen auch in deren Gemischen. Auf dieselbe

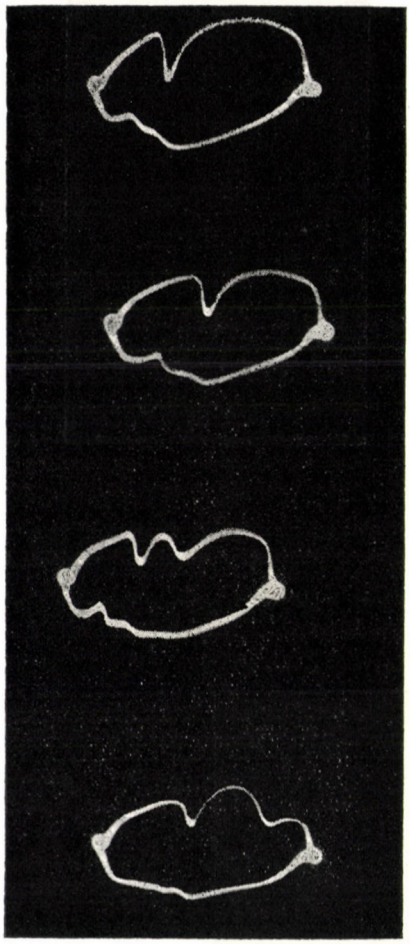


Abb. 19. Ableitungs-Potential Oszillogramme von 1m KOH mit: 1. Nitrobenzol, 2. o-Nitrophenol, 3. m-Nitrophenol, 4. p-Nitrophenol

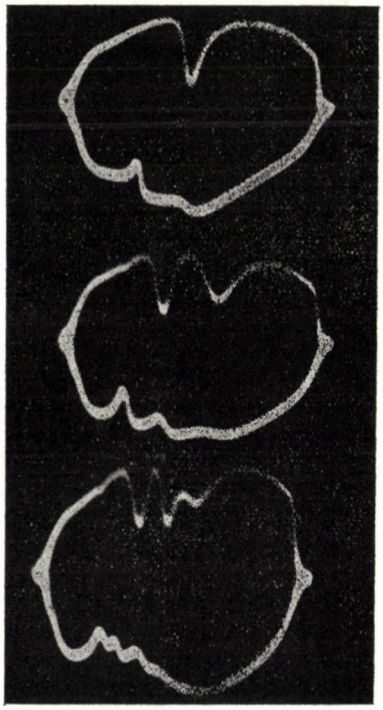


Abb. 20. $\frac{dV}{dt} = f(V)$ Oszillogramme von 1m KOH mit: 1. o-Nitrophenol, 2. m-Nitrophenol, 3. Gemisch von o- und m-Nitrophenolen

Weise unterscheidet man die Oszillogramme der Nicotinsäure, Isonicotinsäure und Picolinsäure, Dipicolinsäure und deren Gemisch. Alle charakteristischen Einschnitte dieser isomeren Säuren verbleiben in dem Gemisch deutlich getrennt [6].

Die die Depolarisation hemmende Wirkung von Adsorptionsfilmen macht sich im Falle der organischen Depolarisatoren ebenso merkbar wie bei den Metallionen. Die Anwesenheit von z. B. 1% Pyridin oder Gelatine spaltet den 4-elek-

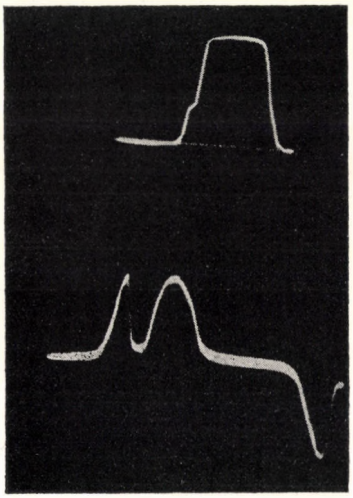


Abb. 21. Oben die Potential-Zeit-Kurve von 1n KOH 0,001m Nitrobenzol an der strömenden Quecksilberelektrode; unten Ableitungs-Zeit-Kurve; es entsteht nur ein Einschnitt

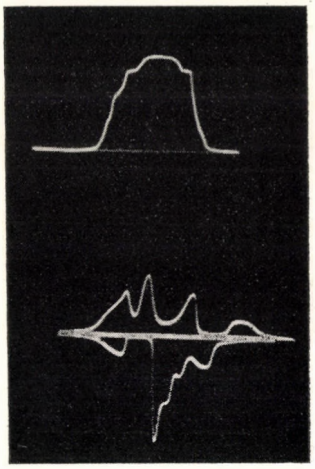


Abb. 22. Dieselbe Lösung wie in Abb. 21 nach Zugabe von 1% Pyridin. Oben die Potential-Zeit-Kurve; es entstehen zwei kathodische Knicke und die Kapazitätsdiskontinuität. Unten die Ableitungs-Zeit-Kurve; es entstehen zwei Einschnitte im Verhältnis 1 : 3 und die Diskontinuität

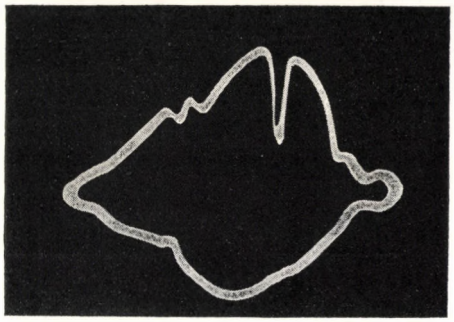


Abb. 23. 0,01m Penicillin G in 1n Li_2SO_4, 0,01n H_2SO_4 bei 0°, 10 Min. nach dem Auflösen

tronigen Einschnitt, der bei der Reduktion von Nitrobenzol zum Phenylhydroxylamin an der $\frac{dV}{dt} - t$ Kurve entsteht, in zwei Einschnitte im Flächenverhältnis 1 : 3 [5].

Die modernen Antibiotika sind alle oszillographisch aktiv. Das reinste Penicillin als Isomer der β-Laktamform ist kein Depolarisator ; da es sich aber in schwach saurem Medium in die Penicillensäure mit Oxazolonring isomerisiert und noch weiter zersetzt, wird nebst kleineren ein grosser Einschnitt bei —1,0 beobachtbar [10].

Die kinetischen Ströme der gewöhnlichen Polarographie machen sich durch

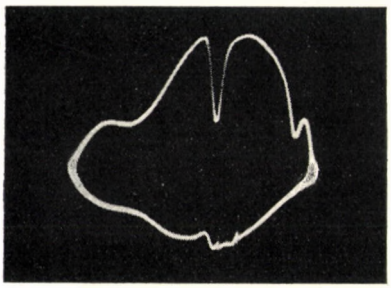


Abb. 24. Isonikotinsäure in 1m H_2SO_4

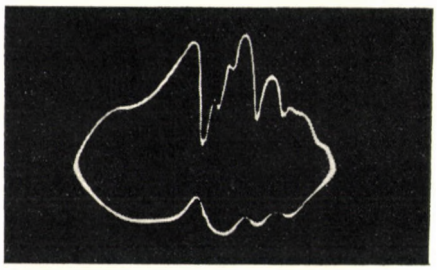


Abb. 25. Ein Gemisch von Nikotinsäure, Isonikotinsäure, Pikolinsäure und Dipikolinsäure in 1m H_2SO_4

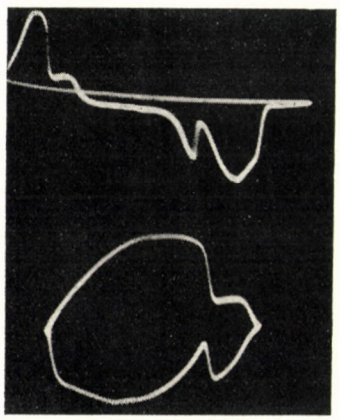


Abb. 26. In KOH mit Formaldehyd. Oben die Ableitungs-Zeit-Kurve, unten Ableitungs-Potential-Kurve. Der kathodische Einschnitt ist rechtwinkelig

ihre Verzögerungen der Elektrodenreaktionen in der Oszillographie geltend. Die langsam verlaufende Dehydratation des Methylenglykols zum direkt reduzierbaren Formaldehyd erkennt man an dem rechtwinkligen Verlauf des kathodischen Einschnittes, da keine Erschöpfung des Depolarisators erfolgen kann.

Beim Formaldehyd ist auch bemerkenswert, dass die Depolarisation oszillographisch reversibel verläuft, obzwar sie polarographisch einen irreversiblen Vorgang vorstellt. Man kann dieses unterschiedliche Verhalten durch die Ge-

schwindigkeit der Aufladung und Entladung erklären, die in einer kürzeren Zeit als 0,01 sec nacheinander folgen. Werden bei kathodischer Reduktion ein oder zwei Elektronen vom Molekel (in alkalischer Lösung) aufgenommen, so kehren sie beim anodischen Stromstoss wieder an die Elektrode zurück, ohne mit den Protonen der Lösung reagieren zu können.

Ganz eigenartig ist das Verhalten von Al^{3+}-Ionen ; in den 1 bis 2n Grundelektrolyten wirken sie nicht depolarisierend, obzwar Aluminium zu den polarographischen Depolarisatoren gehört. Nur in Gegenwart von 2 bis 6n Lithiumchlorid oder -sulfat erscheint ein tiefer kathodischer und ein zu diesem beinahe reversibel gestellter anodischer Einschnitt (siehe Abb. 15). Nähere Untersuchun-

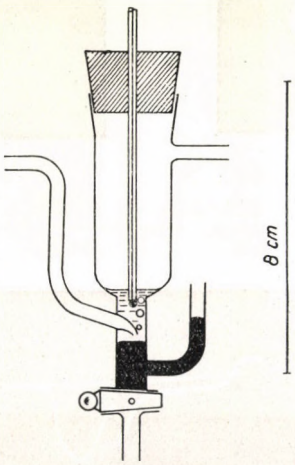


Abb. 27. Polarographisches Gefäss zur oszillographischen Atmosphärenanalyse

gen haben erwiesen, dass sich bei negativeren Potentialen an der Elektrodenoberfläche von den hier anwesenden kleinsten Ionen H^+, Al^{3+} Li^+ das bekannte Reduktionsmittel Lithium-Aluminium-Hydrid kathodisch bildet und anodisch wieder in die ursprünglichen Ionen oxydiert [8].

Die aktivierende Einwirkung der deformierbaren Jodid-Ionen zeigt sich markant bei der irreversiblen Depolarisation der Zn^{2+}-Ionen, die bei einem um etwa 0,2 V positiveren Potential einen reversiblen Einschnitt hervorrufen, so dass in Anwesenheit von 2n KJ eine vollständige Reversibilität erscheint. In^{3+}-Ionen werden in 3m Jodiden so weit aktiviert, dass sie in einem vom Cadmium getrenntem Einschnitt erscheinen und können auch oszillographisch mit dem Natriumsalz von Äthylendiaminotetraessigsäure sogar bei einem tausendfachen Überschuss von Cd^{2+} und Zn^{2+}-Ionen titriert werden. Mit einem Überschuss von Jodiden (0,5 m) kommt sogar eine reversible Depolarisation der Lanthanionen zum Vorschein, die mit den Mitteln der klassischen Polarographie unerreichbar ist (siehe Abb. 16, 17).

In der oszillographischen Bestimmung von Spuren schädlicher Gase der Atmosphäre in Werkstätten wurden neben Schwefelkohlenstoff, Schwefeldioxyd, Schwefelwasserstoff, Cyanwasserstoff auch Acetylen erprobt. Bei diesen Analysen bewährt sich das Gefässchen (Abb. 27), durch welches die zu analysierende Luft durchgeleitet wird. Nach einigen Minuten des Durchperlens beobachtet man das

Abb. 28. Oszillogramm einer Spur von Schwefelkohlenstoff in der Atmosphäre : oben an der tropfenden, unten an der strömenden Quecksilberelektrode in 1m Acetatpufferlösung

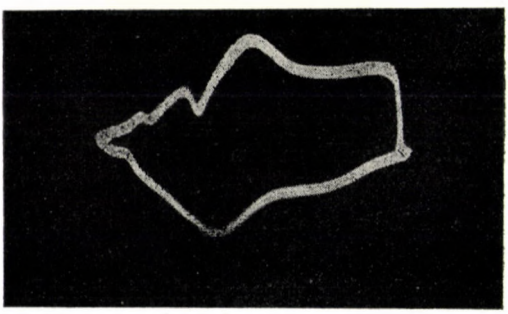


Abb. 29. Oszillogramm einer Spur von HCN in der Atmosphäre in 2m Acetatpufferlösung

Oszillogramm, dessen erfassbare Einschnitte im Falle von Schwefelkohlenstoff oder Cyanwasserstoff gerade die beginnende Toxizität anzeigen [6, 7].

Für Cyanwasserstoff bewährt sich als Grundelektrolyt eine 2m Lösung von Acetatpuffer pH 4,7; am Oszillogramm bilden sich dann bei positiven Potentialen zwei kathodische und ein anodischer Einschnitt.

Schwefelkohlenstoff ergibt in derselben Lösung an der tropfenden Elektrode den reversiblen Einschnitt des Schwefelwasserstoffes, weil er bei negativeren

Potentialen, etwa —1,5 V, elektrolytisch zu Schwefelwasserstoff reduziert wird. An der strömenden Elektrode wird aber das Produkt der Reduktion — *»das Artefakt«* — binnen der 1/100 sec, in der das Potential von −1,5 auf 0 V übergeht, durch das schnelle Strömen der Elektrode fortgetragen, so dass es sich nicht mehr durch den kathodischen Einschnitt kennzeichnen lässt. Dagegen entsteht an der strömenden Elektrode bei negativen Potentialen ein Einschnitt der teilweisen Reduktion des Schwefelkohlenstoffes, die auch polarographisch nachweisbar ist.

Überraschend in der oszillographischen Polarographie ist das Verhalten des Acetylens, das in konzentrierten Laugen drei bis vier markante kathodische

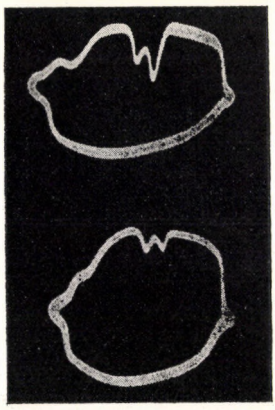


Abb. 30. Oszillogramm einer Spur von Acetylen in der Atmosphäre; Elektrolyt 5n KOH; oben an der tropfenden, unten an der strömenden Quecksilberelektrode

Einschnitte verursacht, die vollkommen irreversibel sind. Man hat nicht erwartet, dass Acetylen polarographisch oder oszillographisch aktiv sei, da seine isolierte ungesättigte Bindung elektrolytisch nicht hydrogenisiert werden kann [7].

Die Erklärung der beobachteten kathodischen Reduktion muss in der Bildung einer neuen Substanz an der polarisierbaren Elektrode gesucht werden. So wie bei Schwefelkohlenstoff Schwefelwasserstoff an der Elektrode gebildet wird und dann seine charakteristischen Einschnitte zeigt, entsteht auch aus Acetylen bei positiven Potentialen eine neue reduzierbare Substanz — also ein Artefakt. Es ist nämlich notwendig, ein positives Potential — etwa das der Kalomelelektrode — zu erreichen, damit die Einschnitte des Acetylens erscheinen. Bei diesen Potentialen geht Quecksilber reichlich in Lösung in der Form von Mercuro- und Mercuri-Ionen, die in der alkalischen Lösung bekanntlich mit Acetylen verschiedenartige Acetylide bilden, in denen das Quecksilberatom nicht ionogen, sondern homöopolar organisch gebunden ist. Eine solche Bindung

erklärt auch den *irreversiblen* Charakter der Ausscheidung der Quecksilberatome aus den gebildeten Acetyliden.

Bei Anwendung der strömenden Elektrode werden die Acetyleneinschnitte viel kleiner und desto geringer, je schneller der Quecksilberstrahl strömt. Offensichtlich werden bei schneller Strömung die bei positiven Poten-

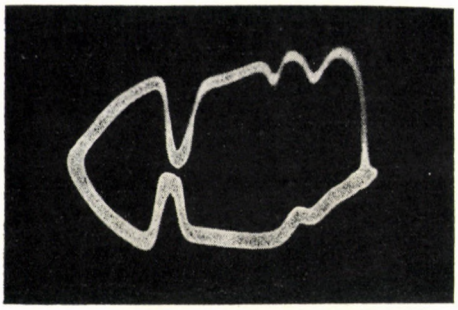


Abb. 31. Reversibles Oszillogramm der Folsäure in 1m H_2SO_4

Abb. 32. Oben 10^{-3}m Maleinsäure, unten 10^{-3}m Cd^{2+} in 1m H_2SO_4, beide an der strömenden Quecksilberelektrode

tialen entstehenden Acetylide von der Elektrodenoberfläche fortgetragen, so dass sie dann bei ihren Reduktionspotentialen an der Elektrode nicht mehr anwesend sind.

Was bisher von der oszillographischen Polarographie hier erwähnt wurde, zeigt, dass die Polarisation unter ziemlich verschiedenen Bedingungen entsteht und untersucht wird. Erstens, man erteilt kein bestimmtes Potential der polarisierbaren Elektrode, sondern ladet sie mit einem bestimmten Strom und misst

den Verlauf des Potentials ; zweitens, das Aufladen erfolgt sehr schnell, von 0 bis −2 V in 0,01 sec, wobei die Elektrodenoberfläche als konstant betrachtet werden kann. Drittens, haften Depolarisationsprodukte an der polarisierbaren Oberfläche, so dass wenn der Strom umgekehrt wird, die Reduktionsprodukte wieder oxydiert werden und anodische Vorgänge verlaufen. Infolgedessen entsprechen die Ergebnisse der klassischen Polarographie denen der oszillographischen nicht. So gibt es polarographische Depolarisatoren, die keine oszillographische Wirkung erzeugen, z. B. Al^{3+}-Ionen, dagegen oszillographische Depolarisatoren, die in der Polarographie nicht vorkommen, wie Acetylen, Lanthan. Die polarographisch reversibel verlaufende Zn^{2+}-Abscheidung geht oszillographisch irreversibel vor sich, dagegen ist die polarographisch irreversible Reduktion von der Maleinsäure (Abb. 32) und Formaldehyd oszillographisch reversibel. Ebenso zeigt sich die Folsäure als irreversibel in der Polarographie, während sie sich in der oszillographischen Polarographie reversibel verhält (Abb. 31).

Auch bei den Vorgängen an der strömenden Elektrode einerseits und an der tropfenden andererseits gibt es in der oszillographischen Polarographie Unterschiede: an der tropfenden Elektrode erkennt man die Artefakten, an der strömenden nicht, an der tropfenden kommt es zu komplizierten Depolarisationen, die an der strömenden Elektrode verschwinden, so dass hier bloss die primitivsten Vorgänge erscheinen.

Die oszillographische Polarographie mit dem Wechselstrom bedeutet also nicht nur eine Beschleunigung und Bereicherung der Methoden der analytischen Chemie, sondern auch eine wahre Vertiefung unserer Einsicht in die schnellen Elektrodenvorgänge.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Kathodenstrahl-Oszillograph wird zu polarographischen Untersuchungen bestens ausgenutzt, wenn man durch die Quecksilberelektroden einen Wechselstrom von konstanter Amplitude leitet. Die primitive Kurve ist hier die Potential-Zeit-Kurve, die die Depolarisationspotentiale und den zeitlichen Verlauf der Depolarisationen angibt. Empfindlicher werden diese Kurven, wenn man die Zeitbase sehr schnell verlaufen lässt, wodurch ein oszillographisches Spektrum entsteht. Durch Einführung der Ableitung dV/dt wird ein Diagramm gegen die Zeit (t) und eines gegen das Potential (V) erhalten. Durch die Fläche der Einschnitte in die Kurve gibt das erstere die Quantität, das zweite die Qulatität an. Auch Verbindungen, die keine polarographischen Depolarisatoren sind, wie Lanthan-Ionen oder Acetylen, wirken oszillographisch depolarisierend. Dadurch wird eine allgemeine analytische Methode, die analog der Polarographie ist, ermöglicht ; sie ist in qualitativer Hinsicht genauer, in quantitativer weniger genau als die klassische Polarographie. Viele Anwendungen werden angegeben.

Experimentelle Demonstrationen :

Es wurden die V—t, dV/dt —t, dV/dt—V als Leuchtkurven und das oszillographische Spektrum der Lösung von 1n KOH ohne und mit Depolarisatoren Tl^{+}, Pb^{2+}, Zn^{2+} und Nitrobenzol vorgeführt. Der Kathodenstrahl-Oszillograph war eine umgebaute Philips'sche Type GM 3152. Gleichfalls wurden dieselben Kurven an der Quecksilberstrahlelektrode gezeigt. Die Anwesenheit von CS_2, HCN und C_2H_2 in der Atmosphäre wurde auf einem speziell gebauten »Elektronischen Polaroskop« demonstriert.

LITERATUR

1. L. A. Matheson und N. Nichols: Trans. electrochem. Soc. **73**, 193 (1938).
2. J. E. B. Randles: Trans. Faraday Soc. **44**, 327 (1948).
3. J. Heyrovský und J. Forejt: Z. physik. Chem. **193**, 77 (1943).
   J. Heyrovský: Proc. I. internat. polarograph. Congress, Prague, **III**, 268, 279 (1951).
4. J. Heyrovský: Chem. Zvesti **8**, 759 (1954).
5. J. Heyrovský: Collection Czechoslov. Chem. Communs. Suppl. II. **19**, 5 (1954).
6. J. Heyrovský: Anal. Chim. Acta **8**, 283 (1953).
7. J. Heyrovský: Anal. Chim. Acta **12**, 600 (1955).
8. J. Heyrovský: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 749 (1953).
9. J. Heyrovský: Discuss. Faraday Soc. No 1.
10. J. Heyrovský: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 739 (1953).

GENERAL REMARKS ON OSCILLOGRAPHIC POLAROGRAPHY

J. Heyrovský

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

The cathode-ray oscillograph is best utilized in polarographic investigations with an alternating current of constant amplitude led through the mercury electrodes. The primitive curve is in this case the curve potential-time, showing the depolarisation potentials and the progress of depolarisations in time. Curves of this type become more sensitive when the time basis is run extremely fast, yielding this way an oscillographic spectrum. Introducing the formula dV/dt, a diagram against time (t) and another against potential (V) are obtained. By the area of the indentations of the curves information is furnished on the quantity (time curve) and on the quality of substance (potential curve), respectively. Compounds inefficient as polarographic depolarisers (lanthanum ions or acetylene) may show a depolarising action in oscillography. This offers a general analytic method analogous to polarography. From a qualitative point of view, the method is more accurate whereas from a quantitative one it is less precise than classical polarography. Numerous ways of application are described.

Experimental demonstrations

The terms V—t, dV/dt —t, dV/dt —V as curves of illumination, and the oscillographic spectrum of a solution of 1,0 N potassium hydroxide alone and with depolarisators Tl^{+}, Pb^{2+}, Zn^{2+} and nitrobenzene are presented. The cathode-ray oscillograph applied was a reconstructed Philips apparatus, type GM 3152. The same curves were also established with the mercury ray electrode. The presence of CS_2, HCN and C_2H_2 in the atmosphere was detected by an «electronic polaroscope» of special construction.

Prof. Dr. Jaroslav Heyrovský Praha I., Vlašská 9.

QUANTITATIVE OSZILLOGRAPHISCHE ANALYSE

R. KALVODA

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Bei den $dV/dt—f(V)$ Kurven ist die Lage des Einschnittes an der Potentialachse von der Qualität des Depolarisators abhängig ; die Fläche des Einschnittes ist eine Funktion der Konzentration des Depolarisators [1]. Diese zweite Abhängigkeit kann man zu quantitativen Bestimmungen ausnützen. Nachfolgend werden diese Methoden kurz erwähnt.

Komparationstitrationen [2]

Am Leuchtschirm des Kathodenstrahl-Oszillographen werden zwei gleich grosse Kurven der Funktion $dV/dt—f(V)$ erhalten, und zwar eine für die untersuchte Lösung und die zweite für die Lösung von bekannter Konzentration. Falls beide Lösungen identisch sind, stimmen auch die entsprechenden Kurven vollkommen überein und decken sich bei ihrer Verschiebung. Es wurden am Leuchtschirm des Oszillographen daher zwei Abbildungen verfolgt : die eine für die untersuchte Lösung, die andere für den indifferenten Elektrolyten, der mit einer Masslösung des entsprechenden zu bestimmenden, im indifferenten Elektrolyten aufgelösten Depolarisators titriert wurde. Die Lösung des Depolarisators wurde so lange zugefügt, bis die Kurve der analysierten Lösung mit der Kurve der Standardlösung übereinstimmte. Aus der bekannten Konzentration des Standards kann die Zusammensetzung der analysierten Lösung berechnet werden (Abb. 1).

Zur Abbildung von zwei Kurven auf einer einzigen Kathodenstrahlröhre wäre es am einfachsten, einen Zweistrahlen-Oszillographen zu verwenden, wo jeder der beiden Strahlen selbständig von der Spannung einer Tropfelektrode beherrscht wäre. Für den normalen Oszillographen war es jedoch nötig; einen Umschalter zu verwenden, der abwechselnd die Kurven beider Lösungen veranschaulichte. Es ist vorteilhaft, einen gemeinsamen Ableitungskreis zu benützen, der dauernd an die Verstärker angeschlossen ist, und die Eintrittsspannung umzuschalten.

Die an den Umschalter gestellten Anforderungen sind die folgenden :

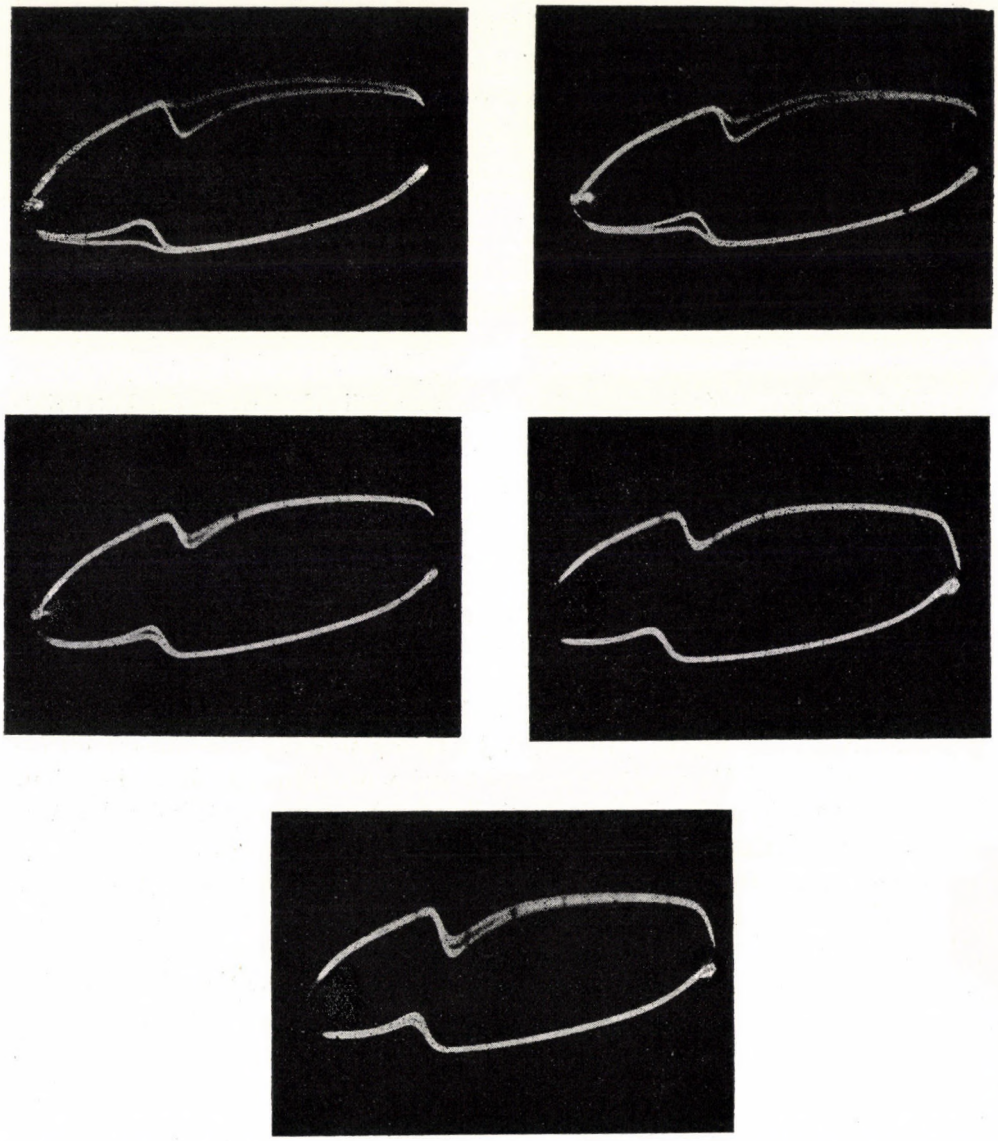


Abb. 1. Ausschnitt aus einer Komparationstitration. Die eine Kurve gehört der analysierten Probe mit 0,25 mg Pb Gehalt, die zweite der titrierten Lösung an

1. Das Umschalten muss mit der halben Frequenz der Erregungsspannung erfolgen, damit abwechselnd beide Verläufe gezeichnet werden.

2. Das Umschalten muss im Augenblick der Nullspannung an den Platten geschehen um Störungen an den Abbildungen zu vermeiden. Diesen Anforderungen entspricht am besten ein Relaisumschalter, sofern allerdings die Speisungsfrequenz genügend niedrig ist.

Bei dieser Methode werden zwei Tropfelektroden gleicher Gestalt benützt. Die gleiche Tropfdauer sowie das gleichzeitige Abtropfen wird durch einen mechanischen Tropfenabreisser gewährleistet. Es ist vorteilhaft diese Elektroden so zu konstruieren, dass sich ihre oberen Teile berühren; in diesem Fall genügt es nur an eine Elektrode zu klopfen: die Erschütterung wird auf die zweite Elektrode übertragen, wodurch das gemeinsame Abtropfen realisiert ist.

Der die Feststellung des Äquivalenzpunktes begleitende Fehler betrug 1 bis 10%. In der Regel überschritten die Fehler jedoch nicht 3%. Eine erhöhte Genauigkeit kann dadurch erzielt werden, dass mit kleinen Zugaben titriert und mit maximaler Empfindlichkeit des Verstärkers gearbeitet wird, wobei am Leuchtschirm eventuell nur ein Teil der Kurve mit den charakteristischen Einschnitten zu sehen ist, was sich am Polaroskop gut durchführen lässt.

Die Anwendung dieser Methode wurde bei der Bestimmung von Nickel [3] neben Kobalt, sowie auch bei der Bestimmung von Blei [4] und Kadmium in metallischem Zink beschrieben.

Messung der Einschnittiefe [5]

Die Tiefe der Einschnitte ist eine Funktion der Konzentration des Depolarisators. Diese Einschnitte sind bei Reduktionsvorgängen von etwa 0,8 bis $1 \cdot 10^{-4}$ m Konzentrationen an sichtbar. Hierbei wird die Entfernung der Spitze des Einschnittes von der Potentialachse mit Hilfe einer Einrichtung gemessen, durch die am Leuchtschirm der Kathodenstrahlröhre einerseits die Abbildung der Funktion $dV/dt = f(V)$, andererseits eine in senkrechter Richtung durch ein kalibriertes Potentiometer verschiebbare waagerechte Achse projiziert wird.

Diese Einrichtung ermöglicht eine schnelle Bestimmung von Depolarisatoren mit Hilfe einer Eichkurve. Bei jeder, einem Punkt auf der Eichkurve entsprechenden Depolarisator-Konzentration stellt man mit dem kalibrierten Verschieber die projizierte Achse derart ein, dass sie die Spitze des Einschnittes auf der oszillographischen Kurve im Augenblick dicht vor dem Abreissen des Tropfens gerade berührt. Der entsprechende Wert, der die Tiefe des Einschnittes (entspricht der zur Verschiebung der Achse zur Spitze des Einschnittes benötigten Spannung) angibt, wird am Verschieber abgelesen und in Abhängigkeit von der Konzentration aufgetragen. Die Eichkurve nähert sich in einem gewissen Konzentrationsbereich ($3 \cdot 10^{-4}$ bis $8 \cdot 10^{-4}$ m) einem linearen Verlauf. Ein steilerer Kurvenanstieg ist im Bereich einer Konzentration bis etwa $3 \cdot 10^{-4}$ m sichtbar. Bei Konzentrationen überhalb von $1{,}4 \cdot 10^{-3}$ m wächst der Einschnitt nahezu nicht mehr an und die Kurve strebt einem Grenzwert zu. Die Konstruktion der Eichkurve wird durch Ausmessung einer grösseren Anzahl von Standardkonzentrationen durchgeführt. Sowohl bei der Messung der Konzentrationsabhängigkeit, als auch bei der Bestimmung einer Probe von unbekannter Konzentration muss

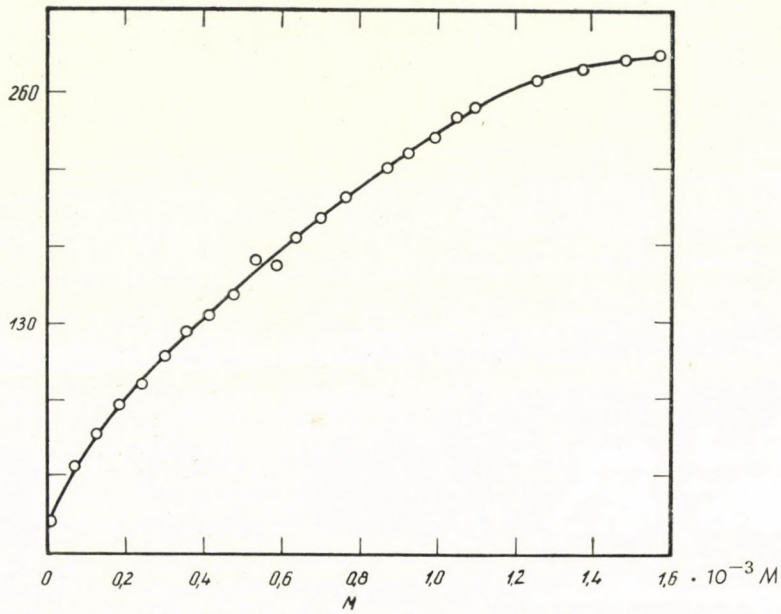


Abb. 2. Kalibrationskurve des Pb in 1m NaOH. Auf der senkrechten Achse sind Werte, die auf dem kalibrierten Potentiometer abgelesen wurden

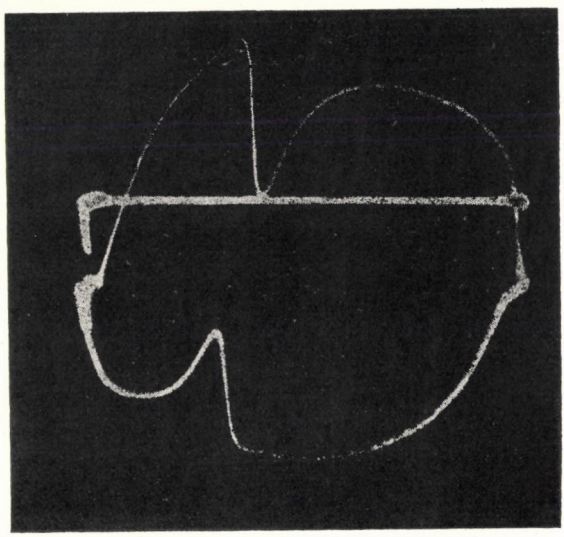


Abb. 3. Eine oszillographische Kurve mit der waagrechten Achse, die in senkrechter Richtun verschiebbar ist

der polarisierende Strom und die Gleichstromkomponente konstant gehalten werden. Eichkurven, die bei verschiedenen Werten des polarisierenden Stromes und der Gleichstromkomponente ausgefertigt wurden, unterscheiden sich einigermassen voneinander, besonders in den Grenzen des Bereichs des steileren Anstieges bei niedrigeren Konzentrationen und im Bereich, bei welchem die Kurve dem Grenzwert zustrebt.

Diese Methode ist besonders bei Kontroll-Serienanalysen von Vorteil, wo die Lage der Achse in bezug auf die Kurve so eingestellt wird, dass die Einschnitte der Proben mit richtiger Konzentration die Achse berühren. Proben mit einem grösseren Gehalt an dem zu bestimmenden Stoff unterscheiden sich durch einen tieferen Einschnitt und umgekehrt. In ähnlicher Weise kann dieses Verfahren bei der Kontrolle der maximalen Verunreinigungen verschiedener Produkte verwendet werden. Die Lage der Achse wird so eingestellt, dass die Achse bei dem erlaubten Konzentrationsmaximum vom Einschnitt berührt werde. Proben mit grösseren Konzentrationen müssen für diese Bestimmung verdünnt werden, so dass sich die Endkonzentration des zu bestimmenden Stoffes im Konzentrationsbereich von 10^{-4} bis 10^{-3}m bewege.

Die Fehler der Bestimmungen bewegten sich im Bereich von 1 bis 10%; in der Regel überschritten die Fehler nicht 3%. Der Verlauf einer Eichkurve ist auf Abb. 2, eine oszillographische Kurve mit der waagrechten Achse auf Abb. 3 veranschaulicht.

Oszillographische Titrationen

Bei diesen Titrationen wird die zu bestimmende Substanz (mit depolarisierender Wirkung) mit einer Masslösung titriert, durch die sich ihre Konzentration vermindert (durch Fällung oder Komplexbildung). Der Äquivalenzpunkt ist durch das Verschwinden des Einschnittes indiziert. Z. B. die Bestimmung von Indium [6] und Kadmium nebeneinander durch Titration mit Komplexon III.

Es wurde auch eine Methode beschrieben [7], bei der die Lösung des Depolarisators durch den Grundelektrolyten so lange verdünnt wird, bis der Einschnitt nicht mehr sichtbar ist. Bei dieser Art der Bestimmungen ist zuerst die kleinste Konzentration, bei der der Einschnitt noch sichtbar ist, oder die höchste Konzentration des Depolarisators, bei welcher der Einschnitt noch nicht entsteht, festzustellen.

Bewertung

Die Komparationstitration bzw. die Messung der Einschnittiefe kann in allen Fällen benützt werden, wo in Anwesenheit von Depolarisatoren ein Einschnitt auf der oszillographischen Kurve entsteht, dessen Grösse von der Konzentration abhängig ist. Die Bestimmungen lassen sich im Konzentrations-

bereich von etwa 8.10^{-5} bis 8.10^{-4}m gut durchführen. Konzentrierte Lösungen sind zu verdünnen. Der erwähnte Bereich kann aus der Form der Kurve gut erkannt werden; die Grenzkonzentration ist erreicht, wenn die Spitze des Einschnittes sich der die beiden Endpunkte verbindenden Achse annähert. Apparate, die diese Bestimmungen ermöglichen, sind als selbständige Zusatzgeräte zum Polaroskop gebaut. Es ist auch möglich diese in Verbindung mit normalen Kathodenstrahl-Oszillographen zu benützen. Eingehende Bauschemas sind in anderen Arbeiten [2, 3] veröffentlicht. Die Geräte sind sehr einfach und die Anschaffungskosten sehr niedrig.

ZUSAMMENFASSUNG

In der Oszillopolarographie mit den $dV/dt = f(V)$ Kurven werden folgende Methoden zur quantitativen Analyse vorgeschlagen: 1. *Komparationstitration.* Bei dieser werden am Oszillographen zwei Kurven erhalten: die eine für die untersuchte Lösung, die andere für eine Vergleichslösung, die mit einer Masslösung des zu bestimmenden Depolarisators so lange titriert wird, bis beide Kurven identisch werden. 2. *Messung der Einschnittiefe.* Bei dieser Methode wird die Entfernung der Spitze des Einschnittes von der Potentialachse mit einer speziellen Einrichtung gemessen.

LITERATUR

1. J. Heyrovský und J. Forejt: Oscilografická polarografie (Státni nakladatelstvi technické literatury, Praha) 1953.
2. R. Kalvoda und J. Macku: Chem. Listy **48**, 378 (1954); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **20**, 254 (1955).
3. R. Kalvoda: Chem. Listy **49**, 759 (1955).
4. J. Doležal und P. Hofmann: Chem. Listy **48**, 1610 (1954).
5. J. Doležal und P. Hofmann: Chem. Listy **49**, 1026 (1955).
6. L. Treindl: Chem. Listy, **50**, 534 (1956).
7. L. Molnár: Chem. Zvesti **8**, 912 (1954).

QUANTITATIVE OSCILLOGRAPHIC ANALYSIS

R. Kalvoda

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

In oscillo-polarography with the use of the curves $dV/dt = f(V)$ the following methods are proposed for quantitative analysis. 1. *Comparative titration* in which two curves are obtained on the screen of the oscillograph: one for the tested solution and another for a reference solution. The latter solution is titrated, with a standard solution of the determined depolariser, until both curves become identical. 2. *Measurement of the deepness of the cut in.* By this method the distance from the peak of the cut in to the axis of potential is measured by a special equipment.

Dr. Robert Kalvoda, Praha III., Vlašská 9.

DIE POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG DES GALLIUMS

J. SZONNTAGH und J. ROZMANITH

(Institut für Analytische Chemie, Universität für die Chemische Industrie, Veszprém)

Nach dem mit einem negativen Erfolg ausfallenden Versuche von TAKAGI [1] ist die Abscheidung des Galliums an der tropfenden Quecksilberelektrode zum ersten Male im Jahre 1932 von ZELTZER [2] untersucht worden. Er hat in 0,001 n Salzsäure bei etwa 1,12 V (auf die gesättigte Kalomelelektrode bezogen) eine Galliumstufe erhalten.

CHALLENGER hat in seiner Dissertation [3] vom Jahre 1945 festgestellt, dass die Verwendung von 0,01 n Kaliumchlorid als Zusatzelektrolyt bessere Erfolge liefert. Er führte Untersuchungen zur Klärung des Elektrodenvorganges durch. Nach seinen Forschungen ist dieser Elektrodenvorgang irreversibel und findet mit Aufnahme von drei Elektronen statt. Das Halbstufenpotential verändert sich — nach CHALLENGER — zwischen den Potentialwerten 1,03 und 1,05 Volt.

ZELTZER und CHALLENGER führten ihre Untersuchungen nicht bei einem wohldefinierten pH-Bereich durch. Sie erwähnen die störende Wirkung der Wasserstoffstufe, wodurch die Bestimmung auf Schwierigkeiten stösst. Eine weitere Schwierigkeit wird durch die schlechte Reproduzierbarkeit verursacht.

Wir haben in unseren Untersuchungen zuerst den Einfluss von pH auf den Diffusionsstrom studiert [4]. Die Zusammensetzung der verwendeten Lösung war folgende : Kaliumchlorid als Grundlösung mit einer Molarität von 0,5 ; 0,005% Gelatine als Maximadämpfer und Galliumchlorid, dessen Molarität 5.10^{-4} war. Diese Lösung wurde wie folgt bereitet : da nur Galliumoxyd zur Verfügung stand, wurde eine genau abgewogene Menge in Kaliumhydroxyd aufgeschlossen und in Salzsäure aufgelöst, sodann in einem Normalkolben von 100 ml aufgefüllt. Von dieser Stammlösung wurden gleiche Mengen in Normalkolben von 100 ml herausgenommen und bis zum Erreichen des erwünschten pH-Wertes berechnete Mengen von Kalilauge und Gelatine zugefügt. Nach Einstellen der Leitsalzkonzentration (0,05n) wurde die Lösung mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt, und der pH-Wert genau gemessen.

Auf Abb. 1 sind die dicht aneinander folgenden Stufen von Gallium und Wasserstoff sichtbar. Bei dem angewandten pH-Wert 3,5 lässt sich schon die Galliumstufe von der Wasserstoffstufe unterscheiden.

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Galliumstufe ist auf Abb. 2 ersichtlich. Bei pH 2,9 wird die Galliumstufe kaum unterscheidbar, bei höheren pH-Werten werden jedoch die Stufen allmählich brauchbarer und die Stufenhöhen gleichzeitig niedriger.

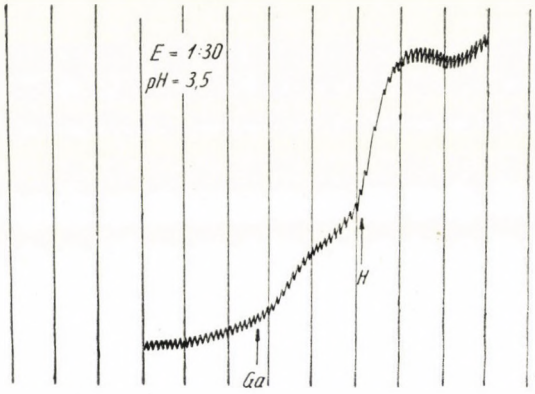


Abb. 1. Die dicht aneinanderfolgenden Stufen des Ga^{3+} und H^+ in einer Grundlösung von 0,5m KCl in Gegenwart von 0,005% Gelatine. Konzentration des $GaCl_3$: $5 \cdot 10^{-4}$ mol

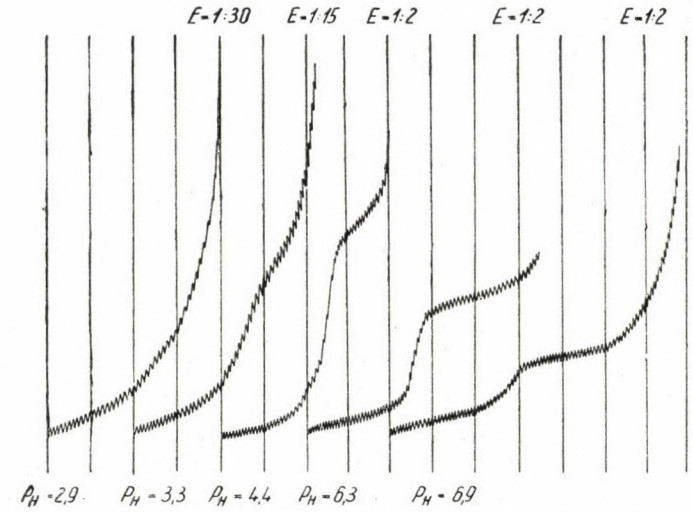


Abb. 2. Galliumstufen bei verschiedenen pH-Werten aufgenommen. Grundlösung 0,5m KCl, 0,005% Gelatine. Die Kurven sind von 0,8 Volt registriert. Gallium-Ionenkonzentration wie bei Abb. 1

Nach diesen Orientierungsversuchen haben wir die Abhängigkeit der Diffusionsstromstärke von dem Säuregehalt bei einer konstanten Gallium-Ionenkonzentration bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden auf Abb. 3 veranschaulicht. Es ist zu ersehen, dass die Stufenhöhe zwischen den pH-Werten 5,35 und 6,35 konstant ist. Es ist also zweckmässig die polarographi-

schen Untersuchungen bzw. Bestimmungen zwischen diesen pH-Werten durchzuführen. Die erwähnte Azidität der vorher stark sauren Lösung wurde in Gegenwart von Bromkresolpurpur oder von einer Mischung von einem Teil Methylenblau und zwei Teilen Methylrot mit Kalilauge eingestellt. Nach der Titrierung wurde festes Kaliumchlorid bis zu einer Konzentration von etwa 0,5 m zugefügt.

Die Untersuchungen wurden mit einem Polarographen Typ V 301 begonnen und später mit einem Polarographen von eigener Konstruktion fortgesetzt. Dieser Polarograph ist noch im Bau begriffen, somit konnten wir ihn nur als einen Handpolarograph benützen. Das Elektrolytgefäss war mit einem Thermostat

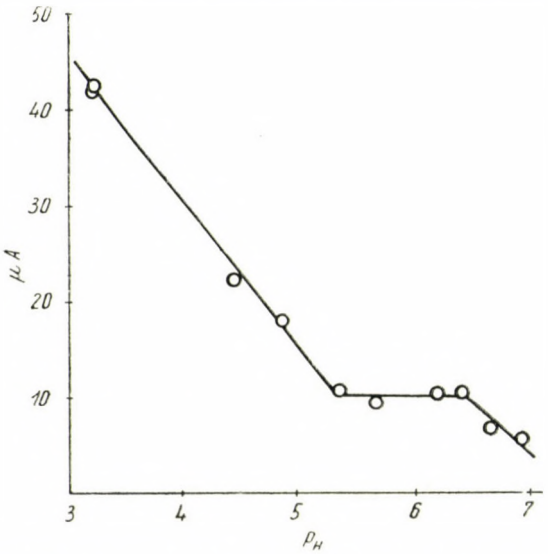


Abb. 3. Die Diffusionsstromstärke des Galliums in Abhängigkeit von pH. Die Werte der Stromstärke sind in μA angegeben

versehen und die Lösungen wurden in Stickstoffatmosphäre untersucht. Wegen des Kapazitätsstromes musste eine Kompensation angewendet werden.

Es sei hier erwähnt, dass KOZLOVA und PORTNOV [5] bei der Bestimmung des Aluminiums einen ähnlichen pH-Bereich gefunden haben, wobei sich die konstante Wellenhöhe zwischen pH 3,7 und 4,2 befand.

Wir versuchten auch die Verwendung von Pufferlösungen (Citrat, Malonat und Phosphat), jedoch bisher erfolglos. Da unsere Forschungen die Entwicklung einer kompletten Methode zur Bestimmung des Galliumgehaltes in Erzen zum Ziel setzten, beschäftigten wir uns mit den Problemen der störenden Stoffe. Das Aluminium stört bei diesem pH-Interwall die Bestimmung nicht. Die störende Wirkung des Zinkes — das unser grösstes Problem war — konnten wir bisher noch nicht beseitigen, darum erschien es notwendig eine Trennung durchzuführen [6].

ZELTZER hat in seinem Artikel [2] Polarogramme veröffentlicht um zu zeigen, dass die Zinkstufe von der Galliumstufe gut unterscheidbar ist. Dies scheint aber um so weniger verständlich, als die Differenz zwischen dem Halbstufenpotential dieser Elemente nur einige hundertstel Volt beträgt. Auf Abb. 4 sind Thallium- und Galliumstufen aufgenommen. Durch Zufügung von geringen Zinkmengen wird die Galliumstufe bemerkbar erhöht.

Zum Abschluss einige Worte von den Vor- und Nachteilen dieser Methode :

Nachteil des Verfahrens ist, dass im angewandten pH-Bereich wegen Hydrolyse eine kleinere Diffusionsstromstärke messbar ist als die aus der Einwaage berechnete. Die Diffusionsstromstärke beträgt ungefähr einen fünftel Teil der

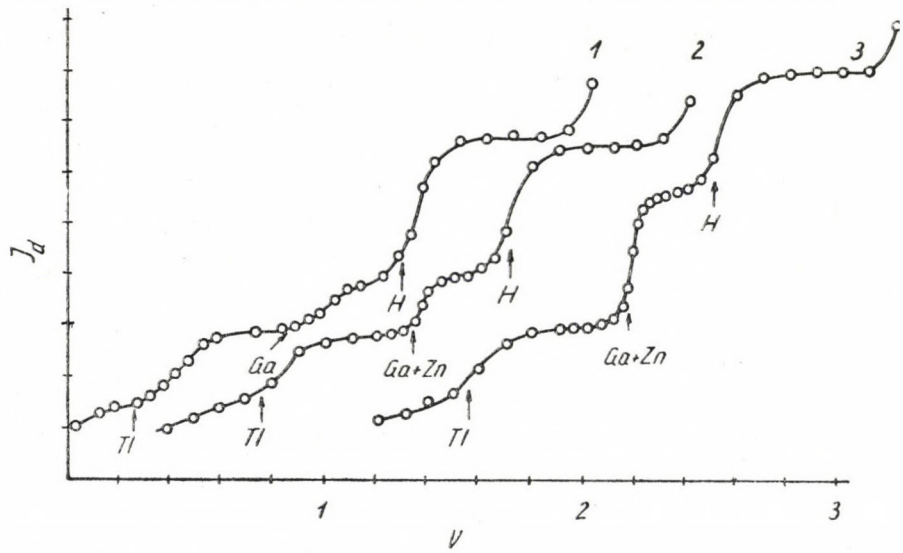


Abb. 4. Stufe des Galliums in Gegenwart von verschiedenen Zinkmengen. Die Lösungen enthalten 0,5m KCl, 0,005% Gelatine, $3 \cdot 10^{-4}$m $Ga_2(SO_4)_3$ und $2 \cdot 10^{-5}$ m Tl_2SO_4 (pH zwischen 5,35 und 6,35). Kurve 1 : ohne Zn-Lösung, Kurve 2 : ein Tropfen von 0,02m $ZnSO_4$, Kurve 3 : zwölf Tropfen derselben Lösung. Die Kurven sind mit einem Handpolarographen aufgenommen ; Galvanometerempfindlichkeit 1 : 3

bei pH 3 messbaren (bei unveränderter Ionenkonzentration). Die vorbereiteten Lösungen zersetzen sich durch Hydrolyse verhältnismässig schnell, was ein anderer Nachteil der Methode ist : die Lösungen müssen binnen zwei Stunden verarbeitet werden.

Der grösste Vorteil der Methode ist, dass die Wellen regelmässig und gut auswertbar sind, da kein störender Einfluss der Wasserstoffstufe zu bemerken ist.

Unseren Messresultaten gemäss kann mit dieser Methode eine viel bessere Reproduzierbarkeit erreicht werden, als mit dem früheren Verfahren. Unsere Messergebnisse weisen eine Streuung von 10% auf. Die Anwendung dieser Methode ist nur möglich, wenn der Galliumgehalt des zu untersuchenden Stoffes 0,1% erreicht.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach ZELTZER und CHALLENGER bietet die Bestimmung des Galliums Schwierigkeiten, hauptsächlich wegen der Verdeckung der Galliumstufe durch die Wasserstoffstufe. Die Verfasser haben unter anderem den Einfluss von pH auf den Diffusionsstrom untersucht, und festgestellt, dass die Ga-Stufenhöhe im pH-Bereich 5,35 bis 6,35 konstant ist, bei kleineren pH wird sie höher und umgekehrt. In Ermangelung einer geeigneten Pufferlösung wird die saure Lösung mit KOH und mit dem Mischindikator von 1 Teil Methylenblau + 2 Teile Methylrot auf etwa pH 5,4 eingestellt. In diesem pH-Bereich stört die H-Stufe nicht und die Reproduzierbarkeit ist eine bessere.

LITERATUR

1. S. TAKAGI: J. Chem. Soc. 301 (1928).
2. S. ZELTZER: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **4**, 319 (1932).
3. G. CHALLENGER: Ph. D. Thesis. Harvard University, 1945.
4. J. SZONNTAGH: Magy. Kémiai Folyóirat **61**, 257 (1955).
5. A. A. KOZLOWA und M. A. PORTNOW: ЗАВ. ЛАБ. (Fabrikslabor.) **9**, 287 (1940).
6. L. MOSER und A. BRUKL: Mh. Chem. **50**, 181 (1928).

DISKUSSION

E. SÁNDI: Es wurde erwähnt, dass Sie auch in Citrat-, Malonat und Phosphatpuffer arbeiten wollten, jedoch erfolglos. Es ist wahrscheinlich, dass das Gallium mit den Anionen dieser Puffer Komplexe bildet, wodurch das Abscheidungspotential in eine negativere Richtung verschoben wird. Ich möchte erwähnen, dass möglicherweise Pufferlösungen, deren Neigung zur Komplexbildung kleiner ist, zu diesen Zwecken geeigneter wären. Ich nehme an, dass ein Veronal-Natrium-Puffer, der weder mit Eisen noch mit Kupfer einen Komplex bildet, oder ein Acetatpuffer besser geeignet sei. Ich möchte raten, den Veronal-Natrium-Puffer zu versuchen. Ich nehme auch an, dass in diesem pH-Bereich auch die Pufferkapazität eine entsprechende ist.

J. SZONNTAGH: Wir werden diesen Versuch anstellen.

J. HEYROVSKÝ: Wir versuchten das Gallium auf oszillographischem Wege nachzuweisen, aber hatten nie einen kathodischen Einschnitt beobachtet, hingegen aber einen anodischen. Die Erscheinung zeigt sich in Ammonialösungen von pH 8—9. Steigt der Ammoniagehalt, so bleibt der Einschnitt aus. Ist die Konzentration des Ammoniaks niedriger, so ist der Einschnitt gleichfalls nicht zu beobachten. Der pH-Bereich ist also ganz eng. Dies bedeutet, dass der kathodische Vorgang viel langsamer ist, als die anodische Amalgambildung. Ein solches Verhalten kann selten beobachtet werden. Die kathodische Abscheidung des Galliums erfolgt über 3 Elektronen, die nacheinander abgeschieden werden. Dieser Vorgang ist so langsam, dass er mit dem Oszillographen nicht zu beobachten ist. Das entstandene Amalgam löst sich jedoch sehr schnell auf. Ich frage Sie, Kollege SZONNTAGH, ob Sie alkalische Pufferlösungen versucht haben.

J. SZONNTAGH: In alkalischen Lösungen wurden keine Versuche ausgeführt, da CHALLENGER über sehr schlecht ausgebildete Stufen bei 1,5 Volt berichtete.

J. HEYROVSKÝ: Oszillographisch verläuft der Elektrodenvorgang über 2 Volt. Das Amalgam geht dort anodisch in die Lösung. Es ist natürlich wahr,

dass bei der Oszillographie die Bedingungen verschieden sind. Wir hatten die Erscheinung jedenfalls nur in ammoniakalischen Lösungen beobachtet.

J. SZONNTAGH: Sind diese Ergebnisse veröffentlicht worden?

J. HEYROVSKÝ: Nein, diese Erfahrungen wurden nicht publiziert.

THE POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF GALLIUM

J. Szonntagh and *J. Rozmanith*

(Institute of Analytical Chemistry, University of the Chemical Industry, Veszprém)

Summary

According to ZELTZER and CHALLENGER, various difficulties are met at the determination of gallium, mainly due to the gallium wave being superimposed by the hydrogen wave. The authors studied among others also the influence of pH values on the diffusion current and found that the wave height of gallium is constant in the pH range 5,35—6,35 whereas at lower pH values the gallium wave attains a greater height and inversely. In the lack of an adequate buffer solution, the acidic solution may be adjusted to about pH 5,4 by potassium hydroxide in the presence of an indicator mixture prepared of 1 portion of methyleneblue and 2 portions of methylred. In this range of pH values the hydrogen wave does not interfere and the results are of better reproducibility.

Jenő SZONNTAGH
Frau Jolán S. ROZMANITH } Veszprém, Schönherz Z. u. 12.

POLAROGRAPHISCHES VERHALTEN UND BESTIMMUNGSMÖGLICHKEITEN EINIGER ANORGANISCHER STICKSTOFFVERBINDUNGEN

J. Mašek

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Einführung

Stickstoffverbindungen bilden in der anorganischen Polarographie eine besondere Gruppe, die vom theoretischen Standpunkt aus beachtenswert und vom analytischen Standpunkt wichtig ist. Die theoretische Merkwürdigkeit dieser Stoffe liegt darin, dass es sich bei den Elektrodenreaktionen dieser Verbindungen meistens um Mehrelektronenübergänge handelt, die als eine Reihe konsekutiver Reaktionen angesehen werden müssen. Die Gesamtreaktionen zeichnen sich dann durch eine ausgesprochene Irreversibilität des Elektrodenprozesses aus, ferner durch eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Änderungen der Zusammensetzung des Grundelektrolyten und durch Anomalien, wie z. B. die Diskontinuität und Hysteresis an den Strom-Spannungskurven von Nitraten, Nitriten und Hydroxylamin. Obwohl diese Eigenschaften der Elektrodenprozesse für anorganische Stickstoffverbindungen nicht spezifisch sind, stellen diese Stoffe ein sehr geeignetes Material für ihr Studium dar. Vom Standpunkt der analytischen Chemie ist das polarographische Verhalten dieser Verbindungen von grosser Wichtigkeit, weil auf diesem Gebiet die polarographische Methode in den meisten Fällen die einzige direkte Bestimmungsmöglichkeit darbietet. Die polarographische Bestimmung dieser Verbindungen hat noch einen weiteren Vorteil, und zwar eine ausserordentliche Empfindlichkeit infolge der Mehrelektronenübergänge bei den Elektrodenreaktionen.

Die einzelnen Verbindungen, deren polarographisches Verhalten in dieser Übersicht diskutiert werden soll, sind Nitrate, Nitrite, salpetrige Säure, Oxyde des Stickstoffs, Hydroxylamin und Hydrazin. Diese Verbindungen lassen sich ihrer polarographischen Verwandtschaft nach in 3 Gruppen einteilen :

I. Nitrate und Nitrite
II. Salpetrige Säure und Oxyde des Stickstoffs
III. Hydroxylamin und Hydrazin.

I. Nitrate und Nitrite

Nitrate und Nitrite verhalten sich polarographisch auf zweierlei Weisen: einerseits unterliegen sie unter gewissen Bedingungen einer direkten kathodischen Reduktion, andererseits können sie einen katalytischen Effekt auf die Elektroreduktion anderer Stoffe, z. B. der Uranylionen ausüben, was sich durch eine wesentliche Erhöhung der entsprechenden polarographischen Stufe kenntlich macht. Die beiden Äusserungen der Nitrat- und Nitritionen werden nachfolgend getrennt besprochen.

Die beiden Anionen wurden bis zum Jahre 1932 für polarographisch inaktiv gehalten, weil sie in den üblichen Grundlösungen, d. h. KCl oder NaCl, keine depolarisierende Wirkung ausüben. Erst die Arbeiten von TOKUOKA und RUŽIČKA [1—3] haben gezeigt, dass Nitrate und Nitrite eine polarographische Stufe ergeben, deren Höhe, Gestalt und Lage an der Potentialachse von der Natur, Ionenstärke und pH des Grundelektrolyten stark abhängig ist. Die Stufen von Nitraten und Nitriten koinzidieren und unterscheiden sich nur durch verschiedene Höhen, was durch den verschiedenen Elektronenverbrauch bei der Elektrodenreaktion verursacht ist. Den merkwürdigsten Einfluss auf die Reduktion von Nitraten und Nitriten hat die Wertigkeit der Kationen des Grundelektrolyten: in Gegenwart von einwertigen Kationen ist entweder überhaupt keine Depolarisation zu bemerken, wie z. B. bei Natrium- oder Kaliumionen, oder es bildet sich eine undeutliche Stufe mit dem Halbstufenpotential von etwa $-2{,}1$ V gegen ges. KE bei $(CH_3)_4N^+$-oder Li^+-Ionen. In Anwesenheit von zweiwertigen Kationen bildet sich schon eine gut ausgeprägte Stufe mit dem Halbstufenpotential von etwa $-1{,}8$ V, deren Höhe aber bei gleicher Konzentration wesentlich kleiner ist als diejenige in Gegenwart von dreiwertigen Kationen, wo das Halbstufenpotential ungefähr $-1{,}2$ V beträgt. Während der Einfluss der Kationenwertigkeit vorherrschend ist, zeigen sich darüber hinaus individuelle Salzeinflüsse [4]. Im allgemeinen wirkt die steigende Ordnungszahl des Zusatzkations begünstigend auf die Nitrat- oder Nitritreduktion. Neben möglichen Einflüssen von Ionenradius und Hydratationsgrad ist noch der Einfluss auf die Reduzierbarkeit durch die infolge verschiedenen Hydrolysegrades sich einstellende Wasserstoffionenkonzentration gegeben. Letzterer Einfluss macht sich besonders bei den Kurven in Lösungen von dreiwertigen Kationen bemerkbar. Dies ist auch der Grund, warum man bei den analytischen Arbeiten zum Hervorrufen der Nitrat- oder Nitritstufe Salze seltener Erden und von diesen meistens Lanthansalze benützt, denn von den dreiwertigen Kationen unterliegen diese am wenigsten der Hydrolyse. In Gegenwart von dreiwertigen Kationen erreicht die Stufe der Nitrate und Nitrite hinsichtlich der Höhe und des Reduktionspotentials ihren Grenzwert, und eignet sich auch am besten zu analytischen Zwecken. Die Kurve in Anwesenheit von dreiwertigen Kationen unterscheidet sich von den üblichen polarographischen Stufen durch einen sehr steilen Stroman-

stieg, der in schwach sauren Lösungen in eine ausgesprochene Diskontinuität übergeht. Eine typische Kurve dieser Art sieht man in Abb. 1, Kurve 1. Am oberen Teil weist die Kurve einen zweiten Stromanstieg auf, der als die Reduktionsstufe von Hydroxylamin erklärt wird [5]. Kurve 2 zeigt, dass durch Zugabe

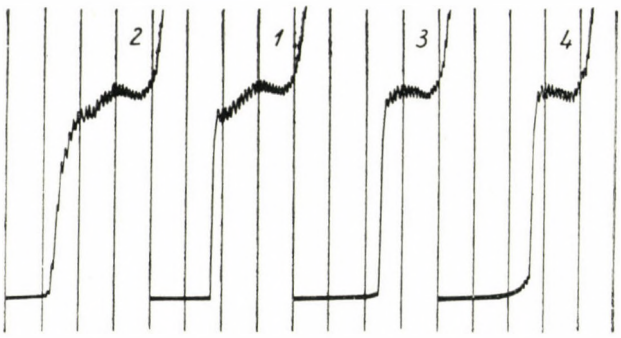


Abb. 1. Einfluss des pH-Wertes der Lösung auf die diskontinuierliche Reduktion der Nitrationen
(1) 15 ml 0,1m KCl + 1 ml 0,5m $LaCl_3$ + 0,15m $NaNO_3$
(2) 15 ml 0,1m KCl + 1 ml 0,5m $LaCl_3$ + 0,15m $NaNO_3$ + 0,1 ml 0,1n NaOH
(3) 15 ml 0,1m KCl + 1 ml 0,5m $LaCl_3$ + 0,15m $NaNO_3$ + 0,15 ml 0,1n HCl
(4) 15 ml 0,1m KCl + 1 ml 0,5m $LaCl_3$ + 0,15m $NaNO_3$ + 0,05 ml 0,1n HCl
Empfindlichkeit 1 : 70

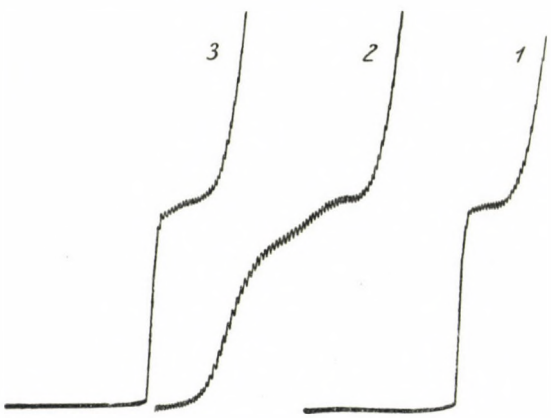


Abb. 2. Einfluss der Sauerstoffreduktion auf die diskontinuierliche Reduktion von Nitrationen
(1) 10^{-1}m $LaCl_3$, 10^{-3}m $NaNO_3$, N_2 durchgeleitet
(2) 10^{-1}m $LaCl_3$, 10^{-3}m $NaNO_3$, O_2 durchgeleitet
(3) 10^{-1}m $LaCl_3$, 10^{-3}m $NaNO_3$, N_2 durchgeleitet
Empfindlichkeit : 1 : 70

von Alkalihydroxyd die Diskontinuität verschwindet. Die weiteren Kurven 3 und 4 zeigen, dass durch allmähliches Ansäuern der Lösung sich das Potential der Diskontinuität zu negativeren Werten verschiebt und dass die Nitratreduktion erst dann vor sich gehen kann, wenn die Elektrodenoberfläche durch die Reduktion der Wasserstoffionen an diesen verarmt ist. Aus Abb. 2 sieht man,

dass die Diskontinuität völlig verschwindet und die Kurve die übliche exponentielle Gestalt bekommt, wenn die Elektrodenoberfläche durch vorangehende Reduktion von Sauerstoff alkalisiert wird. Eine weitere anomale Erscheinung, die mit der diskontinuierlichen Reduktion von Nitraten und Nitriten verknüpft ist, ist die sog. polarographische Hysteresis. Aus Abb. 3, die diese Erscheinung zeigt, sieht man, dass bei der Umkehrung der Aufnahmerichtung sich der steile Stromanstieg bei verschiedenen Potentialen befindet. Kurve 1 ist von positiveren zu negativen Potentialen registriert, Kurve 2 in umgekehrter Richtung. Bei der Ermittlung dieser Erscheinungen [6—11], auf die hier wegen ihrer Kompliziertheit verzichtet wird, ist man zur Lösung einer Frage gelangt, die für die allgemeine Polarographie von grosser Wichtigkeit ist. Früher hat man nämlich

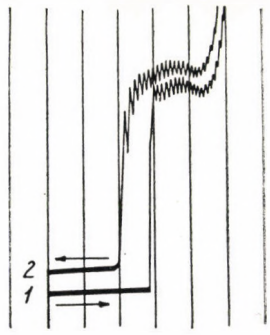


Abb. 3. Hysteresis der polarographischen Stufe
(1) $3 \cdot 10^{-2}$m $LaCl_3$, $6 \cdot 10^{-4}$m $NaNO_3$, registriert von positiveren zu negativen Potentialen
(2) $3 \cdot 10^{-2}$m $LaCl_3$, $6 \cdot 10^{-4}$m $NaNO_3$, registriert in ungekehrter Richtung
Empfindlichkeit 1 : 50

bei der Arbeit mit der Tropfelektrode vorausgesetzt, dass es keine Übertragung von Reaktionsprodukten von einem Tropfen zu dem nächsten gibt, d. h. dass die Prozesse, die sich an einem Tropfen abspielen, nicht durch die Prozesse am vorangehenden Tropfen beeinflusst sind. Bei der Interpretation der Diskontinuität und Hysteresis hat es sich aber gezeigt, dass eine solche Übertragung der Reaktionsprodukte von einem Tropfen auf den anderen existieren muss und diese Tatsache wurde auch in der letzten Zeit experimentell bewiesen [12—15].

Der grosse Einfluss der Kationenwertigkeit des Grundelektrolyten ist für die Elektroreduktion von Nitraten und Nitriten nicht spezifisch, sondern erstreckt sich auf eine Reihe von anderen Anionen. Doch bei Nitraten wurde dieser Einfluss eingehender studiert und es existieren für diese Erscheinung zwei extreme Erklärungsweisen :

1. Die Natur der mehrwertigen Kationen äussert sich vor allem in der Struktur der elektrischen Doppelschicht an der Grenzphase zwischen der Elektrode und der Lösung.

2. Die mehrwertigen Kationen ändern durch ihre Feldwirkung die Struktur der Anionen in der Lösung. Der Reduktion unterliegen ausschliesslich nur die deformierten Anionen.

Die letztere Hypothese findet ihre Begründung darin, dass zwischen der Reduzierbarkeit und der Verschiebung der Extinktionskurven von Nitraten in Lösungen von mehrwertigen Kationen eine Parallelität besteht [4, 16—18]. Beim näheren Studium dieser Abhängigkeit hat es sich aber gezeigt [19], dass im Konzentrationsgebiet der mehrwertigen Kationen, wo die Verschiebung der Extinktionskurven noch im Rahmen der experimentellen Fehler liegt, die Verschiebung des Reduktionspotentials schon einige Zehntel Volt beträgt. Daraus

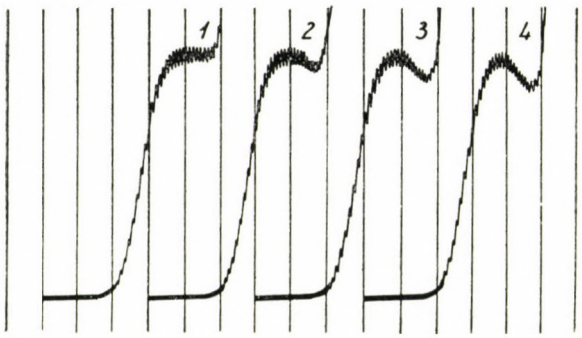


Abb. 4. Einfluss der Nitrationen auf die Wasserstoffreduktion

(1) 15 ml 0,1m KCl + 0,3 ml 0,1n HCl
(2) 15 ml 0,1m KCl + 0,3 ml 0,1n HCl + 0,05 ml 0,1n $NaNO_3$
(3) 15 ml 0,1m KCl + 0,3 ml 0,1n HCl + 0,05 ml 0,1n $NaNO_3$
(4) 15 ml 0,1m KCl + 0,3 ml 0,1n HCl + 0,05 ml 0,1n $NaNO_3$
Empfindlichkeit 1 : 50

geht hervor, dass die beträchtliche Erleichterung der Reduktion von Anionen in Gegenwart von mehrwertigen Kationen nicht durch strukturelle Änderungen der Anionen in der Lösung erklärt werden kann, sondern dass sie eher auf die Eigenschaften der Elektrodenzwischenphase zurückzuführen ist.

Die zweite Art, in der sich Nitrate und Nitrite polarographisch verhalten, ist ihre katalytische Einwirkung auf die Reduktion anderer Stoffe, z. B. Molybdat- [20, 21] oder Uranylionen [22—24]. In diesen Fällen handelt es sich um eine chemische Reaktion an der Oberfläche der Elektrode, nämlich um eine Oxydation des Produktes der Elektrodenreaktion durch Nitrate oder Nitrite. Der kinetische Charakter der entsprechenden polarographischen Stufe zeigt sich wohl aber nur bei einem grossen Überschuss von Nitrat- oder Nitritionen gegenüber den Katalysatoren, wo auch die Stufenhöhe der zweiten Wurzel aus der Konzentration dieser Anionen proportional ist. Dieses Verhalten ist im vollen Einklang mit der Theorie der katalytischen Ströme [25]. Bei vergleichbaren Konzentrationen des Katalysators und der Anionen bekommt die Stufe den

normalen Diffusionscharakter, was sich auch durch lineare Konzentrationsabhängigkeit in bezug auf Nitrate oder Nitrite äussert und was auf diese Weise eine einwandfreie Bestimmung beider Anionen ermöglicht.

An dieser Stelle ist noch zu erwähnen, dass Nitrate in saurer Lösung auch in Abwesenheit von mehrwertigen Kationen oder Katalysatoren eine depolarisierende Wirkung aufweisen. Diese Depolarisation macht sich aber nur durch das Entstehen eines Minimums an der Wasserstoffstufe sichtbar (Abb. 4), was durch Wasserstoffionenverarmung der Elektrodenoberfläche während der Reduktion der Nitrate erklärt wird [26].

Alle bisher beschriebenen Reaktionen von Nitraten und Nitriten sind irreversibel und sehr empfindlich gegenüber Änderungen der Zusammensetzung des Grundelektrolyten und des pH-Wertes der Lösung. Dies ist leicht erklärlich, weil es sich bei der Reduktion dieser Anionen nicht um eine einfache Elektrodenreaktion handelt, sondern die Gesamtreaktion ist wegen des Mehrelektronenaustausches als eine Reihe sehr schneller konsekutiver Reaktionen anzusehen, die ebenso chemischer wie elektrolytischer Natur sein können. Bei einigen dieser Reaktionen werden Wasserstoffionen verbraucht, was sich durch eine Empfindlichkeit der Diffusionsstromkonstante nicht nur auf das pH der Lösung, sondern auch auf Konzentrationsänderungen von Nitraten oder mehrwertigen Kationen äussert. Aus diesem Grunde unterscheiden sich auch wesentlich die Literaturangaben über die Elektronenzahl und die entsprechenden Reaktionsprodukte je nach den Bedingungen, unter welchen die Versuche durchgeführt wurden [1, 2, 22, 27—31]. Aus coulometrischen Versuchen, verbunden mit einer chemischen Bestimmung der Reaktionsprodukte wurde festgestellt [32], dass die Reduktion von Nitraten immer mehrere Reaktionsprodukte liefert, deren Verhältnis sich je nach den Versuchsbedingungen ändert. Die ganz überwiegenden Produkte sind Hydroxylamin und Ammoniak.

Die polarographischen Bestimmungsmethoden von Nitraten und Nitriten machen von beiden Reaktionen dieser Anionen an der Quecksilbertropfelektrode Gebrauch : die direkte Reduktion in Anwesenheit von mehrwertigen Kationen sowie die katalytische Reaktion in Anwesenheit von Katalysatoren. Zum Hervorrufen der Stufe, die der direkten Reduktion beider Anionen entspricht, benützt man wegen ihres kleinen Hydrolysegrades Salze seltener Erden und von diesen am meisten $LaCl_3$. Als Katalysator eignen sich am besten Uranylionen. Bei beiden Methoden koinzidieren die Stufen von Nitraten und Nitriten, doch nach einfachen Operationen lassen sich beide Anionen nebeneinander bestimmen. Die Trennung kann entweder durch Ansäuern der Lösung durchgeführt werden, wodurch in Anwesenheit von Nitriten eine positivere Stufe entsteht [1, 3, 33—35, 51], oder man kann die Nitrite mittels Natriumazid zersetzen [30, 36] oder mit Wasserstoffperoxyd zu Nitraten oxydieren [31, 37]. Bei Verwendung von Molybdationen als Katalysatoren ist eine weitere Trennungsmöglichkeit dadurch gegeben, dass Nitrate nur die zweite, negativere

Stufe, während Nitrite die erste, positivere Stufe der Molybdationen erhöhen [20, 21]. Von den Stoffen, die die Bestimmung von Nitraten und Nitriten stören, sind hauptsächlich Sulfate, Fluoride und einigermassen auch Schwermetalle zu erwähnen. Es sind aber Methoden ausgearbeitet worden [38—41], die die Bestimmung der Nitrate und Nitrite auch in Gegenwart dieser störenden Stoffe ermöglichen. Auf diese Weise wurden besondere Methoden für die polarographische Bestimmung beider Anionen z. B. im Seewasser [40], im Trinkwasser [42], in Phosphatierungsbädern [43], in Sprengstoffen [44], im Blut und Harn [45, 46], in Feinchemikalien [37] und für die Bestimmung von kleinen Mengen von Nitraten in Natriumnitrit [36] ausgearbeitet. Im allgemeinen eignet sich für analytische Zwecke die katalytische Methode unter Verwendung von Uranylsalzen besser als die Methode, welche die mehrwertigen Kationen benützt, weil die erstere Methode weniger dem Einfluss der störenden Stoffe ausgesetzt ist und die Bestimmung in breiterem Konzentrationsbereich ermöglicht [47]. Für die Bestimmung von Nitraten und Nitriten in Abfallwässern bewährte sich auch eine Methode, die zum Hervorrufen der Stufe Zirkonylsalze benützt [48—50]. Alle diese Methoden zeichnen sich durch eine ausserordentliche Empfindlichkeit und Genauigkeit aus, welche die übrigen analytischen Bestimmungsmethoden von Nitraten und Nitriten weit übertrifft. Beide Anionen können polarographisch bis zu Konzentrationen der Grössenordnung 10^{-7}m bestimmt werden.

II. Salpetrige Säure und Oxyde des Stickstoffs

Durch Ansäuern der neutralen Lösungen von Nitrit zeigt sich eine Stufe mit dem Halbstufenpotential von etwa −1,0 V gegen die NKE. Abb. 5 zeigt die Gestalt der Nitritstufe in Gegenwart von $LaCl_3$ vor (Kurven 1 und 2) und nach (Kurven 3 und 4) dem Ansäuern der Lösung mit Essigsäure. Diese Stufe im sauren Medium wurde schon vor der Entdeckung der Nitrat- und Nitritreduktion an der Quecksilbertropfelektrode beobachtet. Da jedoch damals Nitrate, Nitrite und damit auch salpetrige Säure für polarographisch inaktiv gehalten wurden, wurde sie der Reduktion von Stickstoffmonoxyd (NO), das durch Zersetzung der salpetrigen Säure entsteht, zugeschrieben [51]. Erst in neuerer Zeit wurde festgestellt, dass das Stickstoffmonoxyd einer Reduktion mit dem Halbstufenpotential von −0,5 V gegen die NKE unterliegt [52, 53]. Die entsprechende Stufe verschwindet nach kurzer Berührung der Lösung mit dem Luftsauerstoff oder kurzem Durchleiten eines indifferenten Gases. Wird eine saure Grundlösung mit Stickstoffmonoxyd gesättigt, so entsteht eine zweite Stufe mit dem Halbstufenpotential von etwa −1,0 V, die sich nicht nur im Halbstufenpotential, sondern auch in allen anderen Eigenschaften identisch mit der in sauren Lösungen von Nitriten entstehenden Stufe erweist [54]. Dieselbe Stufe bekommt man auch mit Stickstoffdioxyd (NO_2). Wie Abb. 6 zeigt, entsteht in gepufferten Lö-

sungen beim pH-Wert von etwa 4 noch eine weitere Stufe, in welche die positivere Stufe übergeht und die Summe erniedrigt sich mit steigendem pH gemäss einer Dissoziationskurve mit dem pH-Wert von 5,7. Dieses Verhalten weist darauf hin, dass es sich hier um eine stufenweise Reduktion der salpetrigen Säure mit entsprechender Rekombination handelt. Nach längerem Durchleiten eines indifferenten Gases erniedrigt sich auch diese Stufe bis zum völligen Verschwinden.

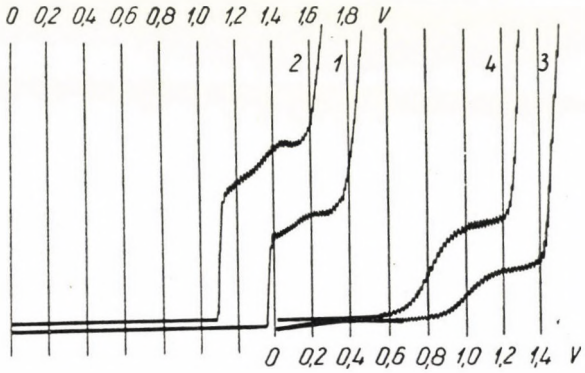


Abb. 5. Bestimmung von Nitraten und Nitriten. Zu 15 ml 0,1m $LaCl_3$ wurde zugegeben: (1) 1 ml 0,01m KNO_3 und (2) 1 ml 0,01m KNO_2. Dann wurde (3) 1 ml Eisessig und (4) weitere Menge von Nitrit zugefügt
Empfindlichkeit 1 : 400

Wie schon gesagt, lässt sich die Stufe mit dem Halbstufenpotential von −1,0 V zur Bestimmung von Nitriten in Gegenwart von Nitraten ausnützen. Ebenso kann diese Stufe zur Bestimmung von Stickstoffmonoxyd (NO), Stickstoffdioxyd (NO_2) und Stickstofftetroxyd (N_2O_4) dienen. Das Distickstoffoxyd (N_2O) ist polarographisch inaktiv und die übrigen Oxyde des Stickstoffs sind in der Gasphase bei Normalbedingungen von Druck und Temperatur unbeständig und setzen sich in die erwähnten Oxyde um. Wenn es sich um eine Bestimmung der Summe der Oxyde handelt, ist es vorteilhaft diese in einem Oxydationsmittel zu adsorbieren und als Nitrat polarographisch zu bestimmen [55].

Zu den oben erwähnten Stoffen lassen sich auch solche Verbindungen einreihen, die die NO- oder NO_2-Gruppe komplex gebunden enthalten, also das Nitroprussid und Komplexe ähnlicher Struktur. Alle diese, die NO- oder NO_2-Gruppe enthaltenden Verbindungen ergeben drei Stufen bei Potentialen, die vom pH abhängen [56—58]. Abb. 7 zeigt diese Stufen beim Nitroprussid. Die erste Stufe entspricht der Reduktion von NO^+ zu NO, die zweite Stufe der Reduktion von NO zu NO^- und die dritte Stufe der Reduktion von NO^- zu Hydroxylamin.

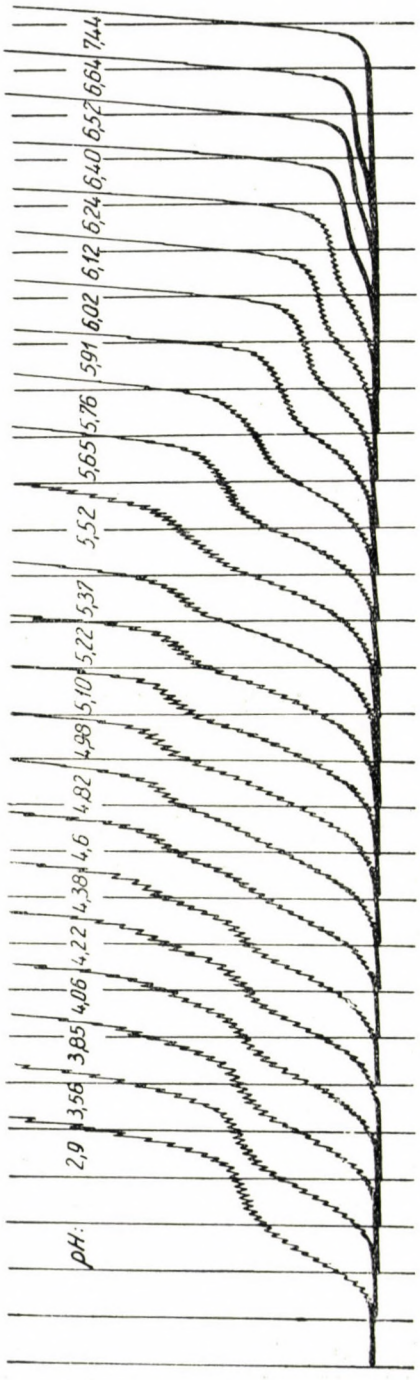


Abb. 6. Einfluss vom pH-Wert der Lösung auf die Nitritstufe in saurer Lösung. 10^{-3}m $NaNO_2$
Empfindlichkeit 1 : 150 in 10^{-1}m Veronal-Azetatpuffer

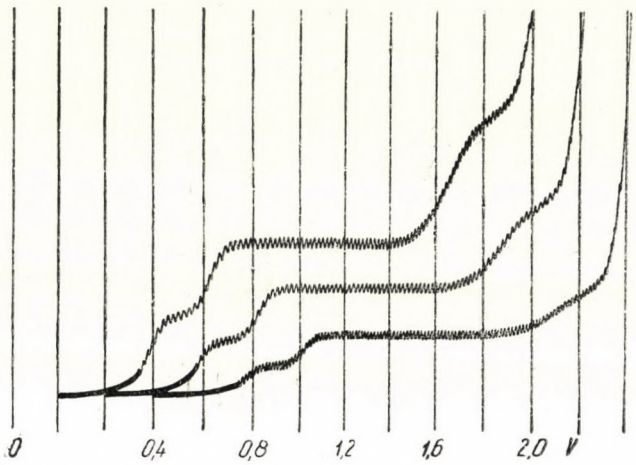


Abb. 7. Reduktionsstufen von Nitroprussid. BRITTON—ROBINSONscher Puffer von pH 8,1 Konzentration von Nitroprussid 2,0 ; 4,0 ; 6,0 · 10^{-4}m.
Empfindlichkeit 1 : 70

III. Hydroxylamin und Hydrazin

Hydroxylamin und Hydrazin sind die einzigen anorganischen Stickstoffverbindungen, die an der Quecksilbertropfelektrode oxydiert werden [59]. Die entsprechenden anodischen Stufen beider Stoffe koinzidieren und ihre Halbstufenpotentiale sind vom pH-Wert der Lösung abhängig. Im 4n Natriumhydroxyd ist das Halbstufenpotential von Hydroxylamin —0,43 V, das von Hydrazin —0,32 V gegen die NKE. Beide Stufen eignen sich zu analytischen Zwecken sehr gut und man kann auf diese Weise Hydroxylamin bis zu Konzentrationen von 10^{-6}m und Hydrazin bis zu Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-7}$m bestimmen. Handelt es sich um eine Bestimmung von Hydroxylamin in Gegenwart von Hydrazin, kann dazu die Reduktionsstufe von Hydroxylamin im gepufferten Medium verwendet werden [60, 61]. Diese Stufe eignet sich ebenso sehr gut zu analytischen Zwecken. Im ungepufferten Medium gibt Hydroxylamin 2 Stufen, deren Höhe vom pH der Lösung stark abhängig ist. Die negativere Stufe verschiebt sich mit steigender Wertigkeit der Kationen des Grundelektrolyten zu positiveren Potentialen und in Anwesenheit von dreiwertigen Kationen zeigt sie eine Diskontinuität, ähnlich wie die Nitrate und Nitrite [5].

*

Zum Abschluss dieser Übersicht kann gesagt werden, dass die Polarographie anorganischer Stickstoffverbindungen die Lösung einer Reihe analytischer Probleme ermöglicht hat, bei denen sich die übrigen chemischen und physika-

lisch-chemischen Methoden als ungenügend erwiesen haben. Dafür spricht auch die Tatsache, dass die Entwicklung der meisten polarographischen Methoden das Ziel verfolgte, für die Bestimmung dieser Stoffe ein besseres, nicht aber ein neues Bestimmungsverfahren zu finden, wozu sich die polarographische Methode völlig bewährt hat.

ZUSAMMENFASSUNG

Anorganische Stickstoffverbindungen bilden ein sehr geeignetes Material für das Studium einiger in der allgemeinen Polarographie wichtiger Fragen. Vom chemisch-analytischen Standpunkt aus stellt die Polarographie in den meisten Fällen für diese Verbindungen die einzige direkte Bestimmungsmethode dar. Mit Hinsicht auf diese Tatsachen wurde das polarographische Verhalten von Nitraten, Nitriten, salpetriger Säure, Stickstoffoxyden, NO- oder NO_2- haltigen Metallkomplexen, Hydroxylamin und Hydrazin beschrieben und auf ihre Bestimmungsmöglichkeit hingewiesen.

LITERATUR

1. M. Tokuoka : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **4**, 444 (1932).
2. M. Tokuoka und J. Růžička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **6**, 339 (1934).
3. M. Tokuoka : Mem. Fac. Sci. Agric. Taihoku Imp. Univ. **9**, 197 (1936).
4. L. Holleck : Z. physik. Chem. **194**, 140 (1944).
5. S. I. Zdanov und A. N. Frumkin : Докл. Акад. Наук СССР (Ber. Akad. Wiss. SSSR). **92**, 789 (1953).
6. J. Mašek : Proc. I. internat. polarograph. Congress, Prague III, 382, 386, 390 (1951).
7. J. Mašek : Chem. Listy **46**, 200 (1952); Chimija **3**, 385 (1952).
8. J. Mašek : Chem. Listy **46**, 385 (1952); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 583 (1953).
9. A. N. Frumkin und S. I. Zdanov : Докл. Акад. Наук СССР (Ber. Akad. Wiss. SSSR) **92**, 629 (1953).
10. A. N. Frumkin und S. I. Zdanov : Докл. Акад. Наук СССР (Ber. Akad. Wiss. SSSR) **96**, 793 (1954).
11. A. N. Frumkin und S. I. Zdanov : Докл. Акад. Наук (Ber. Akad. Wiss. SSSR) **97**, 867 (1954).
12. W. Hans, W. Henne und E. Meurer : Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **58**, 836 (1954).
13. I. Smoleř : Chem. Listy **47**, 1667 (1953), Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 238 (1954).
14. I. Smoleř : Chem. Zvesti **8**, 867 (1954).
15. I. Smoleř : Privatmitteilung.
16. L. Holleck : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **46**, 69 (1940).
17. L. Holleck : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **49**, 496 (1943).
18. L. Holleck : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **49**, 400 (1943).
19. Z. R. Grabowski und W. Turnowska : Roczniki Chem. [Ann. Soc. chim. Polonorum] **29**, 746 (1955).
20. M. G. Johnson und R. J. Robinson : Anal. Chem. **24**, 366 (1952).
21. D. Tung-Whei-Chow und R. J. Robinson : Anal. Chem. **25**, 1493 (1953).
22. I. M. Kolthoff, W. E. Harris und G. Matsuyama : J. Amer. Chem. Soc. **66**, 1782 (1944).
23. W. E. Harris und I. M. Kolthoff : J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1488 (1945).
24. J. Koryta : Chem. Listy **49**, 17 (1955).
25. J. Koutecký : Chem. Listy **47**, 9 (1953).
26. W. Kemula und Z. R. Grabowski : Sprawodania Posiedzen Towarzystwa naukowego Warsawskiego [C. R. Séances Soc. Sci. Lettres Varsovie CL. III.] **1951**, 78.
27. S. I. Sinjakowa und G. G. Karanowich : Trudy Komissii. Anal. Chim. Otdel. Chim. Nauk Akad. Nauk SSSR **2**, (V), 65 (1949).
28. Z. R. Grabowski : Roczniki Chem. (Ann. Soc. chim. Polonorum) **27**, 285 (1953).
29. L. Meites : J. Amer. Chem. Soc. **73**, 4115 (1951).
30. F. Kaufman, H. J. Cook und S. M. Davis : J. Amer. Chem. Soc. **74**, 4997 (1952).

31. B. KEILIN und J. W. OTVOS : J. Amer. Chem. Soc. **68**, 2665 (1946).
32. J. W. COLLAT und J. J. LINGANE : J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4214 (1954).
33. H. HOHN : Chemische Analysen mit dem Polarographen (Julius Springer, Berlin) 1937.
34. K. SCHWARZ : Z. anal. Chem. **115**, 161 (1939).
35. K. NAMBA und T. YAMASHITA : J. Explosive Industry Japan **13**, 151 (1952).
36. J. HASLAM und L. H. CROSS : J. Soc. Chem. Ind. **64**, 259 (1945).
37. G. H. OSBORN : Analyst **76**, 671 (1950).
38. JA. P. GOCHŠTEIN : Ж. прикл. хим. (Z. angew. Chemie) **10**, 521 (1937).
39. JA. P. GOCHŠTEIN : Ж. общ. хим. (Z. allg. Chemie) **10**, 1657 (1940).
40. D. TUNG-WHEI CHOW und R. J. ROBINSON : J. Marine Research **12**, 1 (1953).
41. G. CINQUINA : Chimica [Milano] **3**, 363 (1948).
42. R. AKANO, T. MATSUBARA, K. CHUDA und M. WATANABE : Mitt. med. Akad. Kyoto **21**, 1689 (1937).
43. D. BIGALLI und G. CINQUINA : Korrosion u. Metallschutz **19**, 282 (1943).
44. J. PEARSON und A. J. HOWARD : Analyst **74**, 182 (1949).
45. E. W. SCOTT und K. BAMBACH : Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **14**, 136 (1942).
46. E. W. SCOTT : J. Ind. Hyg. Toxicol. **25**, 20 (1943).
47. J. MASEK : Chem. Listy **46**, 683 (1952).
48. M. C. RAND und H. HEUKELEKIAN : Anal. Chem. **25**, 878 (1953).
49. W. A. LAWRENCE und R. M. BRIGGS : Anal. Chem. **25**, 965 (1953).
50. S. K. LOVE und L. L. THATCHER : Anal. Chem. **27**, 683 (1955).
51. J. HEYROVSKÝ und V. NEJEDLÝ : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **3**, 126 (1931).
52. L. RICCOBONI und P. LANZA : Ricerca sci. **18**, 1055 (1948).
53. L. RICCOBONI, P. LANZA und P. FAVERO : Atti Accad. naz. Lincei, Mem., Cl. Sci. fisiche, mat. natur., Sez. II. VIII/**3**, 1 (1950).
54. J. MAŠEK: Chem. listy **50**, 523, 651 (1956); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **21**, 1214, 1347 (1956).
55. J. CHOLAK und R. R. MCNARY : J. ind. Hyg. Toxicol. **25**, 354 (1943).
56. P. LANZA und A. CORBELLINI : Ricerca sci. **22** (Suppl. A), 127 (1952).
57. I. M. KOLTHOFF und P. E. TOREN : J. Amer. Chem. Soc. **75**, 1197 (1953).
58. P. ZUMAN und M. KABÁT : Chem. Listy **48**, 368 (1954).
59. S. VIVARELLI : Ann. Chimica **41**, 415 (1951).
60. F. PETRŮ : Chem. Listy **41**, 255 (1947).
61. Z. VODRÁZKA : Chem. Listy **45**, 293 (1951).

DISKUSSION

GY. BOR : Ich möchte — in Zusammenhang mit diesem interessanten Vortrag — fragen, ob die besprochene polarographische Methode zur Bestimmung des prozentuellen Verhältnisses der Dimerisation des Stickstoffdioxyds zu Distickstofftetroxyd geeignet sei?

J. MAŠEK : Da beide Verbindungen die gleiche Stufe, die Stufe der salpetrigen Säure liefern, können sie nicht unterschieden werden.

GY. BOR : Meine nächste Frage wäre, ob die Methode über die Struktur des Distickstofftetroxyds, die in der letzten Zeit viel bestritten wurde, und nach der Meinung einzelner Autoren als Nitrosylnitrat aufzufassen ist, Auskunft gibt? In der letzten Zeit wurde die diesbezügliche Arbeit von Prof. SZABÓ bekannt, in dem er den Standpunkt einer Ringstruktur vertritt, mit der Behauptung, dass die SEELsche Nitrosylnitrat-Auffassung eine Übergangsform sei. Kann diese Frage polarographisch entschieden werden?

J. MAŠEK : Diese Frage wurde polarographisch noch nicht untersucht, und weil uns im Gebiet der Polarographie der Nitrosylverbindungen sehr wenige experimentelle Angaben zur Verfügung stehen, ist es auch schwierig zu beurteilen, ob die polarographische Methode die Lösung dieser Strukturfrage ermöglicht.

GY. BOR: Wurde die Frage polarographisch untersucht, ob man in NO-haltigen Nitrosyl- oder Nitroso-Komplexen die rein koordinativen und die kovalent gebundenen NO-Gruppen unterscheiden kann? Also bei Verbindungen, wo nicht festgestellt werden kann, ob es sich um eine rein koordinative, eine kovalente oder um eine gemischte Bindung handelt?

J. MAŠEK: Das ist der Fall z. B. beim Nitroprussiat, wo die Bindung der NO-Gruppe fraglich war. Hier konnte man auf Grund der experimentellen Ergebnisse beweisen, dass das Eisen hier nicht nur formal, sondern tatsächlich in der zweiwertigen Form vorliegt und dementsprechend NO in der Form von NO^+ vorhanden ist. Der Vergleich der Reduktionsstufe dieser Verbindung mit der Stufe der Nitrosylschwefelsäure in 75 %-iger Schwefelsäure zeigt, dass die NO^+-Gruppe im Nitroprussiat wesentlich leichter reduziert wird als die freie NO^+-Gruppe aus der Nitrosylschwefelsäure. Die rein kovalenten Verbindungen wurden bisher nicht untersucht. Die Lösung auch dieser Frage bedarf noch weiterer Experimente.

GY. BOR: Könnten Sie eine Methode zur Untersuchung von völlig hydrophoben Verbindungen, wie z. B. Kobalttricarbonylnitrosyl vorschlagen? Diese Verbindung ist in Wasser unlöslich, löst sich aber in organischen Lösungsmitteln, auch in polaren (z. B. Alkohole). Wäre es möglich, die unbestimmte Bindungsart der NO-Gruppe festzustellen?

J. MAŠEK: Gewiss wird es möglich sein, ein geeignetes Medium für diese Versuche zu finden, doch ist es schwer diese Frage gleich zu beantworten und ich finde es zweckmässiger, dies in einer nachträglichen Besprechung zu diskutieren.

POLAROGRAPHIC BEHAVIOUR AND POSSIBILITIES OF DETERMINATION OF CERTAIN INORGANIC NITROGEN COMPOUNDS

J. Mašek

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

Inorganic nitrogen compounds represent substances extremely suited for the study of certain problems of importance in general polarography. From the point of view of chemical analysis, polarography is in the majority of cases the sole direct method of determining compounds of this type. With respect to these facts, the polarographic behaviour of nitrates, nitrites, nitrous acids, nitrogen oxydes, metallic complexes containing NO or NO_2 groups, hydroxylamine and hydrazine is described and possibilities of their determination are discussed.

Dr. Jiří MAŠEK Praha I., Vlašská 9.

ÜBER DIE EINFLÜSSE DER ELEKTROLYTLÖSUNGEN BEI DER REDUKTION DER OXALSÄURE

J. KŮTA

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Bei den polarographischen Untersuchungen einiger Stoffe treten manchmal folgende Schwierigkeiten auf: 1. die Stufe ist schlecht entwickelt, so dass sie zu quantitativen Messungen unbrauchbar ist, 2. es sind mehr Diffusionsstufen als dies dem Elektrodenvorgang entsprechen würde, 3. man kann überhaupt keine Stufe erhalten, obwohl die Reduzierbarkeit vorausgesetzt ist.

Die eben erwähnten Fälle können oft durch eine geeignete Wahl der Zusammensetzung der Lösung vermieden werden. Dem Einfluss der Grundlösung wurde in der letzten Zeit erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet.

Zu den auf die Zusammensetzung der Lösung wirkenden Einflüssen können die folgenden Faktoren beitragen [1, 2]: 1. die Zusammensetzung der Pufferlösung, 2. der Zusatzelektrolyt, 3. das Lösungsmittel und 4. die Maximadämpfer.

Die letzten zwei Faktoren wollen wir ausser Betracht lassen. Die Wirkung des Lösungsmittels [3] ist ziemlich kompliziert. In vielen Fällen kommt man jedoch mit den wässrig-alkoholischen Lösungen aus, wo die Halbstufenpotentiale gewöhnlich zu negativeren Werten [4] verschoben werden. Über den Einfluss der Maximadämpfer und der anderen adsorptiven Stoffe, die in grösseren Konzentrationen sowohl die Halbstufenpotentiale als auch die Kurvengestalt beeinflussen können, wurde neuerdings sehr ausführlich referiert [5]. Für die praktische Untersuchung wird empfohlen, geringe Konzentrationen der Maximadämpfer zu benützen.

1. *Der Einfluss der Pufferlösung.* Beim Studium der organischen Stoffe spielt die Verwendung einer Pufferlösung eine wichtige Rolle. Da bei den meisten organischen Stoffen ihr Halbstufenpotential von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt, ist es nötig gut gepufferte Lösungen zu benützen, um einen konstanten pH-Wert in der Umgebung der Elektrode, wo entweder Wasserstoffionen verbraucht oder Hydroxylionen freigemacht werden, sicherzustellen.

Bei den reversiblen Elektrodenprozessen weist die Kurve der Abhängigkeit der Halbstufenpotentiale von den pH-Werten eine thermodynamische Neigung auf. Dabei geben die Schnittpunkte der linearen Teile dieser Kurve die entsprechenden Dissoziationskonstanten der oxydierten und reduzierten

Formen an. Im Falle der irreversiblen Reduktion weicht meistens die Kurve der Abhängigkeit der Halbstufenpotentiale vom pH-Wert von der thermodynamischen Neigung ab. Der Einfluss des pH-Wertes macht sich auch durch die Entstehung von zwei Stufen, die der nichtionisierten und der dissoziierten Form gehören, geltend.

In nicht- oder ungenügend gepufferten Lösungen kann sich die reversible Redoxstufe in zwei Stufen spalten, wie zum erstenmal von MÜLLER [6] beim System Chinon-Hydrochinon beobachtet und von KOLTHOFF und ORLEMANN [7] berechnet wurde. Bei manchen irreversiblen Reduktionen treten in nichtgepufferten oder wenig gepufferten Lösungen mehrere Stufen auf, was auf die Verarmung der Wasserstoffionen in der Umgebung der Elektrode zurückzuführen ist und mathematisch erfasst werden kann [8—10]. So liefert z. B. Azobenzol [8, 9] in wenig gepufferten Lösungen zwei Stufen, obwohl in gut gepufferten Lösungen nur eine einzige erscheint [11—13].

Die benützten Pufferlösungen sollen genügend schnell das Dissoziationsgleichgewicht in der Umgebung der Elektrode einstellen, was bei den meisten Pufferlösungen der Fall ist. Nur die Bikarbonatpufferlösungen reagieren an der Elektrode nicht genügend schnell [2], um den konstanten pH-Wert in der Zwischenphase der tropfenden Elektrode aufrecht zu erhalten. Die Pufferlösungen sollen so gewählt werden, dass der studierte pH-Bereich im Intervall $pK_a + 1$ und $pK_a - 1$ liege, wo pK_a den negativen Logarithmus der Dissoziationskonstante der pH-bestimmenden Säure angibt.

Jetzt tritt noch die Frage hinzu, wie gross die Konzentration des Puffers gegenüber der des Depolarisators sein soll. Nach ELVING und TEITELBAUM [14] ist das Verhältnis 100 : 1 des Puffers zum Depolarisator bei der Reduktion der Maleinsäure noch nicht ausreichend. Diese Behauptung wurde jedoch auf Grund der Änderungen der Halbstufenpotentiale mit der Konzentration der Pufferlösung aufgestellt, so dass sie nicht überzeugend zu sein scheint. Aus dem Studium der Rekombination der reduzierbaren Säuren [15, 16, 17] geht hervor, dass das Konzentrationsverhältnis der Pufferlösung und des Depolarisators 50 : 1 oder sogar 20 : 1 imstande ist, einen konstanten pH-Wert in der Umgebung der Elektrode aufrechtzuerhalten.

Bei grosser Konzentration der Pufferlösung (>0,2m) oder des Zusatzelektrolyten ist es nötig, die Entstehung von Maxima II. Art zu vermeiden. Dazu genügt es gewöhnlich, eine Kapillare mit kleiner Ausströmungsgeschwindigkeit (unter 2 mg/s) und grösserer Tropfzeit (> 3s) zu wählen. In so konzentrierten Pufferlösungen kommt es oft zu einer Verschiebung der Halbstufenpotentiale zu positiveren Potentialen bei demselben pH-Wert. So wird das Halbstufenpotential der Stufe der Brenztraubensäure [18] in Phosphatpuffer vom pH 10,6 um 100 mV positiver, wenn die Konzentration des Puffers vom 0,05m auf 1m gesteigert wird. Die zwei Stufen der Maleinsäure bei pH 5,9 verschmelzen bei steigender Konzentration der Pufferlösung [14] oder des Zusatzelektrolyten

miteinander. Dagegen gibt die Fumarsäure [19], die im 0,1m Acetatpuffer vom pH 5,9 nur eine einzige Stufe aufweist, im 1m Acetat- oder Phosphatpuffer zwei Stufen.

Bei demselben pH-Wert kann das Halbstufenpotential je nach der Qualität des Puffers variieren, wie dies z. B. beim Nitromethan und Nitroäthan [20] gezeigt wurde.

In besonderem Masse kommt die Wirkung der Konzentration der Pufferlösung und der Ionenstärke bei den Halogenderivaten der Essigsäure [21—24] zur Geltung.

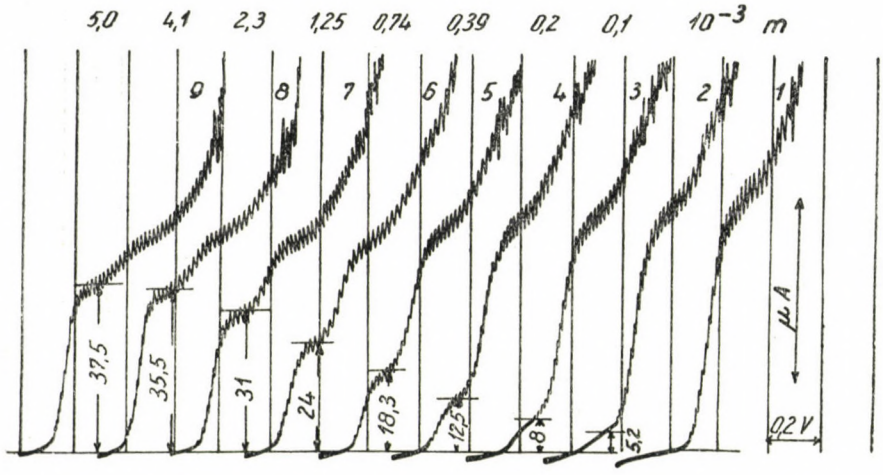


Abb. 1. Der Einfluss der Borsäure auf die Reduktionsstufe des Thujaplicins im Phosphatpuffer pH 7,4

Man darf nicht vergessen, dass in manchen Fällen die Bestandteile der Pufferlösung mit dem Depolarisator reagieren können. Hierher gehören vor allem die besonders interessanten und theoretisch erforschten Reaktionen der Carbonylverbindungen mit Ammoniak und anderen Aminen [25—30], was die Entstehung einer positiveren Stufe zu Folge hat.

Die Borsäure, die oft als Pufferkomponente dient, bildet Komplexe mit den Stoffen, die benachbarte Hydroxygruppen besitzen. Dies wurde zum ersten Mal beim Kolchicein [31] und Thujaplicin [32] (Abb. 1) durch die Bildung einer positiveren Stufe festgestellt, was auch bei Tropolonderivaten [33] und Juglon [34] beobachtet wurde. Degegen sinkt die erste Stufe des Ninhydrins [35] (Abb. 2) mit der Konzentration der Borsäure infolge der Komplexbildung. Aus der Abnahme der Benzilstufe [36] mit der Konzentration des Borations war es möglich, die Gleichgewichtskonstante der Komplexbildung sowie auch die Geschwindigkeitskonstanten dieser Reaktion zu berechnen. Das Verschwinden der ersten Stufe des Thenoylfluoroacetons [37] im Boratpuffer wird ebenfalls

der Komplexbildung zugeschrieben. Der Komplex der Jodphthalsäure in ammoniakalischer Pufferlösung ist eher vorausgesetzt als bewiesen [38].

Die Pufferkomponenten (Borate, Phosphate) können bei den Derivaten der Anthrachinone [39, 40] die Semichinone stabilisieren, so dass die Reduktion in zwei abgetrennten Stufen verlaufen kann.

2. *Der Einfluss der Zusatzelektrolyte.* Der Zusatzelektrolyt kann mit seinem Kation oder Anion oder mit beiden zusammen wirken. Die komplexbildende Wirkung der Anionen wird mit Erfolg in der Polarographie der Metallkationen ausgenützt.

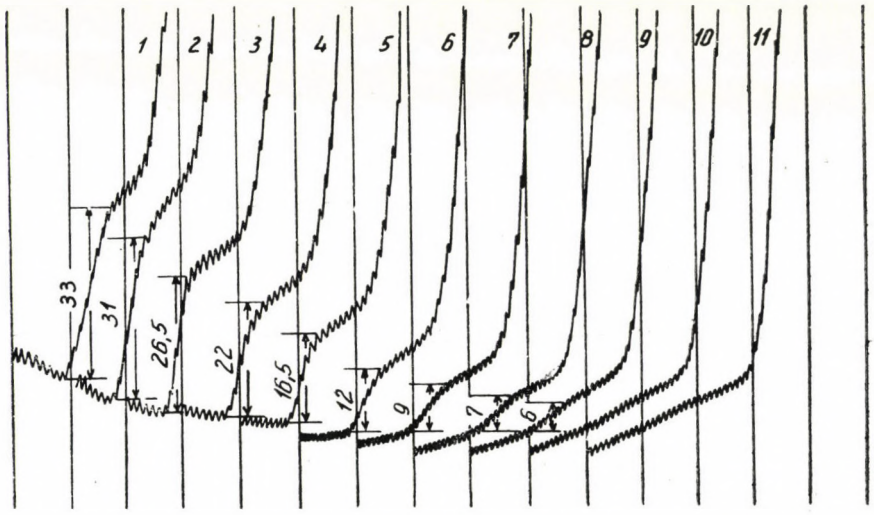


Abb. 2. Die Abhängigkeit der Stufe des Ninhydrins von der Konzentration der Borsäure im Phosphatpuffer. $1{,}25 \cdot 10^{-4}$m Ninhydrin, 0,4m Na_2SO_4, $3 \cdot 10^{-2}$m Pufferlösung pH 9,5. Konz. der Borsäure 1) 0; 2) $1 \cdot 10^{-5}$m; 3) $4 \cdot 10^{-5}$m; 4) $8 \cdot 10^{-5}$m; 5) $16 \cdot 10^{-5}$m; 6) $30 \cdot 10^{-5}$m; 7) $50 \cdot 10^{-5}$m; 8) $70 \cdot 10^{-5}$m; 9) $100 \cdot 10^{-5}$m; 10) $200 \cdot 10^{-5}$m; 11) $400 \cdot 10^{-5}$m

Sehr interessant sowohl vom theoretischen als auch vom praktischen Standpunkt ist der Einfluss der Kationen auf die Reduktion vieler organischer Stoffe und der Anionen.

So verursacht die Benützung von mehrwertigen Kationen eine erhebliche Verschiebung zu positiveren Potentialen der Anionstufen, die manchmal so negativ liegen, dass sie sogar mit der Abscheidung der Grundlösung zusammenfliessen. In Pufferlösungen mit Calciumchlorid war es möglich, die Stufen der Anionen der Phthalsäure [15], der Picolin- und Isonicotinsäure [16] zu erhalten.

Auf die Wirkung der deformierbaren und mehrwertigen Kationen (Cs^+, Rb^+, NH_4^+, Ca^{2+}, Ba^{2+}) bei der Reduktion der Carbonylverbindungen wurde zum erstenmal von ASHWORTH [41] hingewiesen (Abb. 3). In einer alkalischen Lösung wächst die erste Stufe auf Kosten der zweiten Stufe bei Anwesenheit dieser Kationen in folgender Reihe: Ca^{2+}, Ba^{+2}, NH_4^+, und die Ionen der

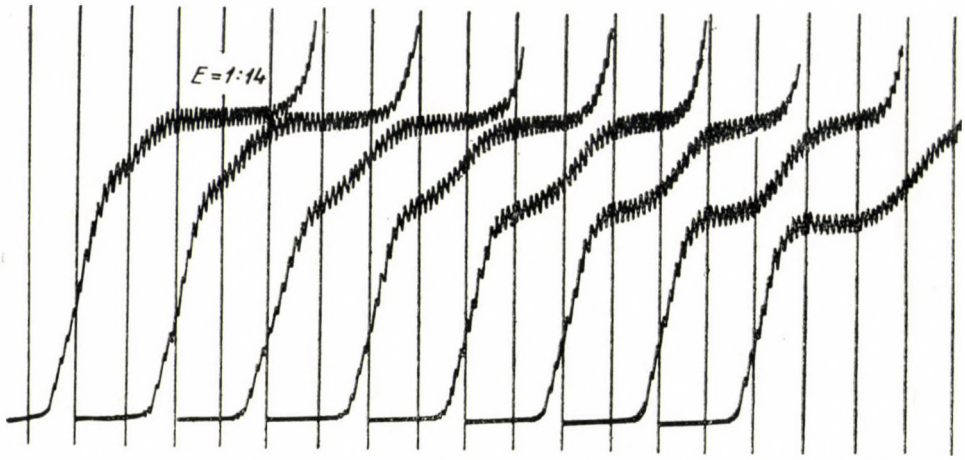


Abb. 3. Der Einfluss von Cs^+ auf die zweite Stufe des Benzophenons in NaOH

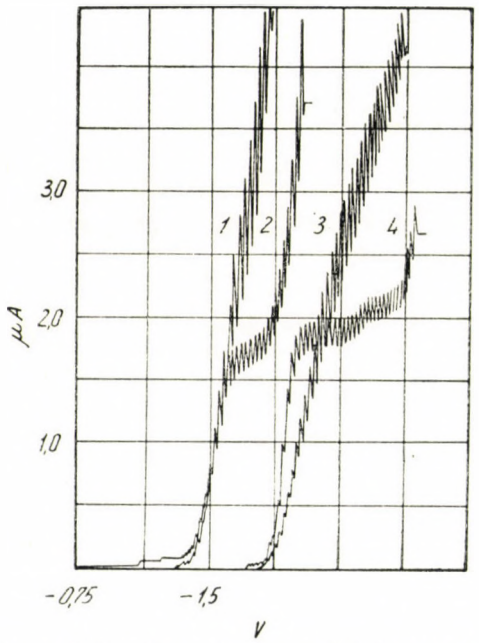


Abb. 4. Die Reduktionsstufe des Cyclooctatetraens bei Anwesenheit von $(CH_3)_4NBr$. 0,001m Cyclooctatetraen in 50% Äthanol. 1. in 0,05n NH_4NO_3; 2. + 50 Vol.% 0,1m $(CH_3)_4NBr$; 3. 0,05n NaOH; 4. + 50 Vol.% 0,1m $(CH_3)_4NBr$

Alkalimetalle in sinkender Reihe ihrer Atomgewichte. Die Reihenfolge variiert teilweise mit der Natur der Carbonylverbindung. Das Halbstufenpotential der negativeren Stufe verschiebt sich zu positiveren Potentialen einerseits mit der steigenden Konzentration des Kations, andererseits mit der Natur des Kations

(bei Alkalimetallen mit steigendem Atomgewicht). Bei einigen Carbonylverbindungen, wie bei Desoxybenzoin, Benzaldehyd [41], erscheint die zweite Stufe in Kaliumhydroxydlösung erst nach der Zugabe von Cs^+, bei Fural [42] nach Zugabe von Ca^{2+}. Die Wirkung dieser Kationen wird der Bildung von metallischen Ketylen [41—43] zugeschrieben.

In einigen Fällen ist die Anwesenheit des Kations unentbehrlich, um messbare Stufen zu erhalten. So bei der Reduktion des Cyclooctatetraens [44] ist nur eine gut entwickelte Stufe bei Anwesenheit des Tetramethylammoniumions zu beobachten (Abb. 4). Ein ähnlicher Einfluss kommt auch bei der Reduktion der Halogenderivate zur Geltung, was besonders im Falle der Reduktion des p,p'-Dichlordiphenyltrichloräthans bewiesen wurde [45].

In diesem kurzen, unvollständigen Überblick wurde die Rolle der Zusammensetzung der Lösung auf die Gestalt der polarographischen Kurve gezeigt. Obwohl die theoretische Deutung der beschriebenen Einflüsse, ausser bei einigen Versuchen [46], noch nicht klar gelegt ist, sind diese Erscheinungen von grosser praktischer Bedeutung.

Ein praktisches Beispiel bietet die vorliegende experimentelle Arbeit über die Oxalsäure, wobei manche hier beschriebenen Faktoren mit Erfolg ausgenützt werden konnten, da trotz einiger Versuche [47—51] bisher über die Reduktionsstufe der Oxalsäure fast nichts veröffentlicht wurde.

Übersicht der Ergebnisse mit Oxalsäure

In 0,1m Phospat- oder Citratlösungen vom pH 2 bis 3 oder in 10^{-2} bis 0,1m HCl-Lösung ohne Zusatzelektrolyt sind keine messbaren Stufen bis zur Konzentration der Oxalsäure von 10^{-2}m zu beobachten.

Wenn jedoch Kaliumchlorid zugegeben wird und seine Konzentration grösser als 1n ist, verschiebt sich die Stufe der Oxalsäure zu positiveren Potentialen, die Kurve wird steiler und gut messbar (Abb. 5).

Die Stufenhöhe wächst bei konstantem pH-Wert proportional der analytischen Konzentration der Oxalsäure. Da die Reduktion der Oxalsäure dicht vor der Wasserstoffabscheidung aus der Pufferlösung erfolgt, sind gut ablesbare Stufen erst bei einer grösseren Konzentration der Oxalsäure ($> 2.10^{-3}$m) zu beobachten.

Bei einer grossen Konzentration des Zusatzelektrolyten (etwa 3n KCl), die bei diesen Experimenten benutzt werden musste, machen sich Maxima II. Art geltend. Sie äussern sich durch eine Erhöhung des Grenzstromes (um 10 bis 20%) und durch eine Strömung der Lösung und zwar zum Hals des Tropfens, besonders bei grösseren Quecksilbersäulehöhen. Es wurde jedoch festgestellt, dass bei der Reservoirhöhe : $h = 50$ cm, wo die Ausströmungsgeschwindigkeit : $m = 1{,}56$ mg/sec und die Tropfzeit : $t_1 = 3{,}8$ sec beträgt, praktisch keine Strö-

mung entsteht. Die zu den quantitativen Messungen benutzten Stufen wurden bei dieser Reservoirhöhe registriert.

Bis zur Konzentration von 0,004% übt Gelatine keinen besonderen Ein-

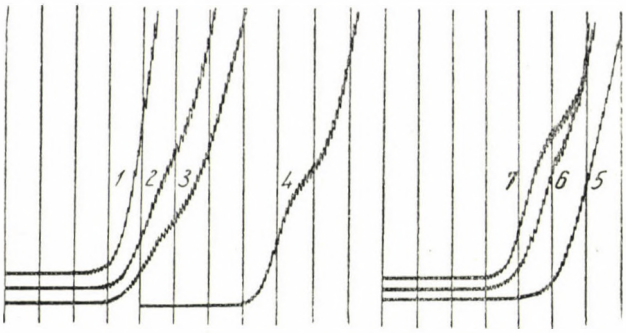


Abb. 5. Der Einfluss der Ionenstärke auf die Stufe der Oxalsäure. $8{,}3 \cdot 10^{-3}$m $(COOH)_2$, $2{,}5 \cdot 10^{-2}$m HCl, 0,08n KCl. 1) S = 1 : 100, 2) S = 1 : 300, 3) S = 1 : 500, 4) dasselbe + 2n KCl, S = 1 : 300, 5) 10 ml Citratpuffer pH 2,2, S = 1 : 300, 6) + 0,2 ml, 0,5m $(COOH)_2$, S = 1 : 300, 7) + 1 g KCl, S = 1 : 300. Von der 5. Windung, SKE 140 mV/Absz., h = 60 cm

fluss auf den Diffusionsstrom der Oxalsäure aus. Ist jedoch die Konzentration der Gelatine 0,02%, so verschwindet die Stufe der Oxalsäure.

Der Einfluss der Anionen und Kationen auf die Kurven der Oxalsäure

In 0,1n bis 1n Lösungen von Magnesiumchlorid bei pH etwa 2 sind die Stufen der Oxalsäure niedriger, gedehnter und zu negativeren Potentialen verschoben als in den entsprechenden Lösungen mit Kaliumchlorid. Nach Zugabe von Kaliumchlorid wird die Kurve steiler und gut messbar. Auch in Anwesenheit einer höheren Konzentration von Ammoniumchlorid sind die Stufen der

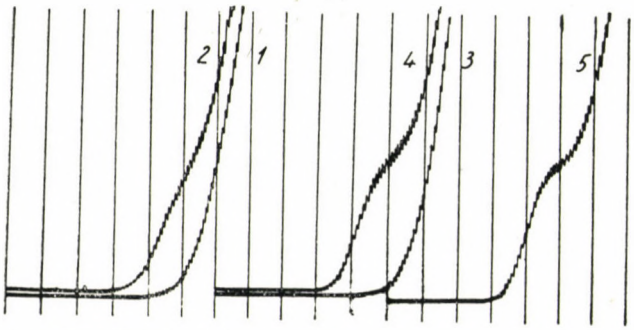


Abb. 6. Der Einfluss von NH_4Cl auf die Stufe der Oxalsäure. 1) $2{,}5 \cdot 10^{-2}$n HCl, 0,1n NH_4Cl; 2) + $8{,}3 \cdot 10^{-3}$m $(COOH)_2$; 3) $2{,}5 \cdot 10^{-2}$n HCl, 1n NH_4Cl; 4) + $8{,}3 \cdot 10^{-3}$m $(COOH)_2$; 5) $8{,}3 \cdot 10^{-3}$m $(COOH)_2$, $2{,}5 \cdot 10^{-2}$n HCl, 4n NH_4Cl. Von der 5. Windung. SKE 139 mV/Absz., S = 1 : 300, h = 60 cm

Oxalsäure gut ausgebildet (Abb. 6). Die Kurven in Kaliumbromidlösung als Zusatzelektrolyt stimmen mit denjenigen in der Chloridlösung überein. In Sulfaten erscheint die Stufe der Oxalsäure bei negativeren Potentialen, ist jedoch messbar.

Der Einfluss der Zusammensetzung der Pufferlösung

Gut messbare Stufen der 10^{-2}m Oxalsäure sind in den 0,04 m BRITTON-ROBINSONschen Pufferlösungen mit 2,7n KCl im pH-Bereich 2 bis 4,8 zu beobachten. Die Abhängigkeit der Stufenhöhe vom pH stellt eine deformierte Dissoziationskurve vor, die dem Wert von pK' 3,7 entspricht. Im Einklang mit der Arbeit von FLORIANOWITSCH und FRUMKIN [52], die Phosphatpufferlösungen benutzten (deren Konzentration sie leider nicht angeben), ist die Stufenhöhe der Oxalsäure bei pH $>$ 4 bereits ummessbar klein.

In 0,1m Citratpufferlösungen vom pH 2 bis 4,5 mit 2,7n KCl ist die Stufe der Oxalsäure nur bis zu pH 3 messbar. In 1m Acetatpuffer von pH 3,5—4 sind die Stufen sehr schlecht ablesbar, ähnlich auch in 0,2m Acetatpuffer, auch wenn 2,7n KCl anwesend ist.

Der Einfluss der Pufferkapazität

In Anbetracht der bedeutenden Konzentration des Depolarisators (10^{-2}m) reicht die gewöhnliche Konzentration der BRITTON—ROBINSONschen Pufferlösung nicht aus, den pH-Wert bei der tropfenden Quecksilberelektrode konstant zu halten. Dies wurde durch die Abhängigkeit der Stufenhöhe der Maleinsäure unter denselben Bedingungen wie bei der Oxalsäure bewiesen. Die entsprechende Dissoziationskurve ist bei vergrösserter Konzentration der Maleinsäure und bei derselben Konzentration des Puffers zu niedrigeren pH-Werten als in den gut gepufferten Lösungen [53] verschoben. Infolge des Verbrauches der Wasserstoffionen bei der Elektrodenoberfläche während des Elektrodenvorganges ist der pH-Wert an der Elektrode höher als im Inneren der Lösung.

Die Konzentration des BRITTON—ROBINSONschen Puffergemisches wurde also 5mal grösser (0,2m) gewählt, so dass die analytische Konzentration der Pufferlösung im Vergleich zur Konzentration des Depolarisators 20mal grösser war. Bei pH 4,5, wo die Stufenhöhe praktisch die Hälfte der Diffusionsstufe beträgt und wo eine pH-Veränderung die Stufenhöhe am meisten beeinflusst, wurde die Abhängigkeit der Stufenhöhe vom Verhältnis der Konzentration des Depolarisators und des Puffers geprüft. Es wurde gezeigt, dass bei zwanzigfachem Überschuss des Puffers die Stufe der Oxalsäure nicht mehr ansteigt. Somit wurde bewiesen, dass eine zwanzigfache Konzentration des Puffers im Vergleich zu der des Depolarisators imstande ist, den pH-Wert in der Umge-

bung der Elektrode konstant zu halten. Dieses Verhältnis ermöglicht auch die am besten messbaren Stufen zu erhalten.

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Stufenhöhe der Oxalsäure

In 0,2m BRITTON—ROBINSONschen Pufferlösungen, die noch 2,7n KCl enthalten, bleibt die Reduktionsstufe bis zu pH 3 unverändert. Dann sinkt die Stufenhöhe mit steigendem pH in Form einer Dissoziationskurve (Abb. 7 u.

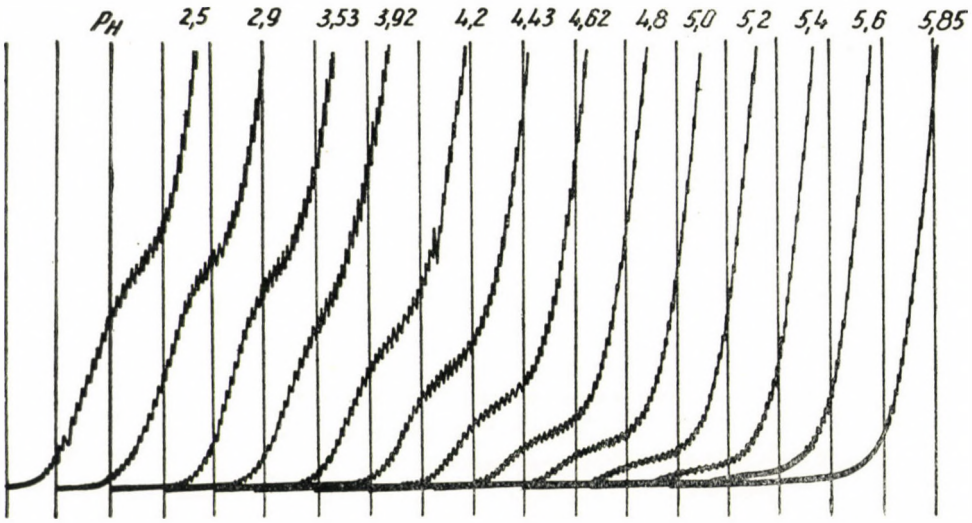


Abb. 7. Die Abhängigkeit des Grenzstromes der 10^{-2}m Oxalsäure vom pH-Wert. 0,2m BRITTON-ROBINSONscher Puffer, 2,7n KCl. Von der 8. Windung, 143 mV/Absz., h = 50 cm, SKE, $t_1 = 3{,}2$ s, t = 20,5°

Abb. 8, Kurve, 2), wobei die Stufe die Hälfte ihrer ursprünglichen Höhe bei pH 4,5 (= pK′) für die Tropfzeit 3,2 sec erreicht. Die Stufe ist bei pH-Werten grösser als 5,8 unmessbar klein.

Die Abhängigkeit der Stufenhöhe im pH-Bereich, wo sie ihren maximalen Wert erreicht, von der Quadratwurzel der Reservoirhöhe ist linear.

Durch Vergleich mit dem Diffusionsstrom der Fumar- und Maleinsäure wurde festgestellt, dass der Diffusionsstrom der Oxalsäure dem Verbrauch von 2 Elektronen entspricht. Unter Voraussetzung, dass der Diffusionskoeffizient des undissoziierten Moleküls der Oxalsäure dem Diffusionskoeffizienten des einwertigen Anions gleich ist, für den man aus der Ionenbeweglichkeit bei unendlicher Verdünnung den Wert $D_{HC_2O_4^-} = 1{,}07 \cdot 10^{-5}$ cm^2 · sec^{-1} erhält, kann man für den theoretischen, der zweiwertigen Reduktion entsprechenden Strom einen Wert berechnen, welcher nur um 6,8% niedriger als der experimentell gefundene ist.

Im pH-Intervall 4 bis 4,8, wo der Strom annähernd von 75% auf 25% herabsinkt, ist der Strom semikinetisch. Bei pH-Werten grösser als 5 ist der Strom bereits rein kinetisch (Abb. 9).

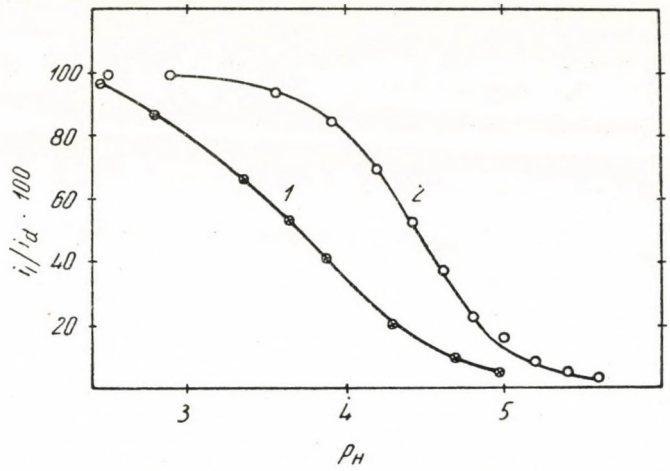


Abb. 8. Die Abhängigkeit des i_1/i_d vom pH-Wert. Kurve 1) 10^{-2}m $(COOH)_2$ in 0,04m BRITTON-ROBINSONschen Pufferlösungen 2,7n KCl. Kurve 2) theoretisch berechnet für $k_r = 5{,}5 \cdot 10^{-7}\,Mol^{-1}$. l. $s.^{-1}$. Die Punkte geben die experimentellen Werte für 10^{-2}m $(COOH)_2$ in 0,2m BRITTON-ROBINSONschen Puffern, 2,7m KCl an

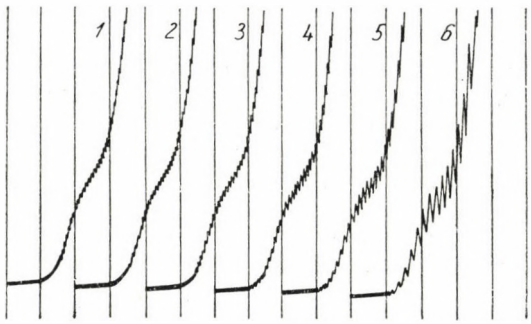


Abb. 9. Der Einfluss der Reservoirhöhe auf die Reduktionsstufe der Oxalsäure. BRITTON-ROBINSONscher Puffer pH 5,42, 2,7n KCl. h = 80, 70, 60, 50, 40, 25 cm. Von der 9. Windung, 143 mV/Absz., S = 1 : 30, t = 20,5°

Das Halbstufenpotential der Reduktionsstufe verschiebt sich von −1,390 V (SKE) bei pH 2,4 bis zu −1,550 V bei pH 4,4. Die durchschnittliche Verschiebung beträgt 80 mV/pH. Sobald die Höhe der Reduktionsstufe, die gemäss einer Dissoziationskurve absinkt, die Hälfte ihrer ursprünglichen Höhe erreicht, ändert sich das Halbstufenpotential mit der pH-Steigerung nicht mehr.

Der Einfluss der Temperatur

Der Temperaturkoeffizient des Diffusionsstromes bei pH 2,7 beträgt im Temperaturbereich −6 bis + 40° 2,2%, liegt also nahe dem Wert für die Diffusionsströme. Da bei der niedrigeren Temperatur die Wasserstoffüberspannung grösser ist, ist die Stufe bei der niedrigen Temperatur besser entwickelt und besser messbar (Abb. 10). Unter diesen Bedingungen ist natürlich der Unterschied zwischen dem Halbstufenpotential der Oxalsäure und dem Abscheidungspotential des Wasserstoffions grösser als bei Zimmertemperatur, wo die Wasserstoffstufe die Gestalt der Oxalsäurestufe verzerrt.

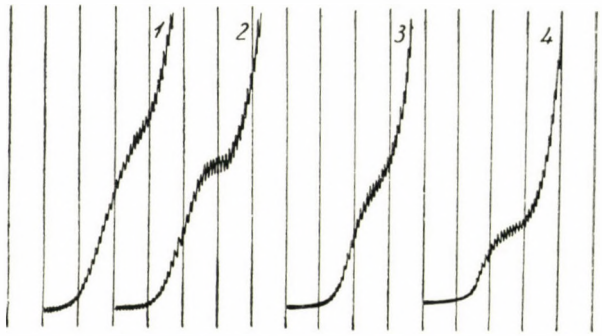


Abb. 10. Der Einfluss der Temperatur auf die Reduktionsstufe der Oxalsäure. 10^{-2}m $(COOH)_2$, 0,2m BRITTON-ROBINSONscher Puffer, 2,7n KCl
Kurve 1) pH 2,6, S = 1 : 300, t = 23° ; 2) pH 2,6, S = 1 : 200, t = —6° ; 3) pH 5,2 t = 23°, S = 1 : 50, 4) pH 5,2, S = 1 : 30, t = —6,5°. Kurve 1) und 2) von der 8. Windung, 3) und 4) von der 9. Windung, SKE, 142 mV/Absz., h = 50 cm

Für den kinetischen Strom der Oxalsäure bei pH 5,2 beträgt der Temperaturkoeffizient in dem erwähnten Temperaturbereich 5%. Der grössere Temperaturkoeffizient kann nicht nur durch den Einfluss der Temperatur auf die Rekombinationsgeschwindigkeit, sondern auch durch die Änderung des pH-Wertes mit der Temperatur verursacht werden.

Die Reduktion des einwertigen Anions der Oxalsäure

Unter den bisher beschriebenen experimentellen Bedingungen war es unmöglich die dem Anion der Oxalsäure entsprechende Reduktionsstufe in den Pufferlösungen auch bei 3n KCl-Zusatz zu erhalten. Dabei ist die Benutzung von mehrwertigen Kationen, die die Reduktionsstufen der Anionen zu positiveren Potentialen verschieben, dadurch erschwert, dass sie meistens unlösliche Niederschläge mit der Oxalsäure bilden.

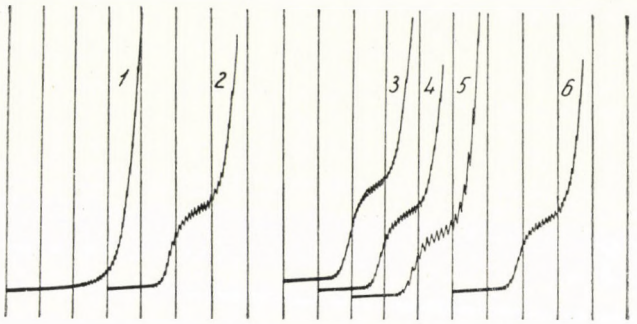


Abb. 11. Die Kurven des Anions der Oxalsäure in Anwesenheit von Lanthan(III)-chlorid **Kurve** 1) : Veronal-Acetatpuffer pH 7,2, $5{,}65 \cdot 10^{-4}$n $(COOH)_2$, h = 50 cm; 2) + 0,05 ml 0,1m $LaCl_3$, h = 50 cm ; 3) h = 80 cm, 4) h = 50 cm ; 5) h = 30 cm ; 6) = 2) nach 30 Minuten. Von der 9. Windung, S = 1 : 10, 145 mV/Absz.

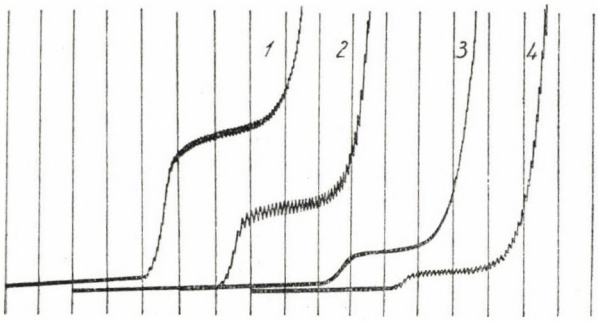


Abb. 12. Die Reduktionsstufen des Diäthyloxalats
$1{,}4 \cdot 10^{-3}$m $(COOC_2H_5)_2$, BRITTON-ROBINSONscher Puffer pH 7,2, 0,2n KCl
Kurve 1) h = 80 cm, 2) nach 10 Min. h = 50 cm, 3) nach 60 Min. h = 80 cm, 4) nach 70 Min. h = 50 cm. Von der 5. Windung, SKE, 140 mV/Absz., S = 1 : 40, t = 23°

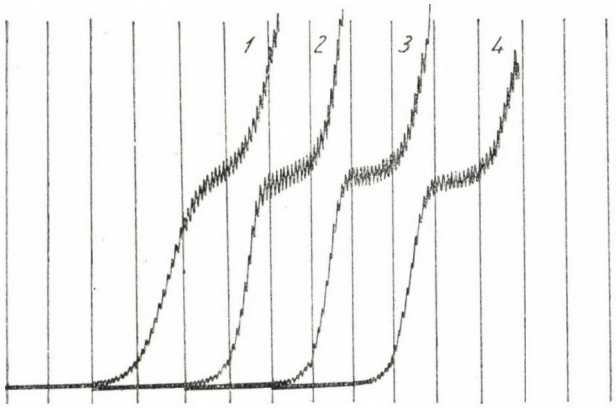


Abb. 13. Der Einfluss von KCl auf die Reduktionsstufe des Diäthyloxalats
1) $2 \cdot 10^{-3}$m $(COOC_2H_5)_2$, 0,1m Acetatpuffer pH 4,12 ; 2) dasselbe, 0,1n KCl ; 3) dasselbe, 0,5n KCl ; 4) dasselbe, 1n KCl. Von der 6. Windung, 140 mV/Absz., h = 50 cm

Bei Überschuss von Ba^{2+}-Ionen erscheint keine Stufe des Oxalates. Erst bei Anwesenheit von La^{3+}-Ionen in Veronal-Acetatpufferlösungen wurde eine besonders gut ausgebildete Stufe erhalten (Abb. 11). Es ist jedoch nötig, eine kleine Konzentration der Oxalsäure ($< 5{,}10^{-4}$m) zu benutzen, um das Ausfallen des Oxalates mit den La^{3+}-Ionen zu vermeiden. Jedoch sinkt die Stufe im Laufe der Zeit auch unter diesen Bedingungen und es zeigt sich eine weisse Trübung der Lösung.

Die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Resultate konnten theoretisch [17] erklärt werden.

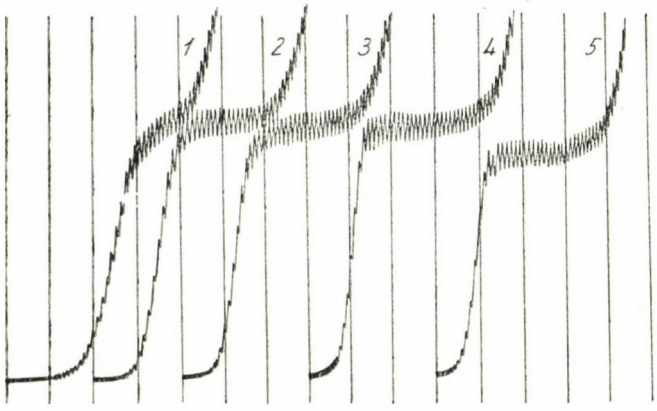


Abb. 14. Der Einfluss von $LaCl_3$ auf die Reduktionsstufe des Diäthyloxalats 1) $2 \cdot 10^{-3}$ m$(COOC_2H_5)_2$, 0,1m Acetatpuffer pH 4,4 ; 2) 10^{-4}m $LaCl_3$, 3) 10^{-3}m $LaCl_3$, 4) 10^{-2}m $LaCl_3$; 5) $5 \cdot 10^{-2}$m $LaCl_3$, $1{,}75 \cdot 10^{-3}$m $(COOC_2H_5)_2$. Von der 7. Windung. 140 mV/Absz., h = 50 cm

Die Reduzierbarkeit der Oxalsäure wurde auch oszillographisch bestätigt. Einen anderen Beweis bietet die Reduktion der Diester der Oxalsäure, die gut ausgebildete Diffusionsstufen aufweisen (Abb. 12). Dabei ist der Einfluss der Zusatzelektrolyte besonders interessant. Fügt man einem Acetatpuffer von pH 4,1 Kaliumchlorid zu, so wird die ursprünglich schlecht ablesbare Stufe steiler und der Grenzstrom gut messbar (Abb. 13). In grösserem Masse wirkt dabei Bariumchlorid und besonders Lanthanchlorid. So verschiebt sich das Halbstufenpotential des Diäthyloxalates in einer 2.10^{-3}m Lösung um 150 mV bei der Konzentration des La^{3+} von 10^{-4}m und bei der Konzentration 5.10^{-2}m sogar um 230 mV (Abb. 14). Der Einfluss von Al^{3+} ist jedoch kleiner, die Verschiebung beträgt bei den entsprechenden Konzentrationen des Al^{3+} 50 mV und 110 mV.

ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der Arbeit wurde der Einfluss der Zusammensetzung der Grundlösung auf das polarographische Verhalten einiger organischer Stoffe diskutiert. Es wurde vor allem die Wirkung der pH-Werte, der Pufferkapazität, der Pufferkomponenten und der Zusatzelektrolyte erwähnt. Dann wurde ein konkretes Beispiel der Reduktionsstufe der Oxalsäure, ihres Anions und ihrer Ester angegeben, wo sich der Einfluss der Zusammensetzung der Lösung im grossen Masse geltend macht.

LITERATUR

1. P. Zuman: Chem. Listy **48**, 94 (1954).
2. P. J. Elving, O. H. Müller, S. Wawzonek, M. J. Astle und L. Meites: Anal. Chem. **22**, 482 (1950).
3. H. Berg: Leybold Polarographische Ber. **2**, 260 (1954).
4. R. Gill and H. I. Stonehill: J. Chem. Soc. (London) **1952**, 1845.
5. P. Zuman: Chem. Zvesti **8**, 789 (1954).
6. O. H. Müller: J. Amer. Chem. Soc. **62**, 2434 (1940).
7. I. M. Kolthoff und E. F. Orlemann: J. Amer. Chem. Soc. **53**, 664 (1941).
8. P. Rüetschi und G. Trümpler: Helv. Chim. Acta **35**, 1021 (1952).
9. P. Rüetschi und G. Trümpler: Helv. Chim. Acta **35**, 1486 (1952).
10. P. Rüetschi und G. Trümpler: Helv. Chim. Acta **35**, 1957 (1952).
11. H. Fassbender: Dissert. Bonn, 1944. In Stackelberg's »Polarographische Arbeitsmethoden«, (Walter de Gruyter & Co. Berlin) **1950**, S. 206, 308, 417.
12. I. Tachi: Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ. Chem. Ser. **42**, 1 (1938).
13. A. Winkel und H. Siebert: Ber. **74**, 670 (1941).
14. P. J. Elving und Ch. Teitelbaum: J. Amer. Chem. Soc. **71**, 3916 (1949).
15. A. Ryvolová und V. Hanuš: Chem. Listy, **50**, 46 (1956).
16. J. Volke und V. Volková: Chem. Listy **49**, 490 (1955).
17. J. Kůta: Chem. Listy, **49**,1467 (1955); Collection Czechoslov. Chem. Communs, **21**, 697 (1956).
18. P. Zuman: Chem. Listy **45**, 65 (1951).
19. P. J. Elving und I. Rosenthal: Anal. Chem. **26**, 1454 (1954).
20. P. E. Stewart und W. A. Bonner: Anal. Chem. **22**, 793 (1950).
21. P. J. Elving und Ch. S. Tang: J. Amer. Chem. Soc. **72**, 3244 (1950).
22. P. J. Elving, J. C. Komyathy, R. E. van Atta, Ch. S. Tang und I. Rosenthal: Anal. Chem. **23**, 1218 (1951).
23. P. J. Elving, I. Rosenthal und M. K. Kramer: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 1717 (1951).
24. P. J. Elving und Ch. S. Tang: J. Amer. Chem. Soc. **84**, 6109 (1952).
25. P. Zuman: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 839 (1950).
26. P. Zuman: Nature (London) **165**, 485 (1950).
27. P. Zuman: Chem. Listy **46**, 516, 521 (1952).
28. P. Zuman: Proc. I. internat. polarograph. Congress, Prague, **1951**, I. 711; III., 520.
29. P. Zuman und M. Březina: Chem. Listy **46**, 599 (1952).
30. M. Březina und P. Zuman: Chem. Listy **47**, 975 (1953).
31. R. Brdička: Chem. Listy **39**, 35 (1945).
32. R. Brdička: Ark. Kem. Mineralog., Geol. Ser. B. **26**, No. 19 (1948).
33. W. J. Neish und O. H. Müller: Recueil Trav. chim. Pays-Bas **72**, 301 (1953).
34. P. Zuman: Chem. Listy **48**, 524 (1954).
35. A. K. Vlček, E. Špalek und L. Krátký: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 340 (1950).
36. R. Pasternak: Helv. Chim. Acta **30**, 1984 (1947).
37. P. J. Elving und C. M. Callahan: J. Amer. Chem. Soc. **77**, 2077 (1955).
38. P. J. Elving und C. L. Hilton: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 3368 (1952).
39. N. H. Furman und K. G. Stone: J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3055 (1948).
40. K. G. Stone: J. Electrochem. Soc. **97**, 63 (1950).
41. M. Ashworth: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **13**, 229 (1948).
42. R. A. Day Jr.: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 280 (1954).
43. R. A. Day, S. R. Milliken und W. D. Shults: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 2741 (1952).
44. R. M. Elofson: Anal. Chem. **21**, 917 (1949).

45. J. Adámek und I. Smoleř : Kongress prakt. Polarographie, Bratislava, 1952 ; Abstr. Anal. Chem. **24**, 916 (1952).
46. P. Delahay und C. C. Mattax : J. Amer. Chem Soc. **76**, 5314 (1954).
47. P. Herasymenko : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **34**, 129 (1928).
48. A. Winkel und G. Proske : Ber. **69**, 1917 (1936).
49. M. I. Bobrowa, P. N. Sokolow : Ж. общ. хим. (Z. allg. Chemie) **21**, 1774 (1951).
50. I. A. Korschunow, Z. B. Kusnetzowa und M. K. Schtschennikowa : Ж. анал. хим. (Z. anal. Chemie) **6**, 96 (1951).
51. S. G. Mairanowski und M. B. Neiman : Докл. Акад. Наук СССР (Ber. Akad. Wiss. USSR) **82**, 93 (1952).
52. G. M. Florianowitsch und A. N. Frumkin : Докл. Акад. Наук СССР (Ber. Akad. Wiss. USSR) **79**, 997 (1951).
53. V. Hanuš und R. Brdička : Chem. Listy **44**, 291 (1950) ; Chimija **1**, 28 (1951).
54. L. S. Darken : J. Amer. Chem. Soc. **63**, 1007 (1941).

DISKUSSION

J. Heyrovský : Es ist bemerkenswert, dass die Reduktion der Oxalsäureester in einem grossen Masse durch die Anwesenheit von Kationen beeinflusst ist, denn es ist auffallend, dass eine sehr geringe Konzentration des Lanthanions eine erhebliche Verschiebung der Reduktionsstufe zu positiveren Potentialen verursacht. Die Erleichterung der Reduktion in Anwesenheit von mehrwertigen Kationen schien bisher nur für Anionen spezifisch zu sein. In diesem Falle handelt es sich um undissoziierte Molekel. Hier stehen wir neuen Problemen gegenüber.

ON THE EFFECT OF ELECTROLYTE SOLUTIONS ON THE REDUCTION OF OXALIC ACID

J. Kůta

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

In the first part the effect of the composition of the basic solution on the polarographic behaviour of certain organic substances is discussed. First of all, the action of pH values, buffer capacity, the components of the buffer and further, of added electrolytes is dealt with. In the second part, the reduction waves of oxalic acid, its anion and ester are established, as a practical example indicating the substantial influence of the composition of the solution.

Dr. Jaroslav Kůta Praha 1., Vlašská 9.

WIRKUNG DES VIERECKIMPULSES UND DES SINUSSTROMS AUF DEN DIFFUSIONSSTROM DER QUECKSILBERIONEN AN RUHENDER QUECKSILBERELEKTRODE

J. DÉVAY

(Institut für Physikalische Chemie der L. Eötvös Universität, Budapest)

Im Sinne der in unserer früheren Mitteilung [1] über die Bestimmung der Polarisationskapazität der Quecksilberelektrode beschriebenen Methode wurde die Elektrode eines Viereckimpulses kathodisch so polarisiert, dass die Intensität des negativen Stromstosses grösser als die Intensität des positiven Stromstosses war und die Elektrode hiermit im Zeitdurchschnitt einen polarisierenden negativen Ladungsüberschuss erhielt. Bei diesen Messungen ergab sich, dass die zur Polarisation einer Quecksilberelektrode mit Gleichstrom auf ein gewisses Potential benötigte Stromstärke nicht mit dem negativen Ladungsüberschuss pro Sekunde übereinstimmt, der zur Polarisation auf dasselbe Potential mit Viereckimpulsen erforderlich ist. Nachstehend wird über die zur Klärung dieser Abweichung durchgeführten Untersuchungen berichtet.

Die bei den Messungen benutzte Versuchsvorrichtung, die Ausbildung der Elektroden, ihre Einstellung und die Grösse ihrer Oberfläche, sowie die Reinigung der erforderlichen Chemikalien und Stoffe war dieselbe, wie die in der erwähnten Mitteilung. Die frühere Methode unterscheidet sich von dieser nur darin, dass bei den hier erörterten Messungen die Viereckimpulse mit einem elektrischen Generator erzeugt wurden, der die Zelle in den Strompausen nicht belastete, d. h. dass der Widerstand des Stromkreises zwischen den beiden Elektroden in diesem Fall praktisch unendlich war. Die Messungen wurden in sauerstofffreier n KCl-Lösung nach Durchperlen von gereinigtem Stickstoff durchgeführt.

Kurve *A* in Abb. 1 stellt die Intensität des zur Polarisation der Quecksilberelektrode benötigten Gleichstroms dar. Der Strom ist der Diffusionsstrom der Quecksilberionen, die vor Einführung des Stickstoffs durch Einwirkung des gelösten Luftsauerstoffs in die Lösung gelangten ; die Stromstärke hängt kaum vom Elektrodenpotential ab. Die Gegenwart von Quecksilberionen wurde mit Hilfe von Schwefelwasserstoff nachgewiesen. Abb. 1 enthält auch die zur Polarisation mit Viereckimpulsen erforderlichen »negativen Stromstärken« *(B, C)*. Dieselben wurden durch Abzug der Intensität des positiven Stromstosses von der Intensität des negativen Stromstosses berechnet und die Differenz auf die gesamte Periodenzeit verteilt, d. h. der Überschuss der negativen Ladung in

Gleichstrom »überglättet«. Die Dauer der positiven und negativen Stromstösse in den Versuchen, deren Ergebnisse die Kurven *B* und *C* darstellen, betrug $6 \cdot 10^{-3}$ Sek. und die der zwischen ihnen eingelegten Strompausen $4 \cdot 10^{-3}$ Sek. Die Stärke der negativen Stromstösse betrug bei den der Kurve *B* entsprechenden Versuchen 1 mA, bei denen der Kurve *C* 6 mA, während die Stärke der positiven Stromstösse je nach Bedarf bis zum Erreichen der einzelnen Potentiale geändert wurde. Die in Abb. 1 angeführten Daten sind die Mittelwerte von 6 Beobachtungen ; der maximale Fehler des Mittelwerts betrug bei Beobachtungen mit Viereckimpulsen 8% und mit Gleichstrom 2%. Die waagerechten Zeichen der einzelnen Daten der Beobachtungen stellen bei der Polarisation mit

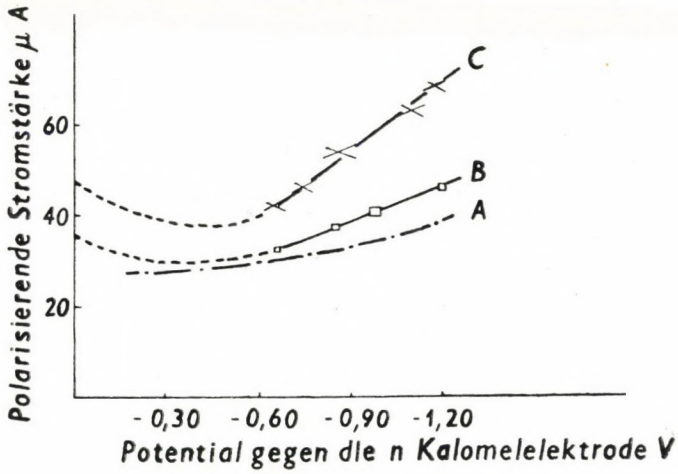


Abb. 1

Viereckimpulsen die Amplituden der mit einem Kathodenstrahl-Oszilloskop beobachteten periodischen Änderungen des Elektrodenpotentials dar.

Wir sehen, dass das Elektrodenpotential bei den Messungen stets innerhalb des dem Diffusionsstrom entsprechenden Potentialintervalls verblieb. Im Laufe der Messungen wurde die Elektrode zuerst im Verhältnis zu der n Kalomelelektrode auf — 1,20 V polarisiert und die Polarisation dann in positiver Richtung fortgesetzt. Im Falle einer Polarisation mit Viereckimpulsen ergeben sich bei einem Potential das positiver als —0,65 V ist, keine Daten. Bei einer Herabsetzung der den Viereckimpulsen entsprechenden »negativen Stromstärke« auf einen unter —0,65 V dargestellten Wert erreicht in ähnlicher Weise das Elektrodenpotential das Potential der n Kalomelelektrode. Der Schnittpunkt des gestrichelten Teils der Kurve mit der Ordinate bezeichnet die »Stromstärke«, bei der die Elektrode von den positiven Elektrodenpotentialen ausgehend in negativer Richtung noch nicht polarisierbar ist. Bei Einwirkung höherer »negativer Stromstärken« stellt sich das Elektrodenpotential auf den Wert des ausgezoge-

nen Teils der Kurven ein. Der gestrichelte Teil der Kurven wurde so ausgezogen, dass der der Stromstärke entsprechende Punkt, in welchem die Elektrode von den positiven Elektrodenpotentialen ausgehend in negativer Richtung noch nicht polarisiert war, mit demjenigen Punkt verbunden wurde, der die Stromstärke der zum positivsten Elektrodenpotential gehörenden Polarisation von den negativen Potentialen ausgehend darstellt. Abb. 1 zeigt, dass die Kurven der Polarisation mit Viereckimpulsen bei einem mittleren Elektrodenpotential ein Minimum aufweisen, ferner dass die zur Polarisation der Elektrode erforderliche »negative Stromstärke« im Falle der Viereckimpulse grösser als im Falle des Gleichstroms ist und bei Erhöhung der Stärke der Viereckimpulse zunimmt. Ausserdem ist aus den Kurven ersichtlich, dass die Kurven der Polarisation mit Viereckimpulsen im ausgezogenen Teil steiler als die Kurven der

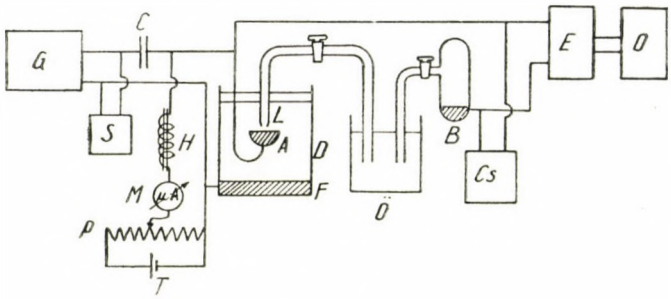


Abb. 2

Polarisation mit Gleichstrom sind. Die Steigung ist um so grösser je grösser die Stromstärke des Viereckimpulses ist.

Des weiteren wurden Versuche zwecks Polarisation der Quecksilberelektrode mit asymmetrischem Sinusstrom durch Zuschaltung eines Sinusstroms an den polarisierenden Gleichstrom durchgeführt. Die Schaltung der angewandten Vorrichtung ist in Abb. 2 dargestellt.

Der zur Polarisation erforderliche Gleichstrom wurde der zu untersuchenden, in einem quecksilberhaltigen und mit Kaliumchloridlösung gefüllten Gefäss *D* untergebrachten Quecksilberelektrode *A*, sowie der unter ihr befindlichen Quecksilberelektrode *F* von grosser Oberfläche von einem mit Akkumulator *T* gespeisten Potentiometer *P* über ein Mikroamperemeter *M* und über eine 90 Hy Selbstinduktion *H* zugeleitet. Der vom Tonfrequenzgenerator *G* erzeugte Sinusstrom wurde über einen Kondensator *C* von 0,1 μF Kapazität an die Elektroden *A* und *F* geschaltet. Die Spannung des Sinusstromes wurde mit Hilfe eines Röhren-Wechselspannungsmessers *S* gemessen. Kondensator *C* und Selbstinduktion *H* dienten zur Trennung des Gleich- und des Wechselstromkreises. Die Messung des zeitlichen Mittelwerts des Potentials der Elektrode *A* erfolgte mit Hilfe eines Röhren-Gleichspannungsmessers *Cs* im Verhältnis zur n Kalomel-

elektrode *B*, die mit der ersteren über eine *L* Lugin-Kapillare und über ein mit gesättigtem Kaliumchlorid gefüllten Kommunikationsgefäss *Ö* verbunden war, während die Amplitude der durch Sinusstromeinwirkung auftretenden periodischen Potentialschwankungen mit Hilfe eines Kathodenstrahl-Oszilloskops *O* mit einem zwischengeschalteten elektronischen Verstärker *E* gemessen wurde.

Abb. 3 enthält die mit Hilfe des Sinusstroms von 500 Hz Frequenz erhaltenen Messangaben. Die Messungen wurden folgendermassen durchgeführt: zuerst wurde die Elektrode mit Gleichstrom auf das entsprechende Potential polarisiert, sodann die Stromstärke abgelesen und der Sinusstrom eingeschaltet, zuletzt die vom Messgerät *M* angezeigte Stromstärke nochmals abgelesen. Nach

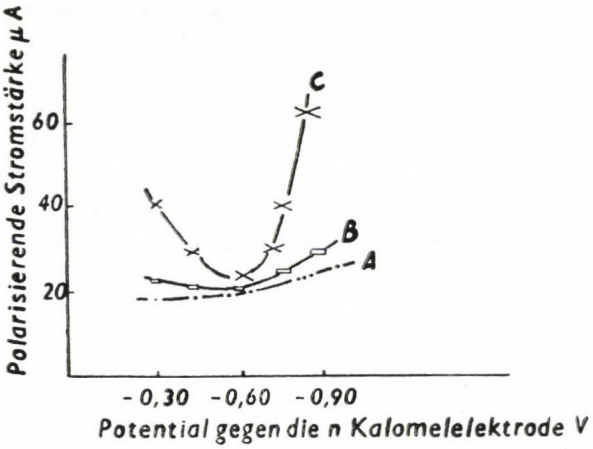


Abb. 3

Einschaltung des Wechselstroms ist eine Wartezeit von 3—4 Min. einzuhalten, bis die Stromstärke ihren stationären Wert erreicht. In Abb. 3 bedeutet Kurve *A* die Stromstärke der Polarisation mit Gleichstrom, die Kurven *B* und *C* die der Polarisation mit asymmetrischem Wechselstrom. Die angeführten Punkte bedeuten den Mittelwert von 6 Messungen ; der maximale Fehler dieses Mittelwerts war 2%. Bei Aufnahme der Kurve *B* betrug die mit Messgerät *S* gemessene Spannung des Sinusstroms 40 V, bei Kurve *C* 80 V. Die waagerechte Bezeichnung der einzelnen Beobachtungen stellt auch hier die Amplitude der periodischen Schwankungen des Elektrodenpotentials dar. Es ist zu ersehen, dass das Elektrodenpotential auch im Falle einer Polarisation mit Sinusstrom immer innerhalb des dem Diffusionsstrom entsprechenden Potentialintervalls verbleibt. Die Kurven zeigen, dass die zur Polarisation auf das gleiche Potential benötigte Stromstärke bei Anwendung von asymmetrischem Wechselstrom grösser als bei Gleichstrom ist, ferner, dass die polarisierende Stromstärke und die Steilheit der Kurven bei Erhöhung der Sinusstromstärke zunimmt. Bei einer Polarisation mit Wechselstrom ist die polarisierende Stromstärke in der Umgebung

des dem elektrokapillaren Maximum des Quecksilbers entsprechenden Potentials minimal.

Tabelle I

Frequenz des Sinusstroms Hz	Effektive Spannung des Sinusstroms V	Differenz der bei Sinus- und bei Gleichstrom beobachteten Depolarisationsströme μA	Effektive Intensität des Sinusstroms mA	Zunahme der durch 1 mA Sinusstromstärke verursachten Depolarisation μA
20	80	25	1,005	25,0
50	80	27	2,52	10,7
500	80	39	25,2	1,54
500	40	5	12,55	0,40
1000	40	3	25,2	0,12
2000	40	4	50,2	0,08

Tabelle I zeigt den Zusammenhang zwischen der depolarisierenden Wirkung und der Frequenz des Sinusstroms. Die Tabelle enthält die Werte einer im Verhältnis zur n Kalomelelektrode auf 0,73 V erfolgenden Polarisation. Wir sehen, dass der auf 1 mA Sinusstromstärke bezogene Wertunterschied zwischen der Stromstärke der Polarisation mit Gleichstrom und der mit asymmetrischem Sinusstrom geringer wird, d. h. dass die, die Depolarisation erhöhende Wirkung des Sinusstroms von gleicher Stromstärke bei einer Frequenzerhöhung abnimmt. Diese Abnahme besteht um so mehr, als die Sinusstromstärke bei Frequenzerhöhung höher wurde und durch die Zunahme der Stromstärke im Sinne von Abb. 3 die Depolarisation mehr als linear erhöht werden müsste ; d. h. dass die Abnahme der Depolarisation bei Frequenzerhöhung ziemlich gross ist.

Diskussion der Ergebnisse

FRUMKIN und BRUNS [2] beobachteten an einer Quecksilberelektrode, dass die Flüssigkeit bei Stromeinwirkung lebhaft zirkuliert. STACKELBERG und Mitarbeiter [3] fanden, dass an der Oberfläche einer in kupfersulfathaltige Natriumchloridlösung getauchten Quecksilberkathode Gleichstrom bei einer Stromdichte von 0,1—0,2 A/cm^2 ebenfalls eine Flüssigkeitsbewegung erwirkt. Die Bewegung wurde anhand der Bewegung von Kohlen- und Sandkörnern in der Lösung beobachtet. Die Richtung der Bewegung hing nicht nur von der Anodenstellung, sondern auch davon ab, ob das Potential der Quecksilberelektrode positiver oder negativer als dasjenige des elektrokapillaren Maximums war. STACKELBERG und Mitarbeiter erklärten diese Erscheinung damit, dass die Stromdichte der Kathode an den näher zur Anode gelegenen Punkten grösser war und somit in der unmittelbar an der Quecksilberoberfläche befindlichen Lösung ein positiveres Potential vorherrschte als in der von der Anode

entfernteren Lösung oberhalb der Kathodenoberfläche. Infolgedessen strömten die grösstenteils negativ geladenen Ionen des äusseren Belags der Doppelschicht, solange das Elektrodenpotential positiver als das elektrokapillare Maximum war, von den, entfernter von der Anode liegenden Kathodenoberflächen zu den näher zur Anode befindlichen Kathodenteilen und nahmen hierbei einen Teil des Lösungsmittels von den Stellen mit niedrigerem Potential zu den mit höherem Potential mit. Bei Elektrodenpotentialen, die negativer als das elektrokapillare Maximum waren, ergab sich infolge der positiven Ladung des äusseren Belags der Doppelschicht eine in entgegengesetzter Richtung erfolgende Bewegung.

Es wurde versucht die beobachteten Erscheinungen auf dem von STACKELBERG und Mitarbeitern eröffneten Weg zu erklären. Die sichtbare Demonstration der Flüssigkeitsbewegung an der untersuchten Quecksilberelektrode erfolgte durch Beobachtung der Bewegung der an der Quecksilberoberfläche elektrolytisch entwickelten winzigen Wasserstoffperlen. Anschliessend wurde an die untersuchte Elektrode am Potential, das positiver und negativer als das elektrokapillare Maximum ist — zwischen dem Potential der n Kalomelelektrode und dem der Wasserstoffausscheidung entsprechenden Elektrodenpotential — mit der Hand positiver, bzw. negativer Strom geschaltet und die Richtung der perlenbewegenden Flüssigkeitsbewegung beobachtet. Die Perlen konzentrierten sich nach Eintritt der Stromstösse je nach Richtung derselben und je nach dem Elektrodenpotential am Rande oder in der Mitte der Elektrode. Tabelle II enthält die Beobachtungen; die Kreise bedeuten in den Abbildungen die

Tabelle II

Bei positiveren Potentialen als das des elektrokapillaren Maximums	auf − Stromstoss	
	auf + Stromstoss	
Bei negativeren Potentialen als das des elektrokapillaren Maximums	auf − Stromstoss	
	auf + Stromstoss	

Oberfläche der Elektrode in Obenansicht und die Pfeile die Bewegungsrichtung der Perlen.

Die Ergebnisse stimmen vollkommen mit den Schlussfolgerungen der STACKELBERGschen Beobachtungen überein, wobei nicht ausser acht gelassen werden darf, dass bei vorliegender Vorrichtung der Rand der untersuchten Elektrode nahe zur anderen Elektrode der Zelle liegt. Die Bewegung der Wasserstoffperlen konnte unter Einwirkung eines Viereckimpulses, wahrscheinlich infolge des schnellen Wechsels der entgegengesetzt wirkenden Stromstösse, nicht beobachtet werden.

Auf Grund obiger Versuche kann vorausgesetzt werden, dass an der Elektrodenoberfläche unter Einwirkung von Viereck-, bzw. Sinusstrom eine geringfügige, periodisch richtungwechselnde Bewegung der Flüssigkeit entsteht, die die Diffusionsschicht mehr oder minder zerstört, und daduch an die Elektrodenoberfläche eine grössere Anzahl depolarisierend wirkender Ionen gelangt. Im Sinne der von STACKELBERG und Mitarbeitern durchgeführten Untersuchungen war die Flüssigkeitsbewegung bei grösseren Stromstärken entsprechend stärker. So konnte bei unseren Versuchen infolge der geringen Stromstärkewerte an der Elektrodenoberfläche unter Einwirkung von Gleichstrom entweder überhaupt keine, oder nur eine ganz geringfügige Flüssigkeitsbewegung entstehen. Bei der Anwendung von Viereck- und Sinusstrom durchdrangen die Zelle für kurze Zeit verhältnismässig grosse Stromstärken ohne eine wesentliche Änderung des Elektrodenpotentials zu verursachen und so konnte die Wirkung der Flüssigkeitsbewegung auf die Diffusionsschicht bereits bei kleiner Konzentration der depolarisierenden Ionen beobachtet werden. Die Zunahme der Depolarisation kann demzufolge mit der Steigerung der Stromstärke des Viereckimpulses bzw. des Sinusstroms erklärt werden.

Wird die Frequenz verringert, so steht zur Entwicklung und zum Ablauf der durch die einzelnen Stromstösse entstehenden Flüssigkeitsbewegung immer mehr Zeit zur Verfügung und die Depolarisation nimmt zu. Mit den Schlussfolgerungen der STACKELBERGschen Versuche ist auch die Tatsache im Einklang, dass die die Depolarisation steigernde Wirkung des Viereckimpulses bzw. Sinusstroms in der Umgebung des dem elektrokapillaren Maximum des Quecksilbers entsprechenden Potentials minimal ist. Hier ist nämlich die Ladung der Doppelschicht minimal, und dadurch kann sich sowohl die Bewegung der in dem Aussenbelag gelagerten Ionen an der Oberfläche als auch die Flüssigkeitsbewegung nur wenig entwickeln. Der Umstand, dass die Depolarisation unter Einwirkung der Viereckimpulse und Sinusströme an den sich vom elektrokapillaren Maximum entfernenden Elektrodenpotentialen so schnell zunimmt, findet seine Erklärung in der immer stärkeren Aufladung der Doppelschicht. Dass man bei der Untersuchung der Wirkung des Viereckimpulses die Depolarisationsintensität der positiveren Elektrodenpotentiale nicht feststellen konnte, ist wahrscheinlich dem Umstand zuzuschreiben, dass die Bewegung der Flüssigkeit an der Oberfläche der Elektrode nur langsam aufhört. So entwickelt sich die um das elektrokapillare Maximum verhältnismässig ungestörte Diffusions-

schicht nur langsam, wobei das Elektrodenpotential im Durchschreiten des elektrokapillaren Maximums einen Wert erreicht, bei dem die Flüssigkeitsbewegung wieder stärker auftritt und zur Polarisation eine grössere Stromstärke erforderlich wäre als der den zugeschalteten Viereckimpulsen entsprechende »negative Strom«, infolgedessen sich das Elektrodenpotential bis zu extrem positiven Werten verschiebt. Der stationäre Zustand des an der Elektrodenoberfläche befindlichen Lösungsteils stellt sich nur langsam ein, wofür als Beweis dient, dass die stationäre Stromstärke bei Messung mit Sinusstrom erst nach Ablauf von 3—4 Min. beobachtet werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

Die durch Diffusion der Quecksilberionen verursachte Depolarisation an einer in quecksilberionenhaltiger n Kaliumchloridlösung untergebrachten ruhenden Quecksilberelektrode ist im Falle einer Polarisation mit asymmetrischen Viereckimpulsen und mit asymmetrischem Sinusstrom grösser als bei einer Polarisation mit Gleichstrom. Diese Erscheinung kann mit dem von FRUMKIN und BRUNS, sowie STACKELBERG und Mitarbeiter beobachteten periodischen Verlauf der Flüssigkeitsbewegung an der Quecksilberoberfläche bei Anwendung von Gleichstrom mit hoher Intensität erklärt werden. Es wurde die Wirkung des Elektrodenpotentials, der Stromstärke und der Frequenz auf die Depolarisation untersucht.

LITERATUR

1. J. DÉVAY und B. TRIZNYAI M.: Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 325 (1954).
2. A. FRUMKIN und B. BRUNS: Acta physicochim. USSR **1**, 232 (1934).
3. M. v. STACKELBERG, H. J. ANTWEILER und L. KIESELBACH: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 663 (1938).

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ: Welche Form hatte die untersuchte Elektrode? Erfolgte die Beobachtung der Bewegung im Mikroskop?

J. DÉVAY: Die geprüfte Quecksilberelektrode befand sich in einem halbkugelförmigen Glasgefäss. An die Innenwand des Glasgefässes lötete ich einen Platinring um die Eindringung der Lösung zwischen dem Quecksilber und der Glaswand zu verhindern. Die Bewegung der Wasserstoffblasen war schon mit dem Auge zu beobachten.

J. HEYROVSKÝ: War die Bewegung der Flüssigkeit auch beim anodischen Stromstoss zu beobachten?

J. DÉVAY: Auch auf Einwirkung des anodischen Stromstosses beobachtete ich die Bewegung, wenn der Stromstoss an die Elektrode von recht negativen Potentialen ausging. Alle Prüfungen wurden jedoch bei negativeren Potentialen, als das der n-Kalomelelektrode durchgeführt. Bei dem Potential der Kalomelbildung wurden keine Beobachtungen gemacht.

J. HEYROVSKÝ: Solche Strömungen habe ich bei der langsam tropfenden Quecksilberelektrode beobachtet, aber nie im anodischen Bereich. Wie erklären Sie die Erscheinung: mit der Bewegung des Quecksilbers oder der Elektrolytlösung?

J. DÉVAY: Ich erkläre die Erscheinung mit der Bewegung der Elektrolytlösung.

ACTION OF THE SQUARE IMPULSE AND SINUS CURRENT ON THE DIFFUSION CURRENT OF MERCURY IONS ON A QUIET MERCURY ELECTRODE

J. Dévay

(Institute of Physical Chemistry, L. Eötvös University, Budapest)

Summary

The depolarisation due to the diffusion of mercury ions, of a quiet mercury electrode, placed in a 1,0 *N* solution of potassium chloride containing mercury ions proved to be greater when polarisation was attained by asymmetric square impulses and an asymmetric sinus current than that obtained by polarisation with direct current. This may be explained by the periodic progress of liquid motion on the mercury surface with direct current of high intensity, as stated by FRUMKIN and BRUNS, further by STACKELBERG and associates. In addition to that, also the action of electrode potential, current intensity and frequency on the depolarisation process was studied.

József DÉVAY Budapest, VIII. Puskin u. 11.

AMPEROMETRISCHE TITRATIONEN MIT WECHSELSTROM

E. JUHÁSZ

(Institut für Physikalische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Titrationen, bei denen der Endpunkt durch Verfolgung der Intensitätsänderung des durch die Messzelle fliessenden Stromes bestimmt wird, nennen wir »amperometrische«. Als Endpunkt wird im allgemeinen das Aufhören, das Auftreten, oder deutliche Änderung des Stromes betrachtet. Diese Erscheinungen können auch dadurch wahrgenommen werden, dass wir durch die Messzelle konstanten Strom leiten und im Verlauf der Titration die Potentialänderung beobachten. Mit dieser Methode kann eine sehr empfindliche Endpunktbestimmung erreicht werden [1].

Der Endpunkt einer amperometrischen Titration ist durch die Änderung des Elektrodenvorganges : durch Auftritt, Verbrauch oder Austausch einer depolarisierenden Ionenart gekennzeichnet. Wir wissen von der Praxis der Leitfähigkeitmessungen, dass die Messfrequenz selbst mit platinierten Platinelektroden 1000—2000 Hz betragen muss um ohne Polarisationserscheinungen nur die wahre Leitfähigkeit messen zu können. Mit niedrigen Frequenzen und glatten Elektroden werden die Polarisationserscheinungen unbedingt auftreten. So können wir den Endpunkt der mit Änderung der Polarisation verknüpften Titrationen auch mit Wechselstrommethoden beobachten. Diese Möglichkeit wurde von FRANCK [2] beschrieben. Die Messmethode von FRANCK wurde verbessert und die, die Empfindlichkeit der Titration beeinflussenden Faktoren untersucht.

Das Prinzip der Messanordnung ist in Abb. 1 schematisch dargestellt. Die Platinelektroden wurden als vibrierende Elektroden ausgebildet. Die Elektroden dieser Art haben den Vorteil, dass ein Rührer unnötig wird und der Stromdurchgang ohne Kontaktfehler erfolgt.

Mit Hilfe dieser Messanordnung wird konstanter Wechselstrom durch die Messzelle geleitet. Die Unabhängigkeit des Polarisationsstromes vom Zellwiderstand ist durch den grossen Reihen-Widerstand erreicht. Mit Änderung dieses Widerstandes kann der durch die Messzelle fliessende Strom eingestellt werden. Die Polarisationsspannung wird zwischen zwei Platinelektroden mit Hilfe eines Röhrenvoltmeters gemessen. Wenn wir die Grösse dieser Polarisationsspannung als Funktion des Volumens der Titrierlösung graphisch darstellen,

bekommen wir im allgemeinem Kurven wie auf Abb. 2. (In der Abbildung wurde die Kurve der entsprechenden amperometrischen Titration gestrichelt gezeichnet.)

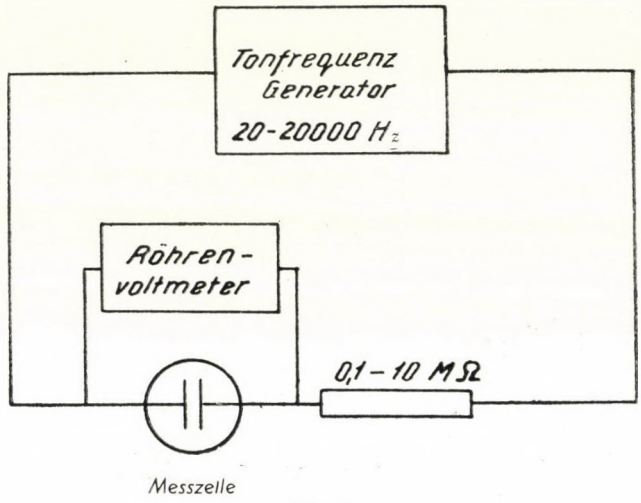


Abb. 1

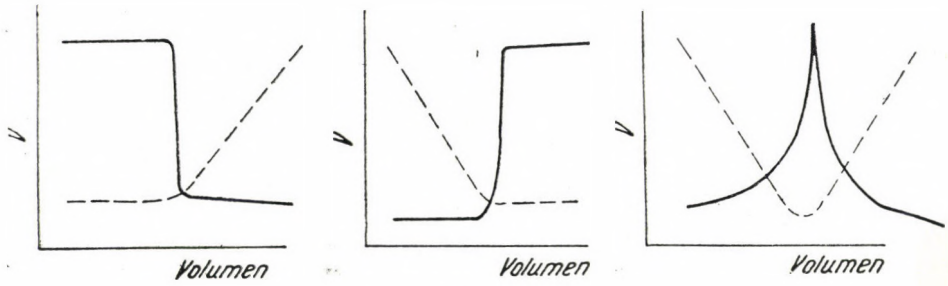


Abb. 2

Einige typische Beispiele der mit dieser Methode durchgeführten Titrationen sind die folgenden :

Vorgelegt	Titrant	Elektrode
Fe^{2+}	$KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$, $Ce(SO_4)_2$	Pt
Ce^{4+}	KNO_2, As_2O_3, H_2O_2	Pt
Ag^+	KJ, KBr, KCl, KCNS, KCN	Ag

(Weitere Möglichkeiten siehe bei FRANCK loc. cit.)

Ich wollte mit meinem Versuche feststellen, unter welchen Bedingungen die empfindlichste Endpunktbestimmung erreichbar wäre, also bei welcher Stromdichte und Frequenz bei dem Endpunkt durch eine gegebene Titrierflüssigkeitmenge die grösste Potentialänderung hervorgerufen wird.

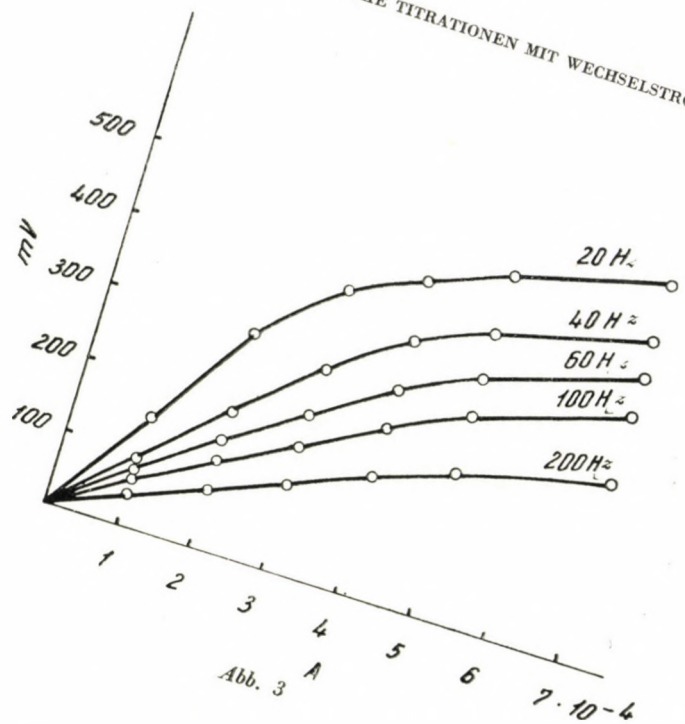

500
400
300
200
100
mV
20 Hz
40 Hz
60 Hz
100 Hz
200 Hz
1
2
3
4
5
6
7 · 10-4
A

Abb. 3

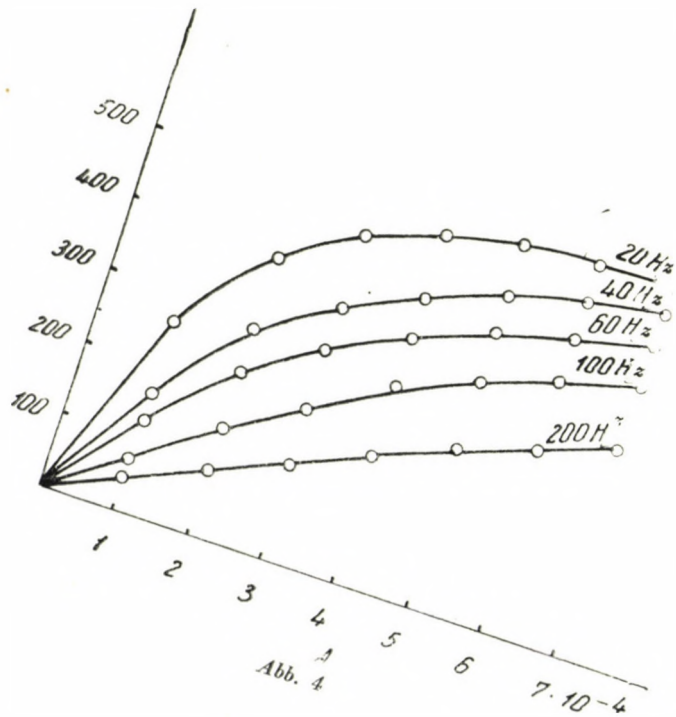

500
400
300
200
100
20 Hz
40 Hz
60 Hz
100 Hz
200 Hz
1
2
3
4
5
6
7 · 10-4
A

Abb. 4

Die Messungen wurden mit folgender Methode durchgeführt: Zu einer Grundlösung mit guter Leitfähigkeit (z. B. n H_2SO_4) wurde 10 ml der untersuchten 0,01 n Lösung gegeben. Nachdem diese Lösung bis zum Äquivalenzpunkt titriert wurde, wurde ein Tropfen (0,03 ml) der untersuchten Lösung zugefügt. Auf diese Weise entstand eine Lösung, die der Lösung unmittelbar vor dem Erreichen des Äquivalenzpunktes gleich war. Mit dieser Lösung wurde der Potentialunterschied mit verschiedenen Frequenzen in Abhängigkeit von der Stromstärke gemessen. Die gleichen Messungen wurden auch mit einer solchen Lösung durchgeführt, die einen Tropfen der 0,01n Titrierlösung in Überschuss enthielt. Mit dieser Methode wurden zwei Kurvenscharen erhalten, die den Zersetzungspannungs-Kurven ähnlich sind (Abb. 3 und 4). Die zur gleichen Frequenz und Stromstärke gehörenden Punkte der zwei Kurvenscharen liegen bei verschiedenen Potentialunterschied-Werten. Die Differenz zwischen zwei

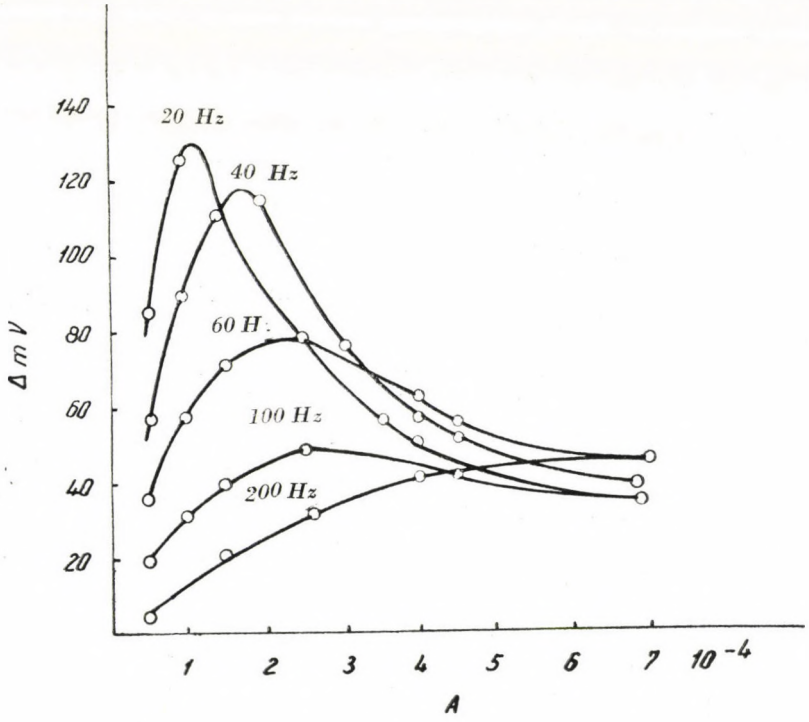


Abb. 5

entsprechenden Punkten zeigt die Grösse des am Titrationsendpunkt messbaren Potentialsprunges. Wenn die Grösse dieses Potentialsprunges in Abhängigkeit von der Stromstärke dargestellt wird, bekommt man im Falle des Jod-Thiosulfat Systems die auf Abb. 5 dargestellten Kurven.

Die mit verschiedenen Elektrodenoberflächen wiederholten Versuche haben gezeigt, dass diese Kurven die Abhängigkeit der Grösse des Potentialsprunges von der Stromdichte darstellen.

Mit diesem Verfahren kann man zu jeder Messfrequenz die Stromdichte bestimmen, mit der die Endpunktbestimmung am empfindlichsten durchgeführt werden kann.

Wie vorauszusehen war, geht der depolarisierende Effekt des Wechselstromes mit abnehmender Frequenz zurück, und damit wächst die Empfind-

lichkeit der Endpunktbestimmung. Den Abbildungen kann entnommen werden, dass man mit geeigneter Stromdichte auch bei 50 Hz ziemlich grosse Poten-

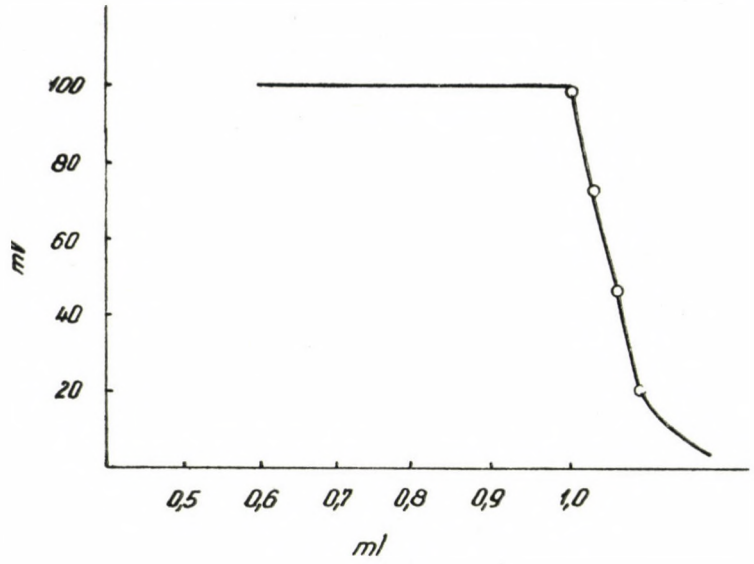


Abb. 6

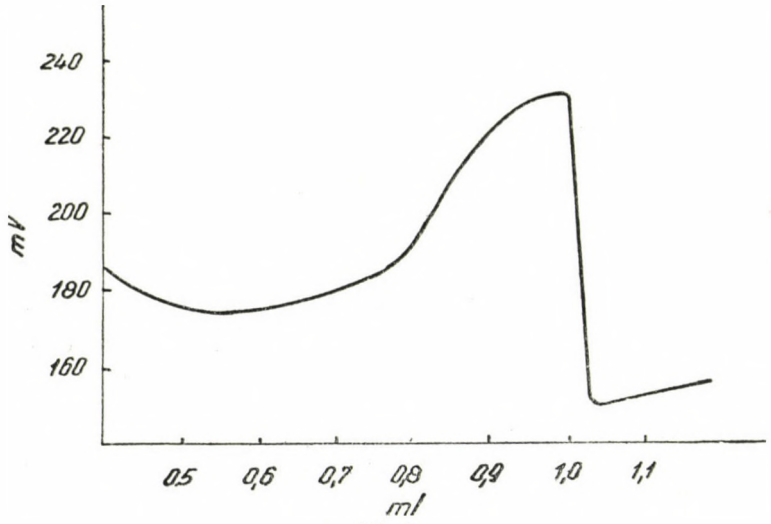


Abb. 7

tialänderungen messen kann. Dadurch wird es möglich mit 50 Hz Netzstrom zu arbeiten.

Die Potentialänderungen liegen in der Grössenordnung von 50—100 mV. Die Konstruktion von Wechselstrom-Röhrenvoltmetern mit solcher Empfind-

lichkeit bedeutet keine Schwierigkeiten. Die erhaltenen Kurven zeigen die Potentialänderung bei Titrationen, bei welchen mit 50 Hz und geeigneter Stromdichte gearbeitet wurde (Abb. 6 und 7).

Es muss noch erwähnt werden, dass in beiden Fällen 100 ml einer 0,0001 n Lösung mit 0,01 n titriert wurde. Die Potentialänderung zeigte den Titrationsendpunkt mindestens einen Tropfen früher als das Erscheinen der Farbe der Stärke, bzw. $KMnO_4$.

ZUSAMMENFASSUNG

Wird durch eine Titrierzelle Wechselstrom konstanter Intensität geleitet, so kann mit Hilfe eines Wechselspannung-Röhrenvoltmeters die Polarisationsspannung gemessen und dadurch der Endpunkt einer amperometrischen Titration bestimmt werden. Die Empfindlichkeit des am Endpunkt eintretenden Potentialsprunges hängt von der Frequenz und Stromdichte ab. Es wurden einige Titrationen in Hinblick auf diese Parameter mit einer geeigneten Versuchsanordnung untersucht.

LITERATUR

1. REILLEY, COOKE und FURMAN: Anal. Chem. **23**, 1223 (1951).
2. FRANCK: Z. f. Elektrochemie, Ber. d. Bunsenges. f. physik. Chemie **58**, 342 (1954).

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ: Mit welcher Empfindlichkeit ist der Endpunkt der Titration zu beobachten?

E. JUHÁSZ: Wie ich erwähnt habe, ist der Endpunkt der Titration bei Anwendung von 0,01 n-Lösungen aus einem Tropfen festzustellen. D. h. aus einem Tropfen in 100 ml titrierter Lösung.

J. HEYROVSKÝ: Ist die Empfindlichkeit der Beobachtung hoch?

E. JUHÁSZ: Ja, sie ist ausserordentlich empfindlich.

J. HEYROVSKÝ: Haben sie den Einfluss der Temperatur auf die Titrierung untersucht?

E. JUHÁSZ: Nein, der Einfluss der Temperatur wurde nicht geprüft.

J. HEYROVSKÝ: Meiner Meinung nach spielt die Temperatur bei der Polarisation und Depolarisation eine Rolle. Bei der Beobachtung der Abhängigkeit von der Temperatur können interessante Zusammenhänge gefunden werden.

E. JUHÁSZ: Ich habe beobachtet, dass das Mass der Depolarisation bei höherer Frequenz höher ist, es konnten grosse Potentialänderungen im Falle einer niedrigen Frequenz beobachtet werden.

J. HEYROVSKÝ: Welche Frequenz fanden sie als optimal?

E. JUHÁSZ: Bei der 50iger Frequenz wurden gute Potentialänderungen beobachtet. Ich möchte ihre Aufmerksamkeit auf das interassante Verhalten der Kurven lenken. Das Maximum tritt bei einem gut definierten Wert der Stromdichte auf. Dieser Wert der Stromdichte hängt wahrscheinlich mit der Geschwindigkeit der Elektrodenreaktion zusammen. Dieser Teil der Beobachtungen ist noch im Gange und ich hoffe, dass die Arbeit im Gebiet der Untersuchung der Geschwindigkeit der Depolarisation erfolgreich beendet wird.

J. HEYROVSKÝ : Sehr richtig.

J. KORYTA : Könnten sie mir sagen, was der Vorteil dieser Methode gegenüber der *Dead-stop*-Titration ist?

E. JUHÁSZ : Die *Dead-stop*-Titration ist nur auf einem sehr beschränkten Gebiete anzuwenden. So ist sie z. B. im Falle des Jod-Thiosulfat-Systems und besonders für die KARL FISCHERsche Wasserbestimmung geeignet. Diese Methode ist demgegenüber im Falle bedeutend mehrerer Systeme anzuwenden. Ausserdem ist am Schluss der Titration hier ein Potentialfall. Bei der gewöhnlichen *Dead-stop*-Titrierung, wo eine konstante Spannungsquelle angewendet und der Strom gemessen wird, ist die Bestimmung des Endpunktes sehr unsicher. Der Zeitpunkt, wo das Mikroamperemeter ausschlägt oder zu 0-Wert zurückfällt, ist nicht so leicht zu beobachten, wie dieser Potentialsprung. Wenn wir die *Dead-stop*-Titration nach einer anderen Methode durchführen, wo die Stromstärke konstant ist [1], so benötigen wir einen Röhren-Voltmeter. Es ist schon von den pH-Messungen bekannt, dass die Konstruktion eines hochohmigen Gleichstrom-Voltmeters kein leichtes Problem bedeutet. Viel leichter ist es, einen Wechselstromapparat mit gleicher Empfindlichkeit zu konstruieren.

R. KALVODA : Wie gross ist der mit der Zelle in Reihe geschaltete Widerstand?

E. JUHÁSZ : Wie ich erwähnte, liegt der Widerstand zwischen 1—10 Megohm. Der Widerstand kann verändert werden, wodurch die Stromdichte reguliert wird, es können die optimalen Bedingungen der Titrierung gesichert werden.

R. KALVODA : Mit welchem Gerät erfolgte die Messung des Spannungsabfalles?

E. JUHÁSZ : Mit einem industriellen Tonfrequenz-Röhren-Voltmeter.

AMPEROMETRIC TITRATIONS WITH ALTERNATING CURRENT

E. Juhász

(Institute of Physical Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

When alternating current of a constant intensity is led through a titration cell, the polarisation potential can be measured with the use of a valve voltmeter for a. c., and this way, the end point of the amperometric titration determined. The sensitivity of the potential jump taking place in the end point depends on the frequency and intensity of the current applied. Certain titrations were studied in consideration of this parameter, with the use of an adequate experimental equipment of special arrangement.

Endre JUHÁSZ Budapest, XI., Budafoki út 4—6.

ZWEI NEUE TSCHECHOSLOWAKISCHE POLAROGRAPHEN

J. Říha und L. Šerák

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

In den volkseigenen Betrieben »*Laboratorní přístroje*« zu Prag wurden in den letzten zwei Jahren unter Mitarbeit des Polarographischen Institutes der ČSAV zwei neue Polarographen entwickelt. Die erste Type, die als manueller Polarograph LP 54 bezeichnet wird, ist ein leichtes tragbares Gerät für schnelle Serienbestimmungen, sowie für die exakte Messung der Gestalt der polarographischen Kurven.

Die zweite Polarographentype, LP 55, beruht auf dem klassischen Prinzip der automatischen Photoregistrierung. Vom bisherigen Polarographen V 301 unterscheidet sich dieses Gerät durch eine vollkommen neue Konstruktion, deren Ziel die Erfüllung der allseitigen Anforderungen der polarographischen Praxis ist.

Beide Geräte wurden im Polarographischen Institut eingehend geprüft. Mit der Serienerzeugung soll bereits im nächsten Jahr begonnen werden.

Manueller Polarograph LP 54 (Abb. 1)

Dieses Gerät beruht auf dem Prinzip der manuellen Aufzeichnung der polarographischen Kurven nach der Lage der Lichtmarke des in den Apparat eingebauten Galvanometers, welche das mit Raster versehene Registrierpapier durchleuchtet. Hierfür wird eine patentierte Originaleinrichtung verwendet, deren sinnreiche Anordnung es ermöglichte, die Ausmasse des gesamten Apparates ungewöhnlich klein zu halten (270 × 320 × 230 mm).

Das Registrierpapier ist beiderseits perforiert und wird von Hand durch Drehung einer gezahnten Walze bewegt. Das Papier besitzt eine Nutzbreite von 150 mm, so dass die Polarogramme gross, genau und übersichtlich sind. Die Vorratsrolle des Registrierpapiers ist im Gerät hinter der aufklappbaren Skala an der schrägen Vorderwand untergebracht. Sie genügt für 100 bis 200 Polarogramme. Nach Beendigung der Registrierung wird das Papier einfach längs der scharfen oberen Kante der Skala abgerissen. Gleichzeitig mit der Bewegung der Walze dreht sich der Schleifkontakt des Präzisionspotentiometers,

von dem die polarisierende Spannung abgezweigt wird. Eine Reibungskupplung ermöglicht die beliebige Einstellung das Registrierpapiers in Bezug auf die Skala des Potentiometers. Diese Zylinderskala besitzt 100 Teile von je 2 mm, welche 10 oder 20 mV je nach der an das Potentiometer angelegten Spannung entsprechen und ist von innen beleuchtet. Einem Teilstrich an der Skala entspricht eine Verschiebung des Registrierpapiers von 2 mm.

Mit einem siebenpoligen Umschalter kann die Anfangsaufzeichnung in 0,5 V-Intervallen in einem Bereich von + 1 bis —2V gewählt werden. Durch einen Nebenschalter wird an das Potentiometer eine Spannung von 1000 oder 2000 mV angelegt. Diese Spannung kann mit Hilfe eines in das Gerät eingebauten Weston-Normalelementes genau eingestellt und kontrolliert werden.

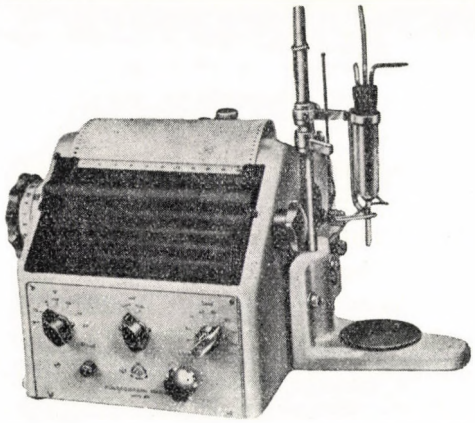


Abb. 1. Prototyp des manuellen Polarographen LP 54

Das eingebaute Spiegelgalvanometer mit gespanntem System besitzt eine Schwingungsdauer von 12 bis 14 Sekunden und eine Empfindlichkeit von etwa 6×10^{-9} A/mm/m. Es ist verhältnismässig wenig erschütterungsempfindlich und erfordert keine genaue Einstellung der waagrechten Lage des Instrumentes. Die Empfindlichkeit des Galvanometers kann durch einen zehnstufigen Reduktor im Bereich von 1 : 1 bis 1 : 1000 variiert werden.

Ein eingebauter Selengleichrichter, der durch mehrere Schichten von Antikorrosionslack gegen die Quecksilberdämpfe geschützt ist, ermöglicht das Aufladen des Akkumulators. Dies erfolgt durch Umschalten des Schaltknopfes aus der Lage »Messen« in die Lage »Laden«.

Auf der rechten Seitenwand befindet sich der die Reibungskupplung zwischen dem Potentiometer und dem Papiervorschub betätigende Drehknopf, weiter die Anschlussklemmen für die Elektroden und ein Ständer für die Befestigung der Tropfelektrode und des elektrolytischen Gefässes.

Das Gerät ist so konstruiert, dass es neben der für schnelle Serienanalysen erforderlichen Bereitschaft auch eine exakte Messung der Gestalt der polaro-

graphischen Kurven und eine genügend genaue Messung der Potentiale ermöglicht. Der Anforderung der Betriebsbereitschaft und Schnelligkeit genügt das Gerät durch seine einfache und leichte Handhabung, die praktisch die Möglichkeit einer fehlerhaften Aufzeichnung ausschliesst. Bei Serienanalysen kann der Umstand ausgenützt werden, dass in der Mehrzahl der Fälle die Aufzeichnung der gesamten polarographischen Kurve nicht notwendig ist. Da es sich meistens um Proben vom gleichen Typ handelt, die polarographische Kurven von analoger Gestalt liefern, genügt zu ihrer Auswertung die Aufzeichnung einiger Punkte vor und nach dem Stufenanstieg. Das Gerät ist ferner für polarometrische Titrationen besonders geeignet.

Bei der punktweisen Aufzeichnung der gesamten Kurve, die z. B. für das Studium der Gestalt der polarographischen Kurven, der Maxima und Diskontinuitäten von Bedeutung ist, macht sich die vollkommene Ausschaltung der Trägheit des Galvanometersystems in günstiger Weise geltend. Da die polarographische Kurve das unmittelbare Messergebnis ist, ist die Aufzeichnung auch in diesem Fall genügend schnell.

Eine Bedingung für die Genauigkeit und Verlässlichkeit der Messung ist neben der linearen Abhängigkeit des Galvanometerausschlages vom durchfliessenden Strom vor allem die Qualität der Kontakte der Funktionsumschalter und der Reibkontakte des Hauptpotentiometers. Die sehr guten Ergebnisse aller bisherigen Prüfungen zeigen, dass diese Bedingung erfüllt ist. Das Weston-Element, das in das Gerät zur potentiometrischen Kontrolle des Potentialgefälles am Hauptpotentiometer eingebaut ist, ermöglicht die Verwendung des Apparates als Kontrollpotentiometer mit einer Genauigkeit von 0,2%. Dieselbe Genauigkeit ist auch bei der Ablesung der Halbstufenpotentiale erreichbar.

Polarograph LP 55

Der photographisch registrierende Polarograph LP 55 ist in einem Metallkasten untergebracht, welcher ihn vor den äusseren Einflüssen schützt (Abb. 2). Das Spiegelgalvanometer ist mit der Projektionslampe und dem Transformator auf einer selbständigen Wandkonsole untergebracht. Bei der Konstruktion dieses Gerätes wurde das Hauptgewicht auf die Genauigkeit und Verlässlichkeit der Messung bei Aufrechterhaltung einer einfachen Handhabung gelegt. Deswegen wurde die Konstruktion auf einer anderen Unterlage als bei den bisherigen tschechoslowakischen Polarographen durchgeführt. Die Grundlage der Konstruktion ist die Ersetzung der drehbaren Trommel mit dem aufgewickelten Potentiometerdraht durch ein festes Potentiometer mit zehn Windungen, längs denen sich ein präzis geführter Schleifkontakt bewegt. Auf diese Weise wurden die beim bisherigen Polarographen, Type V 301 notwendigen unverlässlichen Reibungskontakte beseitigt. Die übrigen veränderlichen Übergangswiderstände

und die durch sie verursachten Störungen wurden durch die Verwendung spezieller verlässlicher Umschalter und Schalter ausgeschlossen.

Ausserdem besitzt das Gerät eine Reihe zweckmässiger Einrichtungen, die seine Betriebsverlässlichkeit sehr beträchtlich erhöhen und seine Anwendbarkeit in Forschungs- und Betriebslaboratorien erweitern. Es sind dies vor allem :

1. *Ein dreistufiger Geschwindigkeitskasten*, welcher mit Hilfe einer Karusselschaltung der Zahnräder eine Veränderung der Geschwindigkeit in beiden Bewegungsrichtungen des Potentiometerschleifkontaktes im Verhältnis 1 : 1, 1 : 0,5 und 1 : 0,1 ermöglicht. Dies entspricht einer Aufzeichnungsgeschwindigkeit von 200, 100 und 10 mV/Min. bei Verwendung eines 2 V-Akkumulators und von 400, 200 und 20 mV/Min. bei Verwendung eines 4 V-Akkumulators.

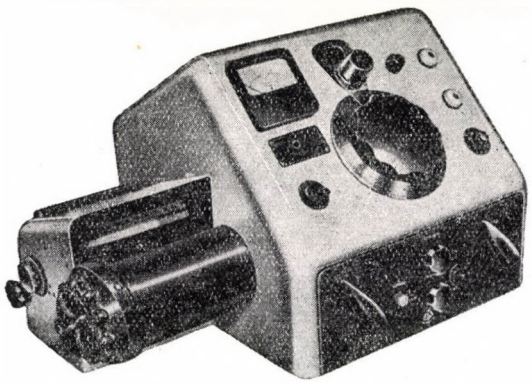


Abb. 2. Prototyp des Polarographen LP 55

2. *Ein Umschalter für den an das Messpotentiometer angelegten Spannungsbereich*, der 9 Lagen besitzt ; +2 bis —2 V, +1 bis —3 V, 0 bis —4 V, +2 bis 0 V, +1 bis —1 V, 0 bis —2 V, —1 bis —3 V, —2 bis —4 V. In der letzten Lage ist das Potentiometer vom Akkumulator abgeschaltet.
3. *Ein präziser Empfindlichkeitsreduktor* mit 20 Lagen, welcher eine Erniedrigung der Galvanometerempfindlichkeit bis auf 1 : 10 000 ermöglicht.
4. *Ein eingebauter Gleichrichter* zur Ladung des Akkumulators, der gegen die Quecksilberdämpfe geschützt ist.
5. *Ein Weston-Element* zur Standardisierung der Spannung.
6. *Eine Einrichtung für die Aufnahme der Ableitungskurven* nach VOGEL und ŘÍHA
7. *Eine Einrichtung für die Kompensation des Kapazitätsstromes* nach ILKOVIČ und SEMERANO
8. *Eine Einrichtung zur automatischen Ausschaltung des Motors und der Galvanometerlampe* bei Erreichung einer vorher beliebig einstellbaren Spannung.
9. *Ein spezieller verlässlicher Starkstromschalter für den Akkumulator.*
10. *Die einstellbare Leuchtstärke der Glühlampe* für die Abszissenaufnahme und die Möglichkeit der manuellen Registrierung der Abszissen mit Hilfe eines Tasters.
11. *Die Reibungskupplung* zwischen dem Getriebekasten und dem Potentiometer, welcher die Registrierung des Stromes bei konstanter angelegter Spannung ermöglicht.
12. *Die Schutzkammer vor der Kassette* ermöglicht eine beliebige Einstellung des vom Galvanometerspiegel zurückgeworfenen Lichtstrahles zwischen waagrechter und senkrechter Richtung. Auf der mit einer Skala versehenen Mattscheibe kann die Lage des Lichtstrahles beobachtet werden.

Das Galvanometer mit Projektionslampe und Transformator (Abb. 3) ist auf einer speziellen Wandkonsole angebracht. Diese Konsole ist der einzige

Bestandteil, der sich ausserhalb des eigentlichen Gerätes befindet. Diese Anordnung ermöglicht auch die selbständige Verwendung des Galvanometers zu anderen Messungen. Im Gehäuse des Galvanometers ist ein um eine waagrechte Achse drehbarer Hilfsspiegel angebracht, welcher den Lichtstrahl auf den Eintrittsspalt des Kassettenschutzgehäuses wirft. Der schädliche Einfluss der Erschütterungen wurde dadurch vermindert, dass ein Galvanometer mit gespanntem System verwendet wurde, während die älteren Konstruktionen sich eines Galvanometers mit eingehängtem System bedienten. Dadurch entfällt auch die besondere Einstellung der senkrechten Lage. Die

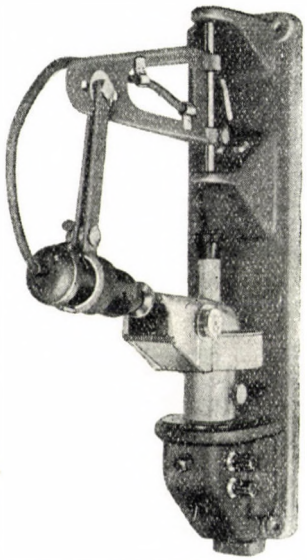


Abb. 3. Wandkonsole des Polarographen LP 55 mit Galvanometer und Projektionslampe

Drehspule ist nicht übermässig schwer wie bei den älteren Instrumenten, da die Verlängerung der Schwingungsdauer mit Hilfe einer speziellen, zur Patentierung angemeldeten Einrichtung, die das Gewicht des Systems praktisch nicht vergrössert, erreicht wird. Das Galvanometer besitzt eine Empfindlichkeit von $3 \cdot 10^{-9}$ A/mm/m, einen inneren Widerstand von etwa 300Ω und eine Schwingungsdauer von 10 bis 12 Sekunden. Die genaue Einstellung der Empfindlichkeit kann durch einen magnetischen Shunt durchgeführt werden. Die Dämpfung ist in einem weiten Bereich durch einen in die Konsole eingebauten Regulierwiderstand einstellbar. Durch Verwendung eines Hohlspiegels konnte die Länge der Projektionslampe beträchtlich verkürzt werden. Die Projektionslampe ist auf einem Arm montiert, welcher um eine in der Achse des Galvanometers angebrachte Welle drehbar ist. Durch Drehung der Lampe kann die Nullage der Galvanometerlichtmarke bequem eingestellt werden.

Die dritte neue Polarographentype ist das von P. VALENTA in unserem Institut entwickelte Gerät. Es handelt sich um einen selbstschreibenden Polarographen, der automatisch und periodisch die gesamte polarographische Kurve des untersuchten Depolarisators von einer einstellbaren Anfangsspannung bis zu einer einstellbaren Endspannung registriert.

Zur Konstruktion dieses Apparates führten mehrere Gründe. Sehr häufig wird man vor die Aufgabe gestellt, das Verhalten einer polarographischen Stufe während einer langen Zeitdauer zu verfolgen. Diese Aufgabe konnte bisher nur

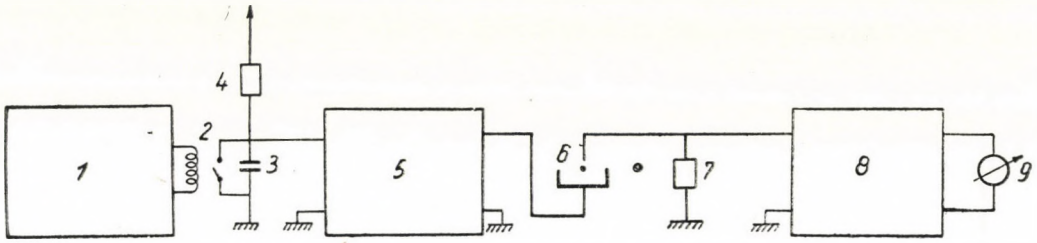


Abb. 4. Blockschema des selbstschreibenden Polarographen nach P. VALENTA

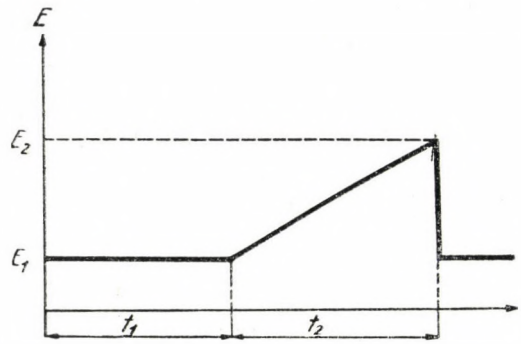


Abb. 5. Zeitlicher Verlauf der Polarisationsspannung: t_1 Zeit, in welcher die vorher eingestellte Spannung angelegt wird; t_2 Dauer der linear wachsenden Polarisationsspannung

so gelöst werden, dass entweder von Zeit zu Zeit die Kurve aufgenommen oder bei konstantem Potential der entsprechende Grenzstrom registriert wurde. Während der Registrierung des Stromes bei konstantem Potential können sich manche störenden Einflüsse geltend machen, die die Verlässlichkeit der so erhaltenen Aufnahmen vermindern. So kann sich das gewählte Potential der Tropfelektrode mit der Zeit verschieben und der Reststrom — der mitgemessen wird — verändern. In anderen Fällen kann die Gestalt der Kurve Änderungen erleiden und es besteht die Möglichkeit der Bildung weiterer Stufen. Derartige Erscheinungen können bei der Registrierung bei konstantem Potential nicht erfasst werden. Es ist ferner nicht möglich mehrere Grenzströme gleichzeitig zu verfolgen.

Das Blockschema des Apparates ist in Abb. 4 veranschaulicht. Der durch einen Multivibrator beherrschte Relaisschalter ist einem Kondensator parallelgeschaltet, der über einen grossen Widerstand aufgeladen wird. Der zeitliche Verlauf der auf diese Weise erhaltenen gewünschten Polarisationsspannung ist in Abb. 5 dargestellt. Nach Verstärkung wird die Spannung an das Elektrodensystem und den Messwiderstand angelegt. Das durch den Stromdurchgang auf diesem Widerstand gebildete Potentialgefälle wird durch einen Gleichstromverstärker, an dessen Austrittsklemmen das Registriervoltmeter angeschlossen ist, verstärkt. Die so erhaltene Aufnahme hat eine etwas ungewöhnliche Gestalt, da sie in Richtung der Spannungsachse wegen der verhältnismässig kleinen Registrationsgeschwindigkeit komprimiert ist. Sie ist jedoch in jeder Hinsicht getreu und gut messbar.

Dieses Gerät existiert vorläufig nur in Laboratoriumsausführung, es soll jedoch in Zukunft ebenfalls serienweise hergestellt werden.

Bei allen hier beschriebenen Geräten ergaben die bisherigen Prüfungen sehr befriedigende Resultate, so dass sie zweifellos eine günstige Aufnahme unter allen Polarographisten finden werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden zwei neu entwickelte tschechoslowakische Polarographentypen LP 54 und LP 55, die für die Serienherstellung im Jahre 1956 vorbereitet sind, beschrieben. Im ersten Apparat ist die potentiometrische Trommel mit der Hand drehbar; der zweite zeichnet automatisch photographische Kurven, ist jedoch in jeder Hinsicht modernisiert. Der von P. VALENTA entwickelte Polarograph mit Koordinatenschreiber für Dauerregistration wird beschrieben.

DISKUSSION

I. KRÁLIK: Wir verfolgten den Vortrag des Herrn Kollegen mit grossem Interesse und waren angenehm überrascht, wie formreiche, geistreiche und vielseitige Modelle in den letzten Jahren hergestellt wurden. Uns interessieren die neueren Modelle besonders, weil wir in einer gedrängten Lage waren und vielleicht deshalb eine neue Type eigenhändig konstruieren müssten. Nach mehreren Anfangsmodellen gelang es uns, im Textilforschungsinstitut mit mehreren Modifizierungen einen Polarographen zu bauen. Der Polarograph arbeitet mit elektronischem Verstärker und ist direktschreibend. Wir möchten uns sehr freuen, wenn sie nach den vielen Vorträgen noch Lust und Energie hätten, diesen Polarographen zu besichtigen. Wir beabsichtigen ihn im Raum der B-Sektion aufzustellen. Der Polarograph ist zur Zeit nur für industrielle Serienanalysen geeignet und wir möchten gern auch Ihrerseits die Kritik hören. Ich danke nochmals für den Vortrag.

J. ŘÍHA: Ich glaube, das ist ein zweiter Typ. Kollege SZONNTAGH zeigte mir schon einen, oder ist das der gleiche Apparat?

I. KRÁLIK: Nein, das ist ein zweiter.

J. Říha: Ich möchte Ihnen noch erwähnen, dass Sie in der nahen Zukunft neue Polarographenmodelle bekommen können, da die ersten Serien ausschliesslich für Exportzwecke hergestellt werden.

I. Králik: Ihrer Meinung nach, wann haben wir die Hoffnung, von diesen Apparaten auch nur einen einzigen zu bekommen?

J. Říha: Die ersten Stücke werden im April des Jahres 1956 herausgebracht.

I. Králik: Zur Zeit verfügen wir über einen Apparat, der für industrielle Zwecke u. zw. hauptsächlich für Ansprüche der Textilindustrie konstruiert ist.

TWO NEW CZECHOSLOVAK POLAROGRAPHS

J. Říha and *L. Šerák*

(Polarographic Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

Two recently evolved new types of Czechoslovak polarographs (Type LP 54 and LP 55) ready for serial manufacture in 1956 are described. In one of them, the potentiometric drum is operated manually, whereas the other type of completely up-to-date design prepares automatically photographic records of the curves. The polarograph designed by P. Valenta, equipped with a long-period device for recording coordinates is described as well.

Dr. Jiří Říha
Ing. L. Šerák } Praha II. Opletalova 25.

EINE NEUE METHODE ZUR DERIVATION VON POLAROGRAMMEN

J. PAULIK und J. PROSZT

(Institut für Anorganische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

In diesem Kreise ist es wohl überflüssig die Wichtigkeit der Derivation von polarographischen Kurven zu erörtern. Dennoch sei soviel erwähnt, dass die Derivationsmethode nicht nur bei der qualitativen, sondern auch bei der quantitativen Auswertung von Polarogrammen gute Dienste leisten kann. Um aber die Vorteile einer Derivation mit Sicherheit und voll ausnützen zu können, muss eine solche Methode von systematischen Fehlern möglichst frei sein, d. h. eine wirklich getreue Ableitung der *i-v*-Kurven liefern.

Das erste Derivationsverfahren war bekanntlich die von HEYROVSKY ersonnene Methode der verzögerten tropfenden Zwillingselektroden [1], die später von STANKOVIANSKY [2], sowie von AIREY und SMALES [3] bezüglich der Synchronisierung gewissermassen weiterentwickelt wurde. Wegen der Kompliziertheit und Unverlässlichkeit der Synchronisierapparatur hat sich aber diese Durchführungsart der Methode nicht verbreiten können. HEYROVSKÝ hat jedenfalls darauf hingewiesen, dass das Problem mit strömenden Elektroden — soweit solche auch in der klassischen Polarographie verwendbar sind — zu lösen wäre.

Ausser diesem Verfahren gibt es noch mehrere, von denen aber hier nur die Galvanometer- und die Kondensatorenmethode erwähnt werden sollen. Die erstere, ebenfalls von HEYROVSKÝ vorgeschlagene Methode benötigt zwei Galvanometer, von denen das eine wie gewöhnlich nur eine, das andere aber zwei Drehspulen besitzt. Die beiden letzten haben eine gemeinsame Aufhängung, und wenn man den nach der Zeit zu derivierenden Strom durch die eine Spule leitet, wird durch die Mitbewegung im Magnetfelde in der anderen Spule ein Strom induziert. Dieser Strom wird nun mit dem anderen einfachen Galvanometer registriert. Dies ist jedenfalls eine sinnreiche, jedoch etwas komplizierte Methode.

Wegen seiner Einfachheit wird aber heutzutage jedenfalls die von VOGEL und ŘÍHA [4] entwickelte, in der Polarographie allgemein verwendbare Kondensatorenmethode am meisten gebraucht. Diese Methode liefert zwar in vielen Fällen brauchbare Werte, doch lässt sie an Genauigkeit und Verlässlichkeit etwas zu wünschen übrig. Die so erhaltenen Derivationskurven sind nämlich

meistens asymmetrisch, d. h. der Abfall der Kurven nach einem Maximum ist stets weniger steil, als deren Aufstieg vor demselben, und offenbar demzufolge stimmt auch der Abszissenwert des Maximums mit demjenigen des Inflexionspunktes der Primärkurve nicht immer überein. Deshalb ist also selbst die qualitative Auswertung dieser Kurven ziemlich unsicher, worauf bereits DELAHAY [5], dann auch LINGANE und WILLIAMS [6] hingewiesen haben.

Es war also nicht ohne Interesse nach einer besseren jedoch ebenso einfachen Methode zu suchen. Eine Verbesserung der Kondensatorenmethode kam nicht in Betracht, weil für diese, namentlich in der Polarographie, recht grosse Kapazitäten notwendig sind, die einen entsprechend grossen Entladewiderstand voraussetzen. Ist aber dieser Widerstand zur Sicherung der zum Erzielen eines genügend grossen Effektes notwendigen Aufladung gross genug, so wird die Entladung unbedingt langsamer erfolgen als die Aufladung, und die Kurve wird infolgedessen immer etwas asymmetrisch, was auch eine gewisse Verschiebung des Maximums zur Folge haben kann. Besonders aber bei der oszillographisch-polarographischen Derivation können auch noch die dielektrischen Verluste der Kondensatoren einen weiteren Fehler verursachen.

Unser neues Derivationsverfahren ist nun eine Art Transformatorenmethode und es besteht darin, dass der polarographische Strom durch die Primärspule eines geeigneten Transformators geleitet in der Sekundärspule derselben einen Strom induziert, der an der Photowalze registriert die genaue derivierte Kurve des Primärstromes wiedergibt.

Die in einem elektrischen Leiter durch das magnetische Feld induzierte elektromotorische Kraft (ε) ist nämlich bekanntlich der Geschwindigkeit der Änderung des Kraftflusses proportional, d. h.

$$\varepsilon = -C_1 \frac{d\Phi_1}{dt} \tag{1}$$

wo die Grösse der Konstante C_1 von der Richtung des magnetischen Feldes, von den Abmessungen der Spule (Sekundärspule), sowie von den magnetischen Eigenschaften des die Spule umgebenden Materials abhängig ist.

Wenn nun eine andere Spule durch den Strom i durchflossen wird, so gilt für ihr magnetisches Feld, dass

$$\Phi_2 = C_2 \mathrm{i},$$

d. h. im inneren der Spule entsteht ein der Stromstärke proportionaler Kraftfluss, wo C_2 die Konstante dieser primären Spule bezeichnet. Bei der zeitlichen Änderung der Stromstärke gilt dann für die Kraftflussänderung

$$\frac{d\Phi_2}{dt} = C_2 \frac{di}{dt}. \tag{2}$$

Wird nun diese Spule koaxial in die Sekundärspule geschoben, so entsteht in der letzteren ein Strom, der durch das magnetische Feld des in der primären Spule fliessenden Stromes bedingt wird. Der Kraftfluss ist in beiden Spulen gleich, also $\Phi_1 = \Phi_2$, und hieraus ergibt sich aus den Gleichungen (2) bzw. (1), dass

$$\varepsilon = -C_1 C_2 \frac{di}{dt} \tag{3}$$

ist.

Wenn die Sekundärspule, deren Widerstand den Wert R_S haben soll, durch einen konstanten Widerstand R_G, d. h. durch ein Galvanometer kurzgeschlossen wird, so gilt für diesen Stromkreis, dessen Widerstand $R_S + R_G = R$ beträgt, nach dem Ohm'schen Gesetze, dass

$$I = -C_1 C_2 \frac{1}{R} \frac{di}{dt} .$$

Da die Änderung der Stromstärke aber in der Polarographie in ihrer Spannungsabhängigkeit registriert wird, muss man dafür sorgen, dass die Spannungsänderung mit der Zeit streng linear erfolgen soll. Da dies bei der modernen Apparatur bekanntlich auf keine Schwierigkeiten stösst, d. h. $V = C_i t$ gilt, kann man obige Formel nach Zusammenziehen sämtlicher Konstanten als

$$I = -C \frac{di}{dV} \text{ schreiben.}$$

Die Versuche wurden mit einem HEYROVSKÝ-Apparat Typ 301 durchgeführt. Die Empfindlichkeit des Galvanometers war $2{,}7 \cdot 10^{-9}$ A/mm, sein innerer Widerstand betrug 568Ω, sein äusserer Grenzwiderstand war bei einer Schwingperiode von 8 sec. 4000Ω. Zur Dämpfung der Tropfschwingungen wurde ein Elektrolytkondensator C von 2000 μFarad eingeschaltet (Abb. 1).

Der Transformator T hatte einen aus guten Trafoeisen-Platten verfertigten geschlossenen Eisenkern und wurde so konstruiert, dass seine Sekundärspule dem äusseren Grenzwiderstand des Galvanometers entsprechend 4000Ω betrug, wozu aus einem 0,2 mm starken Draht etwa 60 000 Windungen nötig waren. Die Primärspule sollte demgegenüber einen möglichst kleinen Widerstand haben, um denselben neben dem Widerstande der polarographischen Zelle vernachlässigen zu können. So wurde diese Spule aus einem emailisolierten Kupferdraht von 0,5 mm Durchmesser gewickelt, und hatte 15 000 Windungen und einen Widerstand von 200Ω. Der Transformator wurde wegen Ausschaltung äusserer magnetischer Störungen in einem Gehäuse aus 2 mm starker Eisenplatte untergebracht und ausserdem die Achse der Spulen in den magnetischen Meridian eingestellt. An das Potentiometer des Polarographen wurde statt des üblichen 2—4 V eine Spannung von 6 V gelegt um die Geschwindigkeit des Vorganges zu vergrössern und dadurch grössere Derivations-

maxima zu erhalten. Da die Primärspule an mehreren Stellen angezapft war, konnte die Empfindlichkeit auch auf diesem Wege geregelt werden. Schlechte Kontakte verursachen an den gewöhnlichen Polarogrammen meistens nur

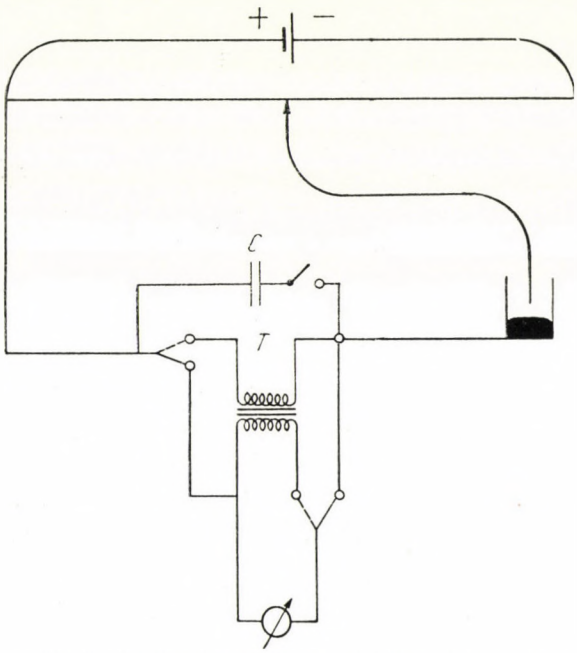


Abb. 1. Derivationsschaltung mit Transformator

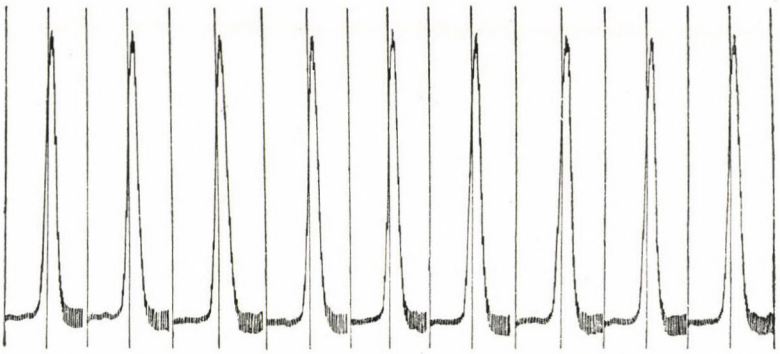


Abb. 2. Reproduzierbarkeit der Derivationskurve
(Zusammensetzung der Lösung: 0,25n NH_4OH, 0,25n NH_4Cl, 0,005n Cd^{2+})

»Schönheitsfehler«, eine Derivationsaufnahme kann aber durch solche völlig vereitelt werden. Deshalb ist es ratsam statt der Schleifkontakte an den Enden des Potentiometerdrahtes angelötete, aber natürlich leicht biegsame Zuleitungen zu verwenden.

Mit der geschilderten Versuchsanordnung haben wir zuerst das derivierte Polarogramm von Cd^{2+}-Ionen in 0,005n Konzentration in ammonalkalischer Lösung mehrmals hintereinander aufgenommen, um die Reproduzierbarkeit der Kurven festzustellen (Abb. 2). Die Höhen der Maxima wiesen nun eine $\pm 2\%$ige Streuung auf, deren Ursache hauptsächlich darin zu suchen ist, dass die Maxima in verschiedenen Tropfperioden erreicht werden. Die Stufenhöhen der nicht derivierten Polarogramme zeigen demgegenüber in derselben Lösung wiederholt aufgenommen bekanntlich keine Streuung. Nachdem die Derivations-

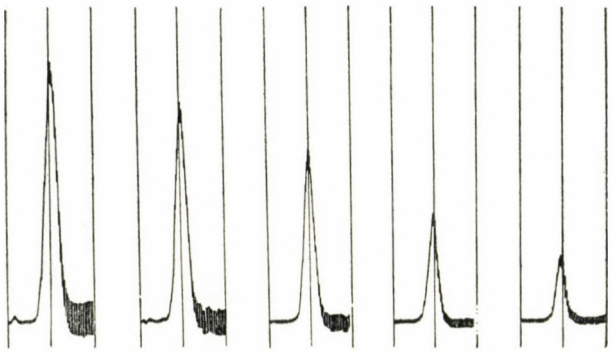


Abb. 3. Derivationspolarogramme von Cd^{2+}-Lösungen verschiedener Konzentration (0,006, 0,005, 0,004, 0,0025, 0,0015n Cd^{2+}-Ionen in einer Grundlösung 0,1n NH_4OH, 0,1n NH_4Cl; Maximahöhen: 67,5, 57,0, 45,0, 27,5, 17,0 mm)

maxima auch in Cd-Lösungen verschiedener Konzentration aufgenommen wurden, konnte festgestellt werden, dass die Höhe der Maxima der Konzentration proportional und nur mit einem der erwähnten Streuung entsprechenden Fehler behaftet ist (Abb. 3 und 4). Bei den nach der Kondensatorenmethode erhaltenen Maxima treten nach unseren Erfahrungen entschieden grössere Fehler auf.

Als Hauptvorteil der neuen Methode kann jedoch der Umstand angesehen werden, dass der Kurvenlauf vor und nach den einzelnen Maxima völlig symmetrisch ist und hiermit auch die Abszissenwerte der Maxima mit denen der Inflexionspunkte der entsprechenden Polarogramme genau übereinstimmen. Dies ist aus Abb. 5 klar zu ersehen, wo die derivierte Kurve zwecks Demonstration auch in umgekehrter Richtung aufgenommen wurde. Die Abszisse der Maxima verschiebt sich nicht im geringsten Masse, und die auf dem Bild sichtbare geringe (auf dem Original etwa 1 mm grosse) Verschiebung ist nur dem toten Gange der polarographischen Apparatur zuzuschreiben, dessen Grösse an der Verschiebung der mitaufgenommenen Abszissenlinien gut sichtbar ist. Es soll noch bemerkt werden, dass bei Aufnahme derivierter Kurven die Verwendung von Dämpfern zu grosser Kapazität (über 2000 μFarad) jedenfalls

zu vermeiden ist, weil dadurch das Maximum doch verschoben werden könnte. Bei mässiger Erhöhung der Tropffrequenz kommt man aber immer mit den zulässigen Kapazitäten aus.

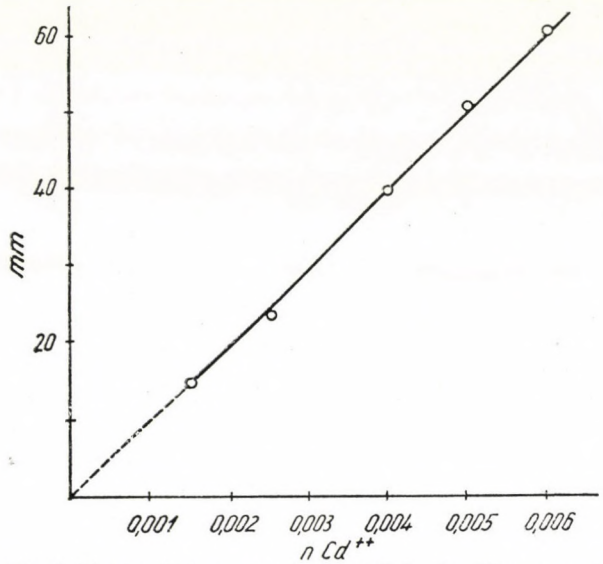


Abb. 4. Maximahöhen von Abhängigkeit der Konzentration

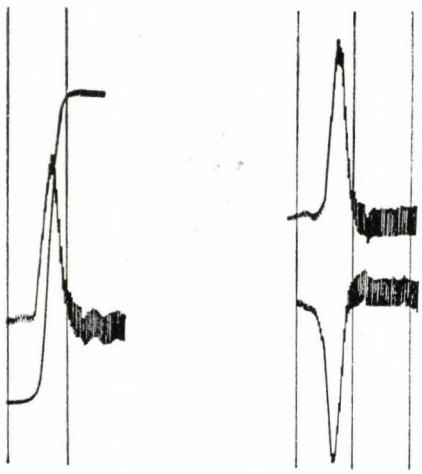


Abb. 5. Die Symmetrie der Ableitungskurven
(Zusammensetzung d. Lsg: 0,25n NH_4OH, 0,25n NH_4Cl, 0,005n Cd^{2+})

Die Höhen der Maxima derivierter Polarogramme können jedoch nur mit Vorbehalt zur quantitativen Auswertung empfohlen werden. Eine gute Konzentrationsproportionalität besteht nämlich nur dann, wenn es sich nur um ein einziges Ion, oder aber um zwei solche Ionen handelt, deren Reduktions-

potentiale stärker auseinander liegen. Die Anwendung der Derivation in der quantitativen polarographischen Analyse ist aber gerade dort empfehlenswert, wo es sich um Bestimmung von Depolarisatoren handelt, deren Halbstufenpotentiale dicht nebeneinander liegen, z. B. im Falle des Thalliums und des Kadmiums. Wenn wir aber — wie z. B. mittels der hier angegebenen Transformatorenmethode — bezüglich der qualitativen Achse exakt derivieren können, so geschieht es am besten, wenn man die so erhaltene Kurve (Abb. 6) bloss zur Auswertung des primären (nicht derivierten) Polarogrammes benützt. Das Minimum zwischen beiden Maxima (Tl und Cd) der derivierten Kurve zeigt

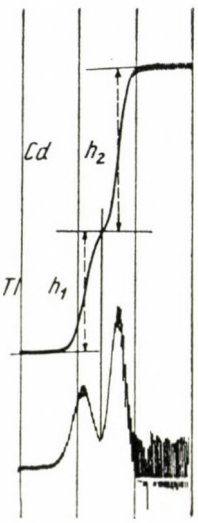


Abb. 6. Auswertung von Polarogrammen mittels ihrer Derivierten. (Zusammensetzung d. Lsg: 0,5n KNO_3, 0,0045n Tl^+, 0,006n Cd^{2+}; Gemessene Stufenhöhen: $h_1 = 23{,}5$, $h_2 = 32{,}0$ mm)

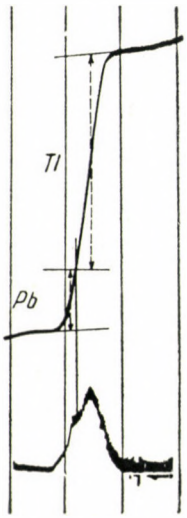


Abb. 7. Quantitative Bestimmung im Falle ganz geringen Reduktionspotentialunterschiedes (50 mV) zweier Ionen. (Zusammensetzung d. Lsg: 0,1n KCl, 0,001n Pb^{2+}, 0,004n Tl^+; abgelesene Stufenhöhen: 11,5 bzw. 42,5 mm)

nämlich offenbar die Potentialstelle an, bei der auch die Reduktion des folgenden Ions beginnt. Man projiziert also diesen Minimalpunkt auf das normale Polarogramm und man sieht, dass auch derart zusammenfliessende Stufen (Abb. 7) recht gut auszuwerten sind, wie die des Bleies und des Thalliums, deren Reduktionspotenziale sich tatsächlich nur um 50 mV unterscheiden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde ein neues apparatives Derivationsverfahren für Zeitfunktionen von gewissen physikalischen Grössen beschrieben und insbesondere für die Ableitung polarographischer Strom-Zeit-, bzw. Strom-Spannungkurven ausgearbeitet.

LITERATUR

1. J. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **40**, 222 (1946); Analyst **72**, 229 (1947).
2. S. STANKOVIANSKY: Chem. Zvesti **2**, 133 (1948).
3. L. AIREY und A. A. SMALES: Analyst **75**, 287 (1950).
4. J. VOGEL und J. ŘÍHA: J. Chim. physique Physico-Chim. biol. **47**, 5, (1950); J. ŘÍHA: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **17**, 479 (1951); vergl. ferner M. P. LEVEQUE und F. ROTH: J. Chim. physique Physico-Chim. biol. **46**, 480 (1949).
5. P. DELAHAY: Analytica chim. Acta [Amsterdam] **1**, 19 (1947).
6. J. J. LINGANE und R. WILLIAMS: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 790 (1952).

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ: Die von Prof. PROSZT vorgetragene und in seinem Institut ausgearbeitete Methode ist sehr elegant und geistreich. Wir verstehen vollkommen die Theorie, aber einige Einzelheiten möchte ich fragen. Wie gross ist der Transformator?

J. PROSZT: Wir hatten ihn nicht gewogen, sein Gewicht dürfte ungefähr 6—8 kg betragen.

J. HEYROVSKÝ: Kann ich die Spule besichtigen?

J. PROSZT: In Budapest wird sich unbedingt die Gelegenheit bieten.

J. HEYROVSKÝ: Ich hätte noch eine Frage: können die beiden Kurven gleichzeitig registriert werden, wenn man über zwei Galvanometer verfügt?

J. PROSZT: Prinzipiell ginge das natürlich ohne Schwierigkeiten.

J. HEYROVSKÝ: Wie gross ist die Empfindlichkeit, verglichen mit der Aufnahme der primitiven Kurve?

J. PROSZT: Es muss etwa eine 50-fache Galvanometer-Empfindlichkeit angewendet werden.

J. HEYROVSKÝ: Gleich wie bei uns. Ich glaube Kollege Říha kann Ihnen sagen, warum die Asymmetrie der derivierten Kurven entsteht.

J. ŘÍHA: Das hängt von der Zeitkonstante ab. Wir dachten seinerzeit auch auf die besprochene Methode, wir fürchteten uns aber einerseits vor der Grösse der Transformatorspule und vor dem Spannungsabfall in dem Servosystem, in dem gegebenen Fall im Galvanometer. Mit anderen Worten, wir fürchteten, dass der Stromstoss im Galvanometer zu mild sein wird, d. h. dass der Stromabfall im Galvanometer den ersten Zweig beeinflussen wird. Ich möchte noch bemerken, dass mit der SMOLEŘschen Kapillare die Dämpfung sehr bequem sein wird.

J. PROSZT: Ja, auch wir wollten mit der SMOLEŘschen Kapillare arbeiten, und haben auch weitere Pläne damit, die aber wegen Mangel an entsprechenden Kapillaren bisher noch nicht durchgeführt wurden. Prof. HEYROVSKÝ tat uns den Gefallen, aus Prag entsprechende Röhren zu schicken.

J. ŘÍHA: Die Dämpfungskapazität wird allerdings viel kleiner sein.

J. PROSZT: Ja, das ist ein Vorteil.

J. ŘÍHA: Ich weiss nicht, ob Sie beobachtet haben, dass einige Kondensatoren eher als Potentialquellen, denn als Kapazitäten funktionieren.

J. PROSZT: Bei Elektrolyt-Kondensatoren ist das oft der Fall, leider sind aber grosse Kapazitäten anders nicht leicht herzustellen.

J. HEYROVSKÝ: Die besprochene Methode ist ein bedeutender Schritt im Bereiche der Derivation.

A NEW METHOD FOR THE DERIVATION OF POLAROGRAMS

J. Paulik and *J. Proszt*

(Institute of Inorganic Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

A recently evolved apparative derivation method is described for obtaining the time functions of certain physical parameters, and mainly for establishing polarographic current-time and current-potential curves, respectively.

Jenő Paulik
Prof. Dr. János Proszt } Budapest, XI., Gellért tér 4.

POLAROGRAPHIE IN DER METALLURGISCHEN PRAXIS

M. Spálenka

(Polarographisches Laboratorium des Instituts für Metallforschung, Panenské-Brezany)

Eines der sehr wichtigen Fachgebiete der Polarographie ist ihre Applikation in der analytischen Chemie. Insbesondere bei Analysen der anorganischen Materialien findet die Polarographie vielseitige Anwendung. In der gegenwärtigen Literatur können wir eine ganze Reihe polarographisch-analytischer Methoden für verschiedene Metalle, Legierungen, Erze, Konzentrate, Abfälle, Schlacken und viele andere, in der Metallurgie sehr wichtige Materialien finden, die mit grossem Erfolg benützt werden. Es gibt viele Gründe, die uns zur Anwendung der polarographischen Methode veranlassen. Es handelt sich vor allem um Vorteile, welche im Vergleich mit den früher angewandten chemisch-analytischen Methoden immer als Fortschritt oder Verbesserung angesehen werden können. Unter diesen Vorteilen können wir nicht übersehen :

1. Geschwindigkeit
2. Einfache Vorbereitung von Lösungen
3. Möglichkeit einer gleichzeitigen Bestimmung mehrerer Elemente
4. Genauigkeit
5. Reproduzierbarkeit
6. Objektivität
7. Zeit- und Materialersparnisse
8. Empfindlichkeit
9. das Polarogramm bleibt als ein dauernder Beleg
10. die mikrochemische Natur der Bestimmung.

Es ist hier nicht möglich sämtliche Vorzüge der polarographischen Analyse ausführlich zu beschreiben, es ist jedoch nötig den grössten Vorteil derselben, d. h. die Einfachheit der Vorbereitung von Lösungen und die damit zusammenhängende Möglichkeit der sogenannten polarographischen Trennung zu betonen. Wenn wir die Verschiedenheit der Halbstufenpotentiale ausnützen, können wir ein Element oder mehrere auch bei einem grossen Überschuss an anderen Elementen ohne irgendeine chemische Trennung bestimmen. Die Vorbereitung der Lösung des analysierten Materials verläuft demzufolge fast immer sehr einfach und beansprucht keine besondere chemische Operationen, die bei der chemischen Trennung eines Elementes von anderen Elementen üblich sind.

Die einfachste Methode ist die Bestimmung der elektrochemisch edleren Metalle im Material, dessen Hauptbestandteil ein unedles Element bildet.

Als Beispiel kann man anführen:
die Kupfer-, Blei-, Kadmium- oder Thalliumbestimmung im Zink [1, 1a], die Cu-, Pb-, Ni-, Zn- oder Cr-Bestimmung im Aluminium [2, 2a, 2b], die Bestimmung von Bleispuren im Eisen [3] usw.

Die Salze der unedleren Elemente wirken dabei als Grundlösung oder als indifferenter Elektrolyt; auf den polarographischen Kurven bilden sich in diesem Falle nur die Stufen der edleren Elemente. Wenn überschüssige Mengen von edleren Elementen anwesend sind, ist die Bestimmung der unedleren Elemente nicht so einfach. Manchmal kann man jedoch den störend wirkenden Einfluss des edleren Elementes mittels Komplexbildung verhindern; dadurch werden die Depolarisationspotentiale zu negativeren Werten verschoben. Auf den polarographischen Kurven messen wir dann die Stufen der unedlen Elemente, welche fast unveränderte Depolarisationspotentiale haben.

Zur Komplexbildung sind Alkalihydroxyde, verschiedene organische Säuren (Weinsäure, Oxalsäure, Zitronensäure, Äthylendiamintetraessigsäure), alkalische Rhodanide und Cyanide, Triäthanolamin, Äthylendiamintartarat und andere sehr geeignet.

Manche Elemente können auch gefällt werden, z. B. Blei als Bleisulfat oder Eisen als Eisenhydroxyd; in den klaren Lösungen können wir dann Cu, Bi, Cd, Ni und Zn [4] bzw. Cu, Ni, Co, Mn und V [5] bestimmen.

Durch Reduktion des störend wirkenden Elementes zu einer niedrigeren Valenzstufe oder bis zum Metall kann man das erwünschte Ziel auch erreichen. Zu gewöhnlichen chemischen Trennungsverfahren greifen wir in der Polarographie nur in den dringlichsten Fällen.

Mit Bezug auf diese polarographischen Trennungsmöglichkeiten, sowie auf die leichte Vorbereitung der Lösung des zu prüfenden Materials und auf die zweckmässige Wahl der Grundlösung, die sich zur Gewinnung gut messbarer Stufen des zu bestimmenden Elementes eignet, wird die polarographische Methode bei verschiedenen Werkstoffprüfungen mit grossem Erfolg angewandt. So werden Spurenelemente, Verunreinigungen, kleine Leguren und grössere Bestandteile bei den Analysen von reinen Metallen (z. B. Zn, Al, Pb, Sb, Ni, Sn, Cu), Aluminiumlegierungen, legierten Stählen, Loten, Permalloy-Typen, Lagermetallen, verschiedenen Bronzen, Messingen und verschiedenen anderen Speziallegierungen polarographisch quantitativ mit grosser Genauigkeit bestimmt.

Den Fortschritt der Polarographie können wir auch in der zunehmenden Anzahl der polarographisch-analytischen Methoden beobachten, da dieselben die Genauigkeit der Bestimmung erhöhen und die chemische Arbeit erleichtern. Als Beitrag zu der polarographischen Methodik werden auf dieser ungarisch-tschechoslowakischen Konferenz vier neue Beispiele der metallurgischen polarographischen Analyse angeführt.

1. Die polarographische Chrombestimmung im Permalloy

Die Einwage von 1 g der Fe-Ni- oder Cu-Fe-Ni-Legierung (die etwa 2% Cr enthält) wird in einem 100 ml Messkölbchen in 20 ml heisser konzentrierter Salzsäure gelöst ; beim Auflösen der Probe werden etwa 3 ml konzentrierter Salpetersäure langsam und tropfenweise zugegeben. Die klare Lösung wird abgekühlt, mit Wasser zur Marke gespült und durchgemischt. Zu der Chrombestimmung werden davon 10 ml in ein 100 ml Messkölbchen abpipettiert und mit 10 ml Bromwasser und 20 ml einer 2n NaOH-Lösung versetzt. Diese alkalische Lösung wird etwa 5 Minuten gekocht. Nach dem Abkühlen werden

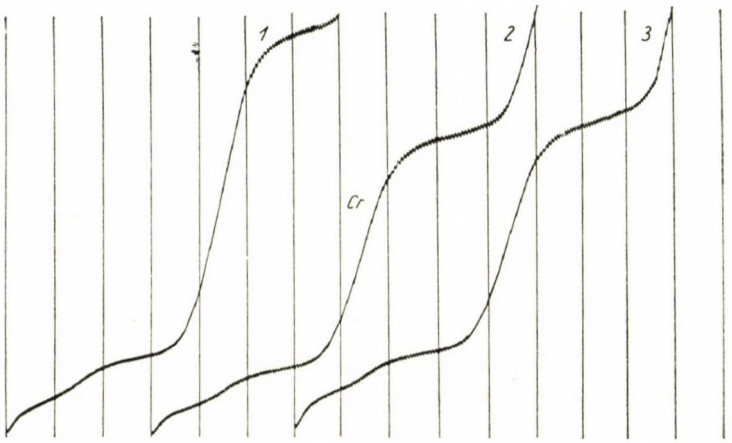


Abb. 1. Chrombestimmung im Permalloy
Kurve 1 : Synthetische Standardlösung
Kurven 2 und 3 : Probelösungen (Gehalt 1,74% Cr)

10 ml 10m NaOH, 5 ml NH_4OH (1 : 1), 3 ml halbprozentiger Gelatinelösung zugefügt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Nach dem Durchmischen und kurzem Absetzen des Niederschlages wird die Lösung in einer H_2- oder N_2-Atmosphäre im Bereich von 0—1,4 V polarographiert. Ebenso wird eine Standardlösung mit bekanntem Chromgehalt verarbeitet und polarographiert (Abb. 1).

2. Die polarographische Zinkbestimmung in einer Al-Zn-Mg-Legierung

Bei dieser Bestimmung wird 1 g der Probe in einem 100 ml Messkölbchen in 15 ml Salzsäure (1 : 1) gelöst, die Lösung mit dem ungelösten Kupfer mit 1 ml Perhydrol aufgekocht und nach völligem Auflösen der Probe abgekühlt, mit Wasser gespült und durchgemischt. 10 ml dieser Lösung werden in ein 100 ml Messkölbchen abpipettiert, mit Wasser auf etwa 30 ml verdünnt, mit

5 ml einer 10n NaOH-Lösung alkalisch gemacht und kurz aufgekocht. Nach dem Abkühlen werden noch 10 ml Ammoniak (1 : 1), 2 ml einer gesättigten Na_2SO_3-Lösung, 2 ml halbprozentiger Gelatinelösung und Wasser bis zur Marke zugefügt. Die Kurven werden von 0,8 V an in einer Wasserstoffatmosphäre

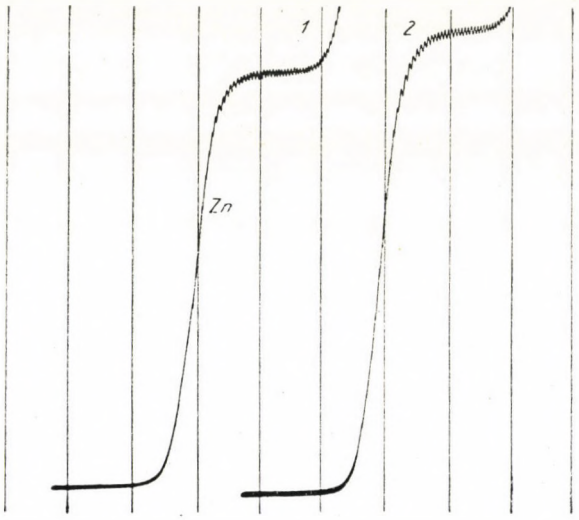


Abb. 2. Zinkbestimmung in einer Al-Zn-Cu-Mg-Legierung
Kurve 1 : Synthetische Standardlösung
Kurve 2 : Probelösung, Ergebnis 7,53% Zn

registriert ; eine synthetisch vorbereitete Standardlösung wird unter denselben Bedingungen polarographiert (Abb. 2).

3. Polarographische Bleibestimmung in reinem Zinn

Bei dieser Bestimmung muss das Zinn quantitativ entfernt werden ; 2 g der Probe werden in einem Becherglas in 25 ml Königswasser gelöst, 10 ml etwa 50% Bromwasserstoffsäure zugegeben und bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird nochmals nach Zugabe von 8 ml derselben Bromwasserstoffsäurelösung eingedampft ; dieses zweite Abrauchen ist fast immer genügend. Wenn aber der Rückstand noch jetzt etwas Zinn enthält, muss er mit 5 ml HBr noch einmal verdampft werden. Nun wird der Rückstand mit 10 Tropfen HCl (1 : 1) angesäuert und in ein 50 ml Messkölbchen quantitativ überführt ; die Lösung wird nach Zugabe von 1 ml 0,5% Gelatinelösung mit Wasser zur Marke gespült und durchgemischt. Davon wird in zwei kleine Bechergläschen je 10 ml der Lösung pipettiert, in das erste der Eichzusatz und in das zweite dieselbe Menge Wasser zugegeben. Beide Lösungen werden in einer Wasserstoffatmosphäre anodisch-katodisch bis — 0,8 V polarographiert (Abb. 3 und 4).

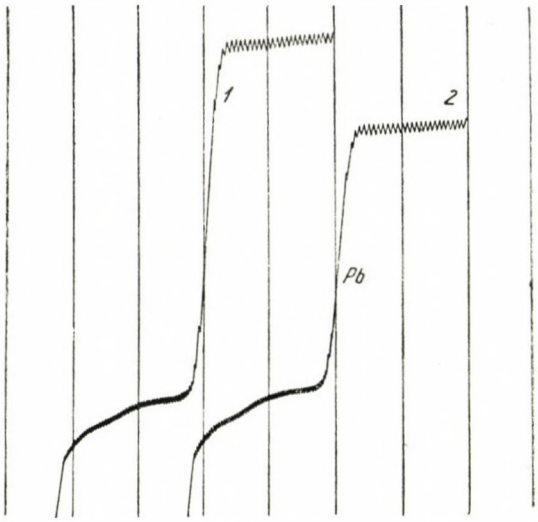


Abb. 3. Bleibestimmung im Zinn
Kurve 1: Probelösung mit dem Standard-Zusatz
Kurve 2: Lösung einer Probe mit 0,40% Pb

Abb. 4. Bleispuren in reinem Zinn
Kurve 1: Probelösung mit dem Standard-Zusatz
Kurve 2: Probelösung allein; Analysenergebnis 0,024% Pb

4. Polarographische Cu-, Cd- und Ni-Bestimmung im Stannit

Nach den Versuchen von M. VESELÁ können — ganz ähnlich wie oben angeführt — alle drei Elemente im Stannit bestimmt werden. Cu, Cd und Ni sind kleine Leguren dieses Lagermetalls, welches Zinn als Hauptbestandteil

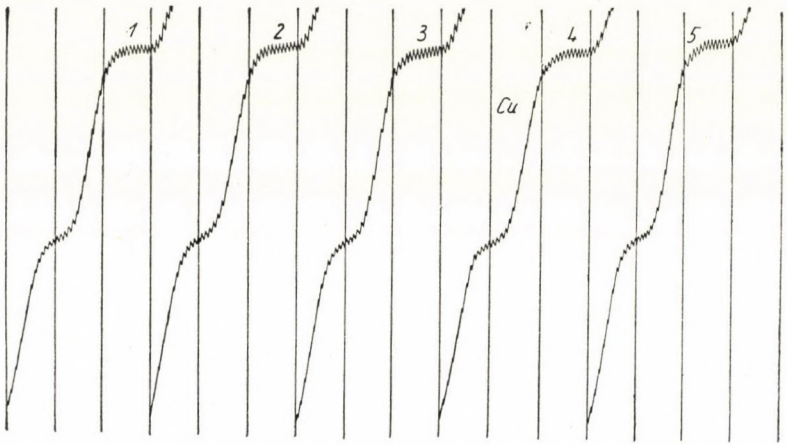


Abb. 5. Kupferbestimmung im Stannit
Kurve 1 : Standardlösung
Kurven 2—5 : Probelösungen

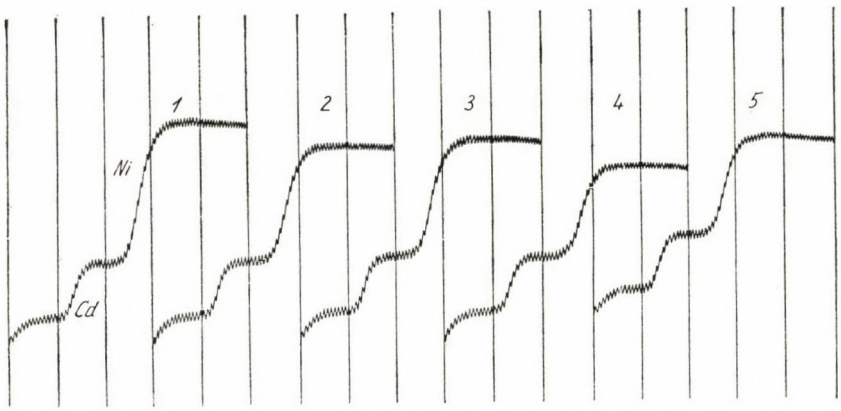


Abb. 6. Cd- und Ni-Bestimmung im Stannit
Kurve 1 : Standardlösung
Kurven 2—5 : Probelösungen

enthält. Diese Zusätze betragen etwa 3% für Cu und je 1% für Cd und Ni. Die Einwaage von 2 g der Probe wird in einem Becherglas in 25 ml Königswasser vollständig gelöst und mit 10 ml etwa 50% HBr zur Trockne eingedampft. Dieses Eindampfen wird mit 5 ml HBr zweimal oder dreimal wiederholt, der letzte Rückstand wird in 10 ml HCl (1 : 1) gelöst und in ein 100 ml

Messkölbchen mit Wasser quantitativ gespült. 10 ml dieser Lösung werden in ein 100 ml Messkölbchen pipettiert und 10 ml 4m NH_4Cl, 10 ml NH_4OH (1 : 1), 2 ml einer gesättigten Na_2SO_3-Lösung und 2 ml halbprozentiger Gelatinelösung zugegeben. Diese mit Wasser gespülte und durchgemischte Lösung, sowie auch eine synthetisch vorbereitete Standardlösung werden von 0 bis — 0,6 V polarographiert und die Kupferwellen registriert (Abb. 5). Dann wird die Lichtmarke bei — 0,4 V Spannung auf 1 cm des Spaltes der Kasettenskala eingestellt, und die Fortsetzung der polarographischen Kurve mit den Cd- und Ni-Wellen weiter registriert (Abb. 6).

ZUSAMMENFASSUNG

Vorteile der polarographischen Analyse und vier Beispiele der Methodik werden beschrieben. 1. Einfache polarographische Chrombestimmung im Permalloy nach Alkalisierung der sauren Probelösung. 2. Die Zinkbestimmung in der Al-Zn-Mg-Legierung, in der die Aluminatlösung unter Anwesenheit von Ammoniak polarographiert wird. 3. Polarographische Bleibestimmung im Zinn nach der Entfernung der Zinnsalze durch Abrauchen. 4. Polarographische Cu, Cd und Ni-Bestimmung im Stannit. Das Zinn wird abgeraucht und die salzsaure Lösung des Rückstandes wird ammoniakalisch gemacht.

LITERATUR

1. F. Ensslin, H. Dreyer und K. Abraham : Metall u. Erz **39**, 184 (1942).
1a. W. Kilian : Analyse der Metalle — Schiedsverfahren (Chemiker Fachausschuss des Metall und Erz), (Springer Verlag, Berlin) Band I, 1942, S. 442—445.
2. S. S. Muchina : Зав. Лаб. (Fabrikslabor.) **14**, 153 (1948).
2a. W. Stross : Metallurgia (Manchester) **37**, 49 (1947).
2b. M. Spálenka : Hutnické Listy **9**, 403 (1954).
3. G. Haim und W. C. E. Barnes : Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **14**, 867 (1942).
4. S. P. Schaikind : Ж. Прикл. Хим. (Z. angew. Chem.) **11**, 1378 (1938).
5. M. v. Stackelberg, P. Klinger, W. Koch und E. Krath : Techn. Mitt. Krupp, Forschungsber. **2**, 59 (1939).

DISKUSSION

I. Bozsai : Wir verwendeten im Laboratorium der Csepel-Werke bei der Bestimmung des Zinkes ein ammoniakalisches Sulfosalicylmedium. Es wurde keine Fällung beobachtet, die Form der Zinkstufen war gut.

M. Spálenka : Die Sulfosalicylsäure kann — ebenso wie die Weinsäure — die Aluminiumhydroxidfällung verhindern. Wie gross war die Einwaage bei der Zinkbestimmung in der Mg-Al-Legierung?

I. Bozsai : Aus einer Stammlösung, die 0,5 g enthielt, polarographierten wir Teile mit 0,050 g Gehalt.

M. Spálenka : Die ursprüngliche Einwaage betrug also 0,5 g. Welche Konzentration von NH_3 und NH_4Cl haben Sie dabei benutzt?

I. Bozsai : Zinkbestimmungen wurden in einem Medium durchgeführt, das 0,25 n NH_4OH — NH_4Cl und 1% Sulfosalicylsäure enthielt. Gelatine und Na_2SO_3 waren auch zugegen.

M. Spálenka : In diesem Medium stören Eisen und Aluminium nicht. Das ist auch eine Möglichkeit, den Niederschlag zu vermeiden. Wir verwendeten

bei diesen Messungen eine alkalische Lösung. Hier ist Aluminium als Aluminat anwesend, nur die Zinkstufe wird registriert. Der Magnesiumgehalt ist klein und die kleine Menge von $Mg(OH)_2$ wirkt nicht störend.

I. Bozsai: Während unserer Versuche wurde die Ausbildung der Zinkstufen auch in Anwesenheit anderer Komplexbildner untersucht. In einem Ammonia-Zitronensäure-Medium sind die Stufenhöhen schwer auszuwerten. Bei Anwendung von Komplexon III ist eine verzogene Stufe zu beobachten. Die Höhe der Stufe ist in Anwesenheit von Aluminium immer niedriger als in reinen Lösungen. Die Betriebsuntersuchungen wurden mit einer viel Aluminium enthaltenden Aluminiumlegierung durchgeführt.

M. Spálenka: Das ist eine ähnliche Analyse wie die der Aluminiumverbindungen, nur die Menge des Magnesiums ist etwas höher als bei den Aluminium-Magnesium-Legierungen. Umgekehrt, dort ist mehr Aluminium vorhanden, aber die Bedingungen sind sehr ähnlich.

I. Bozsai: Mit dieser Methode ist die Bestimmung des Zinks in Kupferschlacke gelungen.

M. Spálenka: Die Methode scheint nicht schwierig zu sein.

POLAROGRAPHY IN PRACTICAL METALLURGY

M. Spálenka

(Polarographic Laboratory, Institute for Research of Metals, Panenské-Brezany)

Summary

Subsequent to a discussion of the advantages offered by polarographic analysis, four cases are described to show the application of the technique. 1. A simple polarographic method for determining the chromium content in permalloy, after making alkaline the acidic test solution. 2. Determination of the zinc content of an Al-Zn-Mg alloy, by polarographing the aluminate solution in the presence of ammoniac. 3. Polarographic determination of lead in tin, subsequent to the removal of tin salts by fuming. 4. Polarographic determination of copper, cadmium and nickel in stannite. Tin is removed by fuming, then the hydrochloric acid solution of the residue is treated with ammoniac.

Dr. Miloš Spálenka Panenské Brezany

DIE POLAROGRAPHISCHEN BESTIMMUNGS-MÖGLICHKEITEN DES MAGNESIUMS

Z. Ferenczy, A. Almásy und † G. Szádecky-kardoss

(Forschungsinstitut für die Chemische Schwerindustrie, Veszprém)

Es ist allgemein bekannt, dass die polarographische Stufe des Magnesiums nur bei sehr negativen Potentialwerten (—2,3 V) bemerkbar ist. Die Stufe, die in Anwesenheit der Tetraäthylammonium- und Tetramethylammoniumsalze entsteht, ist für die qualitative Beobachtung anwendbar, doch für quantitative Zwecke völlig ungeeignet, da bei Anwendung der Quecksilbertropfelektrode das Maximum der Stufe nicht zu unterdrücken ist.

Übrigens scheint die direkte Magnesiumbestimmung nicht vorteilhaft zu sein, weil die analytische Methode wegen der schwierigen Trennung der Kationen der vierten und fünften Gruppen auf grosse Hindernisse stösst.

Die indirekte Bestimmung des Magnesiums mit 8-Hydroxychinolin ist bekannt. Carruthers [1] löst das mit dem Reagens ausgefällte Komplex des Magnesiums und misst die Stufenhöhe des Reagens, die bei dem Potentialwert von —1,5 Volt erscheint. Wegen der langsamen Lösung des Niederschlages ist die Methode unbequem.

Stone und Furman [2] versuchten diese Schwierigkeit zu beseitigen. Sie massen den Überschuss des Orthooxychinolins in der Lösung. Aber auch bei dieser Methode ist den Autoren gemäss der durchschnittliche relative Fehler der Bestimmung 5%. Diese Genauigkeit ist oft ungenügend. Wahrscheinlich verursachte der grosse relative Fehler und die Unbequemlichkeit der Methode, dass — während elf Jahren, die seit der Erscheinung dieser Mitteilung vergangen sind — nur Edgcombe und Gregory [3] mit einer ähnlichen Methode die Magnesiumbestimmung versuchten.

Ihre Versuche klärten, dass die Anwendung eines pH-Meters für die Bestimmung der Stufe Orthooxychinolins unvermeidlich ist.

Unter solchen Umständen lohnt es sich die Mühe zu nehmen genauere und einfachere Methoden zu suchen.

Zum Zweck der polarographischen Bestimmung sind die unlöslichen Komplexe des Magnesiums mit Hexamethylentetramin die günstigsten. Ausserdem haben wir auch die Komplexe des Magnesiums mit dem Farbstoff Eriochromschwarz T ausprobiert.

Die von uns ausprobierten Verbindungen sind die folgenden:

1. $MgJ_2 \cdot 2(CH_2)_6N_4 \cdot 10\,H_2O$
2. $MgCr_2O_7 \cdot 2(CH_2)_6N_4 \cdot 5H_2O$
3. $3\,MgCa[Fe(CN)_6] \cdot 4\,(CH_2)_6N_4 \cdot 40H_2O$
4. Das Magnesiumkomplex mit Eriochromschwarz T.

1. BLANCHETIERE und ARNOUX [4] klärten die Struktur der ersten Verbindung. Das Magnesiumkomplex fällt im Überschuss des Reagens aus und ist ohne Verlust mit einer Hexamethylentetraminlösung leicht auszuwaschen. Der Niederschlag wird aufgelöst und der mit dem Magnesium äquivalente Jodidgehalt wird nach der bekannten Methode polarographisch bestimmt.

2. Mit dem Magnesiumdichromatkomplex des Hexamethylentetramins haben wir unser Ziel nicht erreicht. Das elfenbeingelbe Komplex ist leicht zu trennen und gut zu filtrieren. Doch beim Waschen des Niederschlages begegneten wir Schwierigkeiten. Die Methode ist deshalb unzuverlässig.

3. DEBUCQUET und VELLUZ [5] fällen das Calciummagnesiumeisen(II)-cyanidkomplex mit Hexamethylentetramin. Vor der polarographischen Bestimmung bereiteten wir das Calciumeisen(II)cyanidkomplex mit Hexamethylentetramin vor, dessen gesättigte Lösung zur Fällung des Magnesiums verwendbar ist. Der hellgelbe Niederschlag ist erst mit Hexamethylentetraminlösung und dann mit Aceton ohne Verlust auszuwaschen. Die mit dem Magnesium äquivalente gelöste Eisen(II)cyanidmenge wird mittels Bleinitrat polarometrisch titriert.

4. Das Eriochromschwarz T gibt eine gut messbare und regelmässige polarographische Stufe beim Potentialwert von 0,6 Volt. Wir präzipitierten stufenweise wachsende Magnesiummenge mit gesättigten Lösungen des Farbstoffes im Wasser oder in verdünntem (10%) Ammoniak und polarographierten den Überschuss des Reagens in einer 0,1n Kaliumchlorid-Grundlösung. Wir beobachteten, dass die Stufenhöhedifferenzen, die zwischen der Wellenhöhe des reinen Reagens und der magnesiumhaltigen Lösungen gemessen wurden, den Konzentrationveränderungen nicht folgten. Die Stufe erscheint sogar noch, wenn das Magnesium schon in Überfluss ist. Diese Erscheinung, deren Ursache unbekannt ist, ist mit der Löslichkeit des Niederschlages nicht zu erklären. Wegen dieser polarographischen Anomalien des Farbstoffes war die Magnesiumbestimmung erfolglos.

Am Ende fanden wir zwei indirekte Verfahren. Das erste ist polarographisch, während das zweite polarometrisch durchführbahr. Man verwendet in beiden Fällen die Hexamethylenkomplexe des Magnesiums, im ersten Fall das mit Jodid und im zweiten das mit Eisen(II)cyanid.

Analytisches Verfahren

Wir haben diese Methoden unserer schon erschienenen Mitteilung angeschlossen, deren Gegenstand die Polarographie der Silikate bildet [6].

Die Bestimmungen sind die Folgenden :

Bei beiden Methoden werden aus einem bestimmten Teil der Lösung des mit Natriumkarbonat aufgeschlossenen Silikates — die 0,5—2,5 mg enthält — die Kationen der dritten Gruppen z. B. mit Natriumacetat getrennt. Man filtriert, wäscht die Acetate aus, dampft das Filtrat ein und trocknet den Rückstand.

Polarographisches Verfahren

Man löst die getrocknete Substanz in 2 ml destilliertem Wasser. Nach der Auflösung gibt man 2,3 g Kaliumjodid zur Flüssigkeit und versetzt sie mit einer Hexamethylentetraminlösung, deren 30 ml 15 g Kaliumjodid enthält.

Man schüttelt die Flüssigkeit sorgfältig und hält sie demfolgend mindestens eine Stunde lang im Kühlschrank. Nach vollständiger Ausfällung des Komplexes wird der Niederschlag auf einem gesinterten Glasfilter abfiltriert und fünfmal mit 0,5 ml mit Hexamethylentetramin gesättigter Acetonlösung gewaschen. Das Komplex wird vom Aceton durch Trocknung befreit und sodann in 100 ml 0,1n Kaliumnitratlösung gelöst. Die Lösung wird bei anodisch-kathodischer Schaltung von 0,5 V bis —0,2 V polarographiert. Als Vergleichslösung wird Kaliumjodid bekannter Konzentration verwendet.

Zur Prüfung der Genauigkeit des Verfahrens untersuchten wir verschiedene Magnesiumlösungen bekannter Konzentration (Tabelle I). Ausserdem prüften wir Lösungen einiger aufgeschlossener Silikate von gravimetrisch kontrolliertem Magnesiumgehalt (Tabelle II).

Tabelle I

Gravimetrisch gemessene Magnesiummenge in mg	Polarographisch gemessene Magnesiummenge in mg	Relativer Fehler
1,96	1,90	—3%
1,47	1,44	—2%
0,49	0,48	—2%

Tabelle II

Probe	MgO %		Relativer Fehler
	gravimetrisch	polarographisch	
I. Steatit	23,42	23,8	+ 1,5%
II. Steatit	29,42	29,60	+ 0,6%

Polarometrisches Verfahren

Reagens (DEBUCQUET und VELLUZ [5]):

Man löst 8,4 g Kaliumeisen(II)cyanid in 10 ml destilliertem Wasser, gibt 200 ml Lösung dazu, die 4,4 g Calciumklorid und 11,2 g Hexamethylentetramin enthält. Das Produkt wird eine Stunde stehen gelassen und dann filtriert. Nach dem Filtrieren wäscht man den Niederschlag mit Alkohol und Äther. Man wägt 2 g des Niederschlages und mengt ihm 100 ml 10%-iger Hexamethylentetraminlösung zu. Die 10 Minuten lang geschüttelte Substanz wird filtriert. Das Filtrat ist das Reagens für die Magnesiumbestimmung.

Bestimmungsprozess

Man gibt 20 ml Reagens zu einem bestimmten eingedämpften Teil der Lösung, aus der die Kationen der dritten Gruppe schon abgetrennt wurden. Nach sorgfältigem Umrühren lässt man den Niederschlag eine Stunde lang ruhig stehen. Man filtriert durch einen Glasfilter. Zur Auswaschung des Rückstandes verwendet man erst sechsmal 1 ml 2%iger Hexamethylentetraminlösung, dann dreimal 5 ml Aceton. Man löst den Rückstand in höchstens 15 ml Wasser und setzt 10 ml 0,2n Kaliumnitratlösung hinzu. Am Ende titriert man polarometrisch das mit dem Magnesium äquivalente Eisen(II)cyanid mit 0,1n Bleinitratlösung beim Potentialwert von —1,2 V und einer Empfindlichkeit von 1 : 30.

Tabelle III

Gravimetrisch gemessene Magnesiummenge in mg	Polarometrisch gemessene Magnesiummenge in mg	Relativer Fehler
0,49	0,475	— 3%
1,47	1,43	— 2,7%
1,96	1,89	— 3,0%
1,96	1,99	+ 1,6
1,96	2,00	+ 2,0

Tabelle IV

Probe	MgO %		Relativer Fehler
	gravimetrisch	polarometrisch	
Steatit I.	23,42	24,0	+ 2,5
Steatit II.	29,40	30,0	+ 2,0
Feuerfester Ton	1,52	1,60	+ 5,0

Die Ergebnisse der Prüfung reiner Magnesiumlösungen bekannter Konzentration sind aus Tabelle III zu entnehmen. Tabelle IV stellt die Genauigkeit der Methode bei der Bestimmung des Magnesiums aus Silikatlösungen dar. Der Magnesiumgehalt war vorerst gravimetrisch kontrolliert.

Die Ergebnisse der Tabelle III und IV beweisen, dass die Genauigkeit der polarometrischen Methode jene der gravimetrischen fast erreicht.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Bestimmung des Magnesiums wurden zwei Verfahren entwickelt. Beim ersten fällt man das Hexamethylentetraminkomplex des Magnesiumjodids und bestimmt die dem Magnesium äquivalente Jodidmenge polarographisch. Bei der zweiten Methode lässt man das Hexamethlyentetraminkomplex des Calcium-Magnesiumeisen(II)cyanids ausscheiden. Das mit dem Magnesium äquivalente Eisen(II)cyanid wird mit Bleinitrat polarometrisch titriert. Beide Verfahren sind für Silikatanalysen anwendbar. Der relative Fehler der Methoden ist kleiner als $\pm 3\%$.

LITERATUR

1. C. Carruthers : Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **15**, 412 (1943).
2. K. G. Stone und H. H. Furman : Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **16**, 596 (1944).
3. L. J. Edgcombe und G. R. E. C. Gregory : Analyst **80**, 236 (1955).
4. A. Blanchetiere und M. Arnoux : J. Pharmac. Chim. **17**, 97 (1933) ; in F. J. Welcher : Organic Analytical Reagents (D. Van Nostrand Co. Inc. New York) 1947, Vol. III. p. 130.
5. L. Debucquet und L. Velluz : C. r. hebd. Séances Acad. Sci **196**, 1809, 2006 (1933) ; In F. J. Welcher : Organic Analytical Reagents (D. Van Nostrand Co. Inc. New York) 1947, Vol. III. p. 129—130.
6. Z. Ferenczy und A. Almásy : Építőanyag **6**, 30 (1954).

DISKUSSION

J. Mašek : Ich möchte fragen, mit welcher Quantität des Magnesiums die Messungen durchgeführt wurden. Was ist die untere Grenze der Messung und wie gross ist der Fehler derselben?

Z. Ferenczy : Die eingewogene Magnesium-Menge lag zwischen 5 und 0,5 mg. Der Fehler wurde bei 2—3 relativ % Wirkungen gefunden. Im allgemeinen wurden die Messungen so durchgeführt, dass die Menge des geprüften Stoffes über 0,5 mg sei.

J. Mašek : Wo liegt das Halbstufenpotential des Eriochromschwarz-T-s?

Z. Ferenczy: Obzwar unsere Messungen nicht genau, sondern von orientierendem Charakter sind, liegt nach ihnen das Halbstufenpotential bei — 0,6 Volt.

J. Mašek : Welche Kationen stören bei der Anwendung der Methode?

Z. Ferenczy : Die Kationen der dritten Klasse stören bei der Methode, sie müssen vorangehend abgeschieden werden. Das in Silikaten immer anwesende Calcium stört nur in dem Falle, wenn es in viel grösserer Menge als das Magnesium zugegen ist. Bei der polarometrischen Methode stört Calcium nicht.

J. Proszt : Ich möchte nur betonen, dass solche indirekte polarographische Methoden selbst dann eine gewisse Bedeutung besitzen, wenn wie z. B. im Falle des Magnesiums auch eine direkte polarograpische Bestimmungsmethode

zur Verfügung steht, wie es während der Konferenz in einem Vortrag mitgeteilt wurde.

M. SPÁLENKA: Es ist von Interesse, Magnesium auch in Aluminiumlegierungen zu bestimmen. Haben sie diese Methode zur Analyse des Aluminiums nicht angewendet?

Z. FERENCZY: Nein. Wir hatten es nicht getan.

M. SPÁLENKA: Die Bestimmung des Magnesiums in Aluminiumlegierungen ist nämlich ein schwieriges Problem und eine schnelle und gute Methode verfügt über grosse praktische Bedeutung.

Z. FERENCZY: Wir werden versuchen die Methode auch hier anzuwenden.

J. HEYROVSKÝ: Wie ist es möglich, dass nach ihrer Methode die polarographischen Bestimmungen genauer sind als die polarometrischen, obzwar es bekannt ist, dass die Methoden der Polarometrie grössere Genauigkeit aufweisen.

Z. FERENCZY: Das kann Zufall sein. Wir wissen auch, dass polarometrische Ergebnisse genauer sein müssen, aus unseren Ergebnissen stellt sich die Genauigkeit zufällig heraus.

E. SÁNDI: Wir lenken ihre Aufmerksamkeit auf eine neue Methode, die zur Bestimmung des Calciums gebraucht wird. Die arbeitet mit Zinkkomplexonat. Sie ist eine Methode von PŘIBIL. Aus Zinkkomplexonat wird durch Calcium das Zink stöchiometrisch befreit, Magnesium aber nicht. Wir empfehlen deshalb die folgende Methode: Zink und Magnesium sind durch Kadmiumkomplexonat zu bestimmen, Zink kann gesondert durch die Methode von PŘIBIL gemessen werden, die Differenz ist die Menge des Magnesiums.

Z. FERENCZY: Welche Mengen sind so zu bestimmen?

E. SÁNDI: Milligramme. Leider versagt die Methode in Anwesenheit von Phosphat.

POSSIBILITIES OF DETERMINING MAGNESIUM BY POLAROGRAPHY

Z. Ferenczy, A. Almásy and † *G. Szádeczky-Kardoss*

(Research Institute of the Heavy Chemical Industry, Veszprém)

Summary

Two methods were evolved for the determination of magnesium. By the first method, the hexamethylenetetramine complex of magnesium iodide is precipitated, then the quantity of iodine equivalent to that of magnesium is established by polarography. The other method applies, in turn, the precipitation of the hexamethylenetetramine complex of calcium magnesium iron(II)cyanide, determining subsequently the quantity of iron(II)cyanide equivalent to that of magnesium by a polarometric titration with lead nitrate. Both methods proved suited for the analysis of silicates, with a relative error ranging below $\pm 3\%$.

Zoltán FERENCZY
Andor ALMÁSY } Veszprém, Wartha Vince u. 1—3.

EINE VERBESSERTE POLAROGRAPHISCHE ZELLE MIT STRÖMENDER QUECKSILBERELEKTRODE

K. GYŐRBÍRÓ und L. POÓS

(Institut für Anorganische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

In den letzten Jahren haben sich immer mehr Arbeiten [1—5] mit der strömenden Quecksilberelektrode befasst, und dies ist durchaus nicht zu verwundern, da die strömende Elektrode von HEYROVSKÝ, der tropfenden gegenüber, eine Anzahl solcher Vorteile besitzt, die nicht nur in der oszillographischen, sondern auch in der klassischen Polarographie ausgenutzt werden können. Diese sind die folgenden:

1. Die polarographischen (Diffusions-, usw.) Stromstärken sind bei gleicher Ionenkonzentrationen bei Verwendung der strömenden Elektrode stets grösser, als an der tropfenden,

2. durch die bekannte Verschiebung der Halbstufenpotentiale an der strömenden Elektrode ist in manchen Fällen eine bessere Trennung der Stufen zu erzielen,

3. da die Oberflächengrösse der strömenden Elektrode während der Messung konstant bleibt, erhält man bekanntlich unbewegte Oszillogramme, die gut photographiert werden können,

4. die so aufgenommenen Polarogramme weisen im allgemeinen keine Maxima auf, und endlich

5. eine strömende Elektrode kann auch bei erheblich negativeren Potentialen bequem verwendet werden, nicht wie die Tropfelektrode, da diese unter solchen Umständen oft zum Rinnen kommt.

In der oszillographischen Polarographie haben sich die von HEYROVSKÝ konstruierten Zellen, wie allgemein bekannt, ganz vorzüglich bewährt, bloss in der gewöhnlichen (klassischen) Polarographie haben sie den Nachteil, dass die mit der Lösung in Berührung stehende Oberfläche der strömenden Quecksilberkathode nicht genügend definiert bzw. nicht mit der hier notwendigen Genauigkeit reproduziert werden kann [6].*

Zum Zwecke exakter klassisch-polarographischer Untersuchungen schien es also unerlässlich, um die schon erwähnten Vorteile der strömenden Elektrode

* L. W. HETTICH konstruierte auch eine strömende Quecksilberelektrode (D.R.P. 723 185 v. 11. Juni 1942), bei der der Quecksilberstrahl nicht aus der Lösung tritt, sondern innerhalb derselben gegen eine etwas erweiterte Kapillare gerichtet wird.

ausnützen zu können, eine solche Zellenkonstruktion zu finden, welche also noch zwei weiteren Forderungen entspricht, nämlich :

1. Die Grösse der Oberflächen, sowie der Abstand der Elektroden soll sich während des Strömens nicht in geringstem Masse ändern.

2. Bei Neuauffüllung der Zelle sollen sich obige Abmessungen, um sämtliche Messungen quantitativ vergleichen zu können, automatisch einstellen.

Dies konnte nun bei der neuen Konstruktion auf folgende Weise erreicht werden :

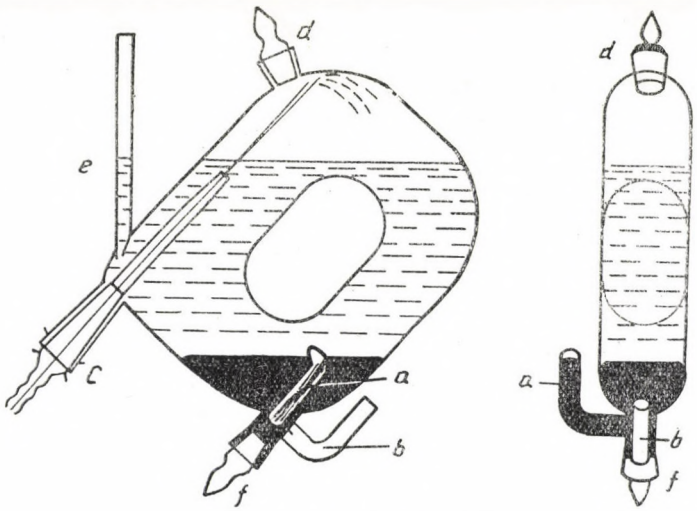


Abb. 1. Die modifizierte strömende Quecksilberelektrode

1. a) Das aus der Kapillare ausgespritzte Quecksilber fällt samt mitgerissenen Flüssigkeitsteilchen in das Elektrodengefäss zurück, wodurch die darin befindliche Flüssigkeitsmenge konstant bleibt.

b) Das ausgeströmte Quecksilber sammelt sich im unteren Teile des Gefässes und sein Überschuss wird durch den Überlauf bei *a* (Abb. 1) vom Boden abgeleitet. Jener besteht aus einer Röhre vom 2—3 mm lichter Weite, deren Ende zur Vermeidung einer Absaugwirkung vertikal abgeschnitten ist. So tritt das Quecksilber tropfenweise, jedoch trocken d. h. ohne Mitnahme von Flüssigkeit aus. Die Schwankungen der Oberflächenhöhe des Quecksilbers im Gefässe, welches gleichzeitig als unpolarisierbare Elektrode (Kontakt bei *b*) dient, sind durchaus zu vernachlässigen, da die Tropfen sehr klein gegen die Oberfläche gemacht werden können.

c) Das Gefäss ist derart gestaltet, dass das Quecksilber sich nur an einer Stelle u. zw. am Boden desselben ansammeln kann, woselbst seine Höhe, sowie die des Elektrolyten — wie bereits erwähnt — automatisch konstant gehalten werden kann.

d) Die Kapillare *c*, welche übrigens nach der Vorschrift von HEYROVSKÝ [1, 2] bereitet wurde, wird statt eines Gummischlauches mittels eines Schliffes angesetzt, wodurch dieselbe selbst nach Reinigung des Gefässes immer gleich zum Liegen kommt.

Die Füllhöhe der Lösung und hiermit die eintauchende Kathodenlänge bleibt infolge obiger Vorkehrungen praktisch ebenfalls konstant; sie wäre höchstens wegen der tropfenweisen Ableitung des Anodenquecksilbers ganz winzigen Schwankungen unterworfen, die aber auch leicht aufgehoben werden können, indem man den Auffülltubus (*d*) verstopft hält und ein Pufferröhrchen (*e*) anbringt, das — falls notwendig — auch zur Einleitung eines indifferenten

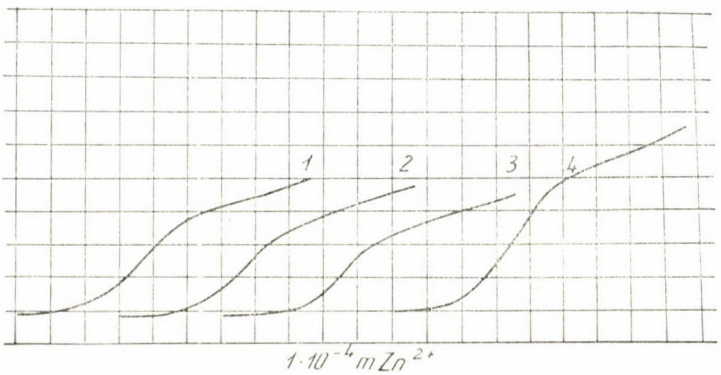


Abb. 2. Polarogramme einer $1 \cdot 10^{-4}$m $ZnCl_2$-Lösung mit der strömenden Quecksilberelektrode, (1—3) bei etwa 3 mm — , (4) bei etwa 4,5 mm Kathodenlänge aufgenommen

Gases dienen kann. Nur in dem Pufferröhrchen beobachtet man gewisse Schwankungen, die grosse Flüssigkeitsoberfläche bleibt aber hierfür völlig unbewegt.

2. Bei Neuauffüllung bleibt

a) die Quecksilberhöhe immer die gleiche, falls die Lage des Gefässes im Stativ nicht geändert wird, und

b) das Einstellen des Elektrolytniveaus auf die stets gleiche Höhe bedeutet auch keine Schwierigkeiten, da man die Flüssigkeit entweder mit der Pipette zugibt, oder aber dieselbe bis zu einer bestimmten Marke des Pufferröhrchens auffüllt.

Das Gefäss ist sehr leicht zu reinigen oder zu spülen, ohne dass es notwendig wäre, an seiner Lage zu ändern, da das Gefäss durch *f* vollständig entleert werden kann. Der Inhalt der Zelle beträgt etwa 25 ml. — Zur genauen Bestimmung des Halbstufenpotentials kann in den Ablasstubus eine mit Schliff versehene Kalomelelektrode gesetzt werden. Auch zur Untersuchung kleinerer Lösungsvolumina (z. B. etwa 5 ml) wurde eine Zelle gebaut, nur mit dem

Unterschiede, dass als Anode nicht das ausgespritzte Quecksilber, sondern eine eingebaute Kalomelelektrode verwendet wurde.

Zur Prüfung der Brauchbarkeit der neuen Zelle ist eine Versuchsreihe in 1n Kaliumchlorid-Leitsalzlösung bei einer $1{,}0 \cdot 10^{-4}$m Zn^{2+}-Ionenkonzentration angestellt worden. Die Zelle wurde mit derselben Lösung dreimal nacheinander frisch gefüllt und mit dem Radiometer PO 3-Apparat (bei Empfindlichkeit 3000 und Kompensation 3) polarographiert, wobei (Abb. 2) die Stufenhöhen von 25,5, 24,0, und 24,0 mm gemessen wurden (Kurven 1—3). Die Tauchlänge der strömenden Kathode betrug bei diesen Messungen etwa 3 mm, dieselbe jedoch durch Nachfüllen eines entsprechenden Volumens aus der Vorratslösung um etwa 1,5 mm verlängert, ergab sich eine Stufenhöhe bereits von 37 mm (Kurve 4). Die Reproduzierbarkeit der Messungen war also mit der beschriebenen Zelle — in Anbetracht des grossen Einflusses der Füllhöhe auf die Diffusionsstromstärke — eine recht gute.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde eine neue strömende Quecksilberelektrode konstruiert, die sich für oszillographische, besonders aber für gewöhnliche polarographische Messungen besser eignet als die bisher gebrauchten dieser Gattung, da

1. die Grösse der mit der Lösung bedeckten Oberfläche des Quecksilberstrahles keinen Schwankungen unterliegt und auch die Konstanz der Elektrodenentfernung gesichert wird, ferner weil

2. die Oberfläche des strömenden Quecksilbers bei Neuauffüllung der Zelle stets genau reproduziert werden kann, wodurch alle Einzelmessungen ohne weiteres vergleichbar bleiben.

LITERATUR

1. J. Heyrovský und J. Forejt: Z. physik. Chem. **193**, 77 (1943).
2. J. Heyrovský und J. Forejt: Oscilografická polarografie (Státni nakladatelstvi techn. literatury. Praha) 1953. S. 58.
3. J. Koryta: Chem. Listy **46**, 204. (1952).
4. J. Koryta: Chem. Listy **46**, 246. (1952).
5. J. R. Weaver und R. W. Parry: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 6258 (1954).
6. J. M. Kolthoff und J. J. Lingane: Polarography. 2nd ed. (Interscience Publishers, New York—London) 1952. Vol. I. p. 357.

DISKUSSION

J. Koryta: In der besprochenen Zelle wurde als Vergleichselektrode Bodenquecksilber angewendet. Diese Ausführung taugt, wenn Reduktionsvorgänge an der strömenden Elektrode beobachtet werden. Im Falle einer anodischen Depolarisation jedoch, oder wenn wir z. B. in einer Lösung, die Jodid-Ionen enthält, arbeiten, treten die Polarisationserscheinungen der Referenzelektrode auf. In letzter Zeit bevorzuge ich die tatsächlich nicht polarisierbaren Elektroden. So wende ich z. B. eine verdünnte Kadmiumelektrode an, oder nach Novák eine grössere Platinplatte, die in konzentrierte Ferrosulfat- und Ferrichloridlösung taucht. Die Konzentration des Ferrosulfats beträgt ungefähr

1,6 m, die des Ferrichlorids 2m. Beide Elektroden werden noch bei verhältnismässig grossen Stromstärken nicht polarisiert. Bei Untersuchung anodischer Vorgänge kann die einfache Quecksilbergegenelektrode Schwierigkeiten bereiten.

J. PROSZT: Wir untersuchten mit der neuen Elektrode bisher bloss kathodisehe Vorgänge. Soll aber dieselbe auch bei anodischen Depolarisationen gebraucht werden, so ist natürlich eine der von Ihnen erwähnten Elektroden zu verwenden.

J. HEYROVSKÝ: Ich möchte bemerken, dass die von uns eingeführte strömende Quecksilberelektrode zur Erforschung neuer Erscheinungen gebraucht wurde, quantitative Bestimmungen wurden jedoch nicht durchgeführt, da wir die Unveränderlichkeit der sich mit dem Elektrolyt berührenden Elektrodenoberfläche nicht sichern konnten. Die hier besprochene Polarographierzelle wird sich zur quantitativen Messung bestimmt besser eignen.

AN IMPROVED POLAROGRAPHIC CELL WITH A STREAMING MERCURY ELECTRODE

K. Győrbíró and *L. Poós*

(Institute of Inorganic Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

A streaming mercury electrode of new design was evolved which seems to be suited better for oscillographic, and particularly for common polarographic measurements than any other type applied so far, because

1) the surface area of the mercury stream covered by the solution does not change, and a constant distance of electrodes is reliably secured,

2) at the re-filling of the cell, the surface of the streaming mercury can be accurately reproduced, rendering thus the data of each measurement reliably comparable with those of other measurements.

Károly GYŐRBÍRÓ,
László POÓS
Budapest, XI. Gellért tér 4.

AUSWERTUNG VON PAPIERCHROMATOGRAMMEN AUF POLARO-COULOMETRISCHEM WEGE

(VORLÄUFIGE MITTEILUNG)

J. PROSZT und Frl. J. KIS

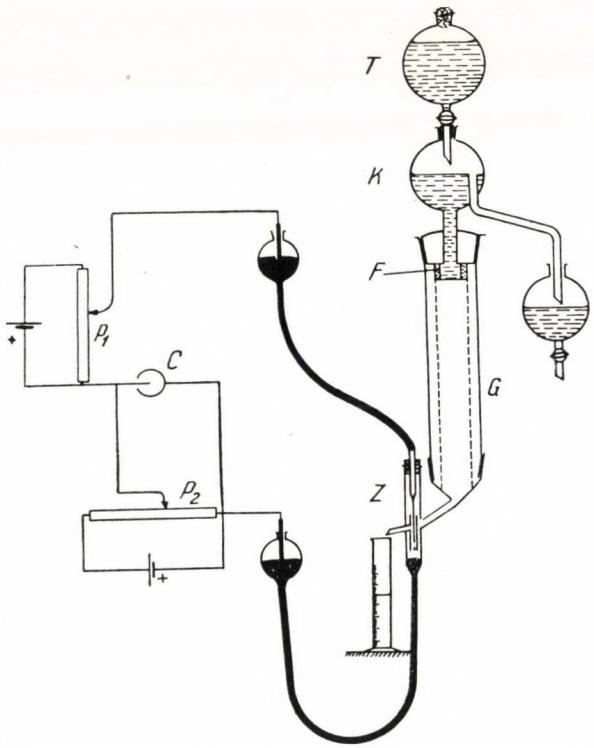
(Institut für Anorganische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Zur Auswertung von Papierchromatogrammen gibt es bekanntlich zwei verschiedene Methoden. Die eine beruht auf dem planimetrischen Ausmessen der betreffenden Flächen auf dem entwickelten Chromatogramm, bei der anderen dagegen wird das Papier entsprechend zerschnitten, um die einzelnen Teile einer Extraktion unterwerfen zu können. In den Extrakten bestimmt man dann die einzelnen Bestandteile entweder auf kolorimetrischem Wege oder aber mit irgendeiner geeigneten mikrochemischen Methode. Die Chromatogramme müssen also in beiden Fällen entwickelt werden, und da die Konturen meistens recht diffus erscheinen, begeht man besonders bei der ersten Methode manchmal sehr grosse Fehler.

Zur polarographischen Bestimmung gewisser Ionen, deren Reduktionspotentiale sehr nahe zueinander liegen oder aus anderen Gründen polarographisch schwer zu trennen sind, arbeitete umlängst KEMULA [1] eine sinnreiche Methodik aus, die Chromatopolarographie genannt wird. Sein Verfahren besteht darin, dass die Ionen bzw. polarographisch aktiven Bestandteile eines Gemisches zuerst an einer geeigneten chromatographischen Säule (gefüllt mit Al_2O_3, Escarbo, Wofatit, usw.) adsorbiert, dann aber mit einem passenden Lösungsmittel, das gleichzeitig als Grundlösung dienen kann, eluiert werden. Die Konzentrationsänderung des Eluats wird nun während des ganzen Vorganges zeitweise polarographisch gemessen, indem die aus der Säule rinnende Flüssigkeit eine mit einer tropfenden Quecksilberelektrode versehene kleine Zelle (s. Abb. 1. bei *Z*) passiert. An die Tropfelektrode wird nämlich eine geeignete konstante Spannung (P_1) gelegt, so dass an ihr sämtliche Bestandteile der Lösung reduziert werden können. Da aber die einzelnen Bestandteile (bzw. Ionen) in einer bestimmten Reihenfolge in der Säule desorbiert werden, erscheinen bei passender Wahl des Absorptionsmittels und der Elutionsflüssigkeit die Bestandteile der untersuchten Lösung in der polarographischen Zelle getrennt nacheinander. Das im Zellenstromkreis eingeschaltete Galvanometer zeigt bei einem jeden Bestandteil einen zuerst anwachsenden, dann abnehmenden Diffusionsstrom, entsprechend dem Umstand, dass die Konzentrationsänderung der Bestandteile in dem Eluat natürlich einen ähnlichen Gang hat.

KEMULA empfahl die Stromstärke während des ganzen Vorganges am Galvanometer in geeigneten Zeitspannen abzulesen und ihren Wert dann als Funktion des ausgeflossenen Flüssigkeitsvolumens aufzutragen. Durch diese Kurve wird nun eine Fläche abgegrenzt, deren Grösse (etwa planimetrisch ermittelt) der Menge des betreffenden Bestandteiles proportional ist.

Wie bereits aus dieser knappen Zusammenfassung der chromatopolarographischen Methodik von KEMULA ersichtlich, besteht die Möglichkeit, sie mit



gewissen Abänderungen auch zur Lösung der eingangs erwähnten Aufgabe zu verwenden. Dementsprechend nehmen wir statt der chromatographischen Säule ein Glasgefäss (*G*), in dem das zylinderförmig gebogene Filtrierpapier (s. Abb. punktierte Linie) aufgehängt ist. Das zugeschnittene Papier wird aber vorher auf eine Glasplatte gelegt und die gemessene Quantität der Versuchslösung derart aufgetragen, dass entlang, jedoch etwa 1 cm unterhalb dem oberen Rande des ausgebreiteten Papiers mit der Mikropipette eine parallele Linie gezogen wird. Dann wird das Papier an dem am unteren Ende des Kugeltrichters befindlichen Frittenkörper (*F*) mit einem passenden Glasring befestigt und die ganze Papieroberfläche nach Abschirmen der bestrichenen Stelle mit einem etwa 1,5 cm breiten Schutzring aus Glas bis zur Sättigung mit der Elutions-

flüssigkeit besprüht. Nun wird der Doppeltrichter (T) samt Papier mittels des Schliffes aufgesetzt und die Kugel (K) mit der Lösung aufgefüllt. Jetzt beginnt die langsame Flüssigkeitströmung, deren Gleichmässigkeit durch Konstanthaltung der Füllhöhe gesichert wird.

Dies ist deshalb notwendig, weil wir, um das Stromintegral zu messen, statt des Galvanometers ein Mikrocoulometer in den Stromkreis schalteten. Dieses Verfahren hat zwei Vorteile. Der eine ist, das die mehrstündige (manchmal bis zu 10 Stunden dauernde) zeitweise Ablesung des Galvanometers, sowie der zur Zeit durchgeflossenen Flüssigkeitsmenge fortfällt, der andere, dass man auch nichts aufzeichnen, daher auch nicht planimetrieren muss, sondern das Resultat direkt am Mikrocoulometer ablesen kann. Der Reststrom muss immerhin mit einem Potentiometer (P_2) kompensiert werden, damit tatsächlich nur das Diffusionsstromintegral gemessen werde.

Als Mikrocoulometer wurde das Quecksilbercoulometer von WILSON [2] verwendet, und wegen seiner linearen Charakteristik auch ein solches von LEHFELDT [3] erprobt. Es ist aber möglich, dass sich ein Gasmikrocoulometer, das auf dem Dilatometerprinzip beruht [4], noch besser bewährt. Die Strompausen zwischen den Wellen können, falls nötig, auch mit einem Minimalautomat signalisiert werden.

Bisher wurden nur Cu^{2+}- und Cd^{2+}-Ionen durch absteigende Papierchromatographie getrennt und verschiedene Papiersorten untersucht. Als Elutionsflüssigkeit wurde n-Butylalkohol, gesättigt mit einer 3n HCl-Lösung, benutzt. Zur Kontrolle wurden auch die Strom-Zeit-Kurven mehrere Male mit dem Galvanometer aufgenommen und beobachtet, dass die Stromstärke leider nicht immer völlig auf den Wert des Reststromes sank. Die Methode wurde vorläufig also nur prinzipiell erprobt ; die weiteren Versuche sind im Gange.

LITERATUR

1. W. KEMULA : Roczniki Chem. [Ann. soc. chim. Polonorum] **26**, 281 (1952).
2. C. T. R. WILSON : Cambridge Proceedings **1919**.
3. R. A. LEHFELDT : Jahrb. d. Elektrochemie **9**, 26 (1902).
4. J. PROSZT : Magyar Chem. Folyóirat **28**, 17 (1922).

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ : Warum fallen die Kurven nicht auf die Grundlinie zurück, wie es KEMULA beobachtete?

J. PROSZT : Ihm gelang mittels der Säulenchromatographie die Trennung der Kurven besser, als uns, auf — leider — noch ungünstigem Papier.

J. HEYROVSKÝ : KEMULA arbeitete dabei ohne Kompensation.

J. PROSZT: Bei uns hatte die Kompensation lediglich den Zweck, den Reststrom zu beseitigen, da wir das Stromintegral unmittelbar coulometrisch messen. KEMULA mass dasselbe planimetrisch.

J. HEYROVSKÝ: Ja, zweifellos.

Prof. Dr. János PROSZT
Julia KIS
Budapest, XI. Gellért tér 4.

DIE ANWENDUNG AMPEROMETRISCHER TITRATIONEN IN DER METALLANALYSE

I. Bozsai

(Materialprüfungslaboratorium der Csepel Eisen- und Metallwerke, Budapest)

In der chemischen Analyse, also auch in der Metallanalyse gelangen jene Methoden zu immer grösserer Bedeutung, die die Gesetze der physikalischen Chemie anwenden. Die Methoden der Kolorimetrie gehören zur alltäglichen Praxis der Betriebslaboratorien. Von den elektroanalytischen Methoden wird die amperometrische oder polarometrische Titration neben den potentiometrischen und den etwas seltener angewandten konduktometrischen Titrationen immer mehr bevorzugt. Ihre Beliebtheit ist eine Folge ihrer zahlreichen Vorteile. Sie lässt sich auch im Mikromass durchführen, weil die Bestimmung einiger Mikrogramm grosser Mengen eines Stoffes in einem Volum von 1—2 ml möglich ist. Sie erfordert weder eine teure oder komplizierte Einrichtung noch eine automatische Registrierung.

Die amperometrische Titration ist ein Nebenzweig der Polarographie. Von hier stammt auch der Name »polarometrische Titration« [1]. Die Konzentration bzw. die Konzentrationsänderung des Depolarisators wird durch die Messung des Diffusionsstromes an einer mit konstantem Potential polarisierten, über eine immer erneuerte Oberfläche verfügenden Elektrode bestimmt. Hervorgerufen wird die Konzentrationsänderung durch irgendeinen der in der Massanalyse angewandten chemischen Prozesse, wie z. B. durch Neutralisation, Oxydation, Reduktion, Fällung oder Komplexbildung. Als Indikatorelektrode wird entweder die Quecksilberelektrode oder die rotierende Platinelektrode verwendet [2, 3]. In einigen wissenschaftlichen Untersuchungen wurde auch eine C-, Au- oder PbO_2-Elektrode benutzt. Als indifferente Elektrode dient meistens die Kalomelelektrode, in seltenen Fällen die HgJ- oder die Hg_2SO_4-Elektrode. Die Elektroden erhalten von einer äusseren Quelle (Akkumulator) eine genau bestimmte Spannung. Der Diffusionsstrom wird im Stromkreis durch einen empfindlichen Mikroamperemeter angezeigt (Abb. 1). Die tropfende Quecksilberelektrode zieht man bei den Fällungs- oder Komplexbildungsreaktionen der Kationen heran. Bei der Redoxtitrierung der Kationen und bei der Bestimmung der Anionen wird die rotierende Platinelektrode verwendet. Die Quecksilberelektrode ist in diesem Falle nicht brauchbar, weil sie anodisch nur bis +0,4 Volt polarisierbar ist, während die Platinelektrode

in einem saurem Medium bis +1,5 Volt polarisiert werden kann. Zeichnen wir den Diffusionstrom als eine Funktion des Titrierreagens in Milliliter, so gibt die Kurve den Endpunkt graphisch an. Besitzt nur das zu bestimmende Ion einen Diffusionsstrom, der durch das Titrierreagens vermindert wird, so zeigt die Titrierkurve eine L-Form, weil die Stromstärke während der Titration allmählich abnimmt. Der Endpunkt der Titration wird erreicht, wenn sich

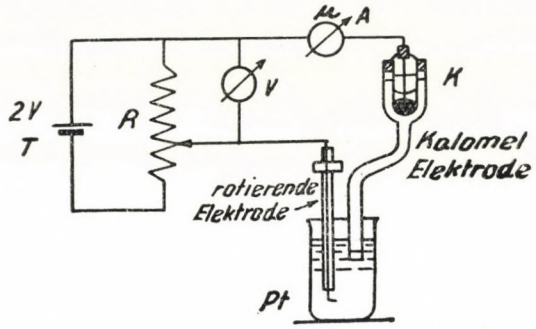


Abb. 1. Schaltungsprinzip der Geräte

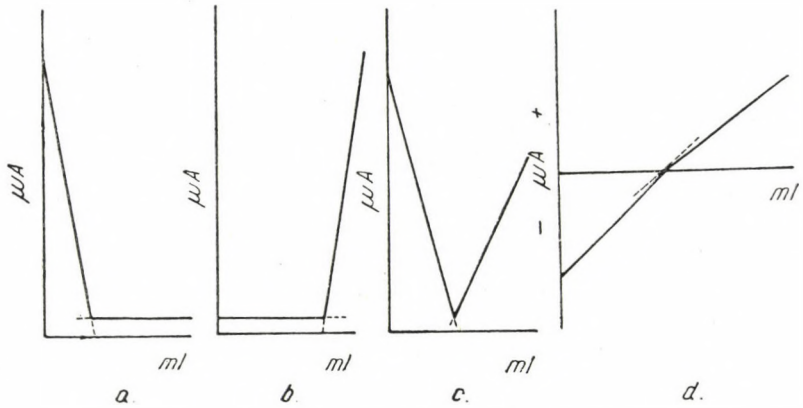


Abb. 2. Die Arten der Titrationskurven

der Diffusionsstrom nach Zugabe weiterer Reagenzien nicht mehr ändert (Abb. 2*a*). Das ist z. B. bei der Fällungsbestimmung der Metallionen der Fall. Wird der Strom durch das Titrierreagens verursacht, so hat die Titrierkurve eine umgekehrte Form. Von dem Endpunkt der Titration an nimmt der Diffusionsstrom linear zu. Die Stromstärkezunahme ist dem Überschuss des Titrierreagens proportional (Abb. 2*b*). Das ist der Fall u. a. bei den Redoxtitrierungen (die Bestimmung von Cr, V, Mn usw.). Geben beide Komponenten einen Diffusionsstrom, so bildet sich die Kurve in V-Form aus (Abb. 2*c*). Die Titration des Nickels mit Diacetylglyoxim hat eine solche Form. Liefert die eine Kom-

ponente einen kathodischen, die andere einen anodischen Strom, so ist die Stromstärke am Endpunkt der Titration gleich Null. Der Endpunkt befindet sich im Schnittpunkt der Titrierkurve und der Reagensmilliliterachse (Abb. 2*d*). Eine solche Form zeigt die Kurve der Titrierung von Hg^{2+} mit J^-.

Tabelle I

Reagenzien für die Bestimmungen der Metalle mit Fällung und Komplexbildung

Reagens	Bestimmbare Ionen
HCl, NaCl	Ag
KBr	Ag
KJ	Ag, Tl
NaF	Al, Ca, Mg
$(NH_4)_2\ MoO_4$	Th, Pb
$Pb(NO_3)_2$	MoO_4^{2-}, CrO_4^{2-}
$K_2Cr_2O_7$	Pb, Ba, Tl, Bi
Na-Oxalat	Ca, Sr, Pb
Na_2S	Zn
NH_4SCN	Ag, Cu(I)
K_2SO_4.....	Pb, Ba, Sr
$K_3Fe(CN)_6$	Ni, Cu, Zn, Cd
$K_4Fe(CN)_6$	Cu, Zn
KCN	Cu, Ni

Für die Fällungstitrationen der Metallionen sind zahlreiche Methoden bekannt [4]. Auch die erste amperometrische Titration war eine Fällungsbestimmung. HEYROVSKÝ und BEREZICKÝ titrierten im Jahre 1929 die Bariumionen mit Sulfationen [5]. Aber auch die Reaktionen der potentimetrischen und konduktometrischen Titration können bei den amperometrischen Titrationen verwendet werden. Einige zur Bestimmung von Metallionen geeignete Titrierreagenzien sind in Tabelle I zusammengestellt. Die organischen Fällungsmittel eignen sich vorzüglich zur Bestimmung kleiner Metallmengen, wenn die vorgeschriebenen Fällungsbedingungen genau eingehalten werden (Tabelle II). Es können auch Redox- und Komplexbildungsvorgänge angewandt werden. Die Metallionen mit veränderlicher Wertigkeit lassen sich mit reduktometrischen oder oxydimetrischen Methoden bestimmen, je nach der stabileren Form des untersuchten Ions (Tabelle III).

In unserem Laboratorium wurden die amperometrischen Titrationen im Jahre 1951 eingeführt. Die Aufgabe war eine Erhöhung der Genauigkeit der Betriebsanalysen und die Bestimmung von Verunreinigungen und Legierungselementen in kleiner Menge. Bei unseren Titrationen wurde eine in unserem

Tabelle II

Organische Reagenzien für die Fällungs- und Komplexbildungsbestimmungen der Metalle mit Fällung und Komplexbildung

Reagens	Bestimmbare Ionen
α-Benzoinoxim	Cu(II)
Chinaldinsäure	Cu(II), Zn
Chinolincarbonsäure	Cu
Diäthyldithiocarbamat	Cu(II), Cd, Zn
Dimethylthiohydantoin	Cu(II)
Dithizon	Cu(II), Ni, Pb
Dimethylglyoxim	Ni, Pd
Komplexon III.	Fe(III), Ni, Pb, Zn, Bi, Cd
Mercaptobenzthiazol	Cu(II)
Naphthochinolin	Cd
Na-Dipicrylamin	K
Nitrophenylarsonsäure	Uo, Th, Zr, Sn(IV)
α-Nitroso-β-Naphthol	Co, Cu, Pd
Kupferron	Cu, Fe
Oxychinolin	Cd, Bi, Cu, Zn, Mg, Al
Rubeansäure	Ni, Cu, Co, Zn, Cd, Pb
Tetraphenylarsoniumchlorid	Hg(II), Sn(IV)

Tabelle III

Reagenzien für die Redoxtitrationen der Metalle

Reagens	Bestimmbare Ionen
Fe(II)	CrO_4^{2-}, VO_3^-, MnO_4^-
Cu(I)	CrO_4^{2-}, Vo_3^-
$TiCl_3$	Fe(III), Cr(III), MnO_4^-
Br_2, $KBrO_3$	Sb(III), As(III)
$KMnO_4$	Ce(III), Mn(II), Fe(II)
$K_2Cr_2O_7$	As(III), Sb(III), TeO_3^{2-}, Cu(I), Ti(III)

Laboratorium hergestellte rotierende Elektrode und Messapparatur angewandt [6]. Als rotierende Platinelektrode wurde ein 10 mm langer, 0,5 mm dicker Platindraht verwendet, der in einem Glasrohr eingeschmolzen und an ein Stahlrohr angebracht war (Abb. 3). Der Elektrodendraht wurde der Drehrichtung entsprechend gebogen, da dadurch die Grösse des Diffusionsstromes, und somit auch die Genauigkeit der Bestim-

mungen vergrössert wurde. Die Rotierung der Elektrode wurde durch Friktion gelöst. Die Elektrode rotierte in zwei bronzenen Lagern. Ihre maximale Drehzahl betrug 2500 Umdrehungen je Minute. Die Titrationen wurden bei

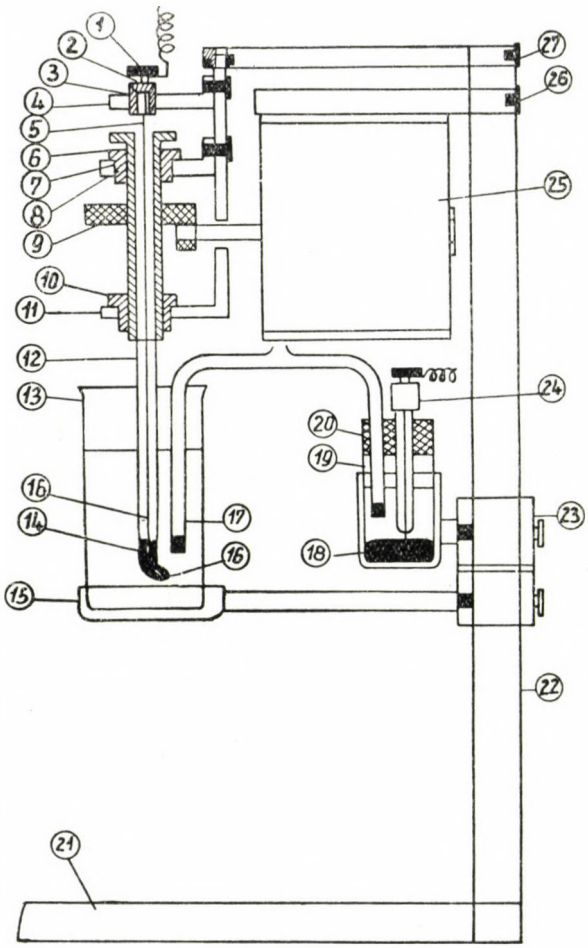


Abb. 3. Die Konstruktion der im Laboratorium der Csepel-Werke hergestellten rotierenden Platinelektrode. 1. Anzugsschraube der Stromausleitung, 2. Metallkapsel, 3. Gummidichtung, 4. Kontaktstativ, 5. Platindraht, 6. Stahlrohr, 7. Oberes Bronzelager, 8. Lagerstativ, 9. Textilbakelitscheibe, 10. Unteres Bronzelager, 11. Lagerstativ, 12. Glasrohr, 13. Titrationsgefäss, 14. Hg-Kontakt, 15. Glashälter, 16. Platinelektrode, 17. Agar Agar-Brücke, 18. Kalomelelektrode, 19. Elektrodengefäss, 20. Gummipfropfen, 21. Eisensockel, 22. Motorhälterständer, 23. Klemmschraube des Ständers, 24. Kalomelelektrodenausleitung, 25. Motor, 26—27. Klemmschrauben

einer Drehzahl von 800 U/Min. durchgeführt. In die titrierte Lösung wurde eine KNO_3-Agarbrücke eingetaucht, um die Diffusion der Chloridionen aus der Kalomelelektrode zu vermeiden. Zur Einstellung des optimalen Elektrodenpotentials in der Messeinrichtung wurde die HOEKSTRAsche Schaltung und

ein Voltmeter von 0,001 Volt Genauigkeit verwendet. Der Diffusionstrom wurde entweder mit einem Zeiger- oder Multiflexmikroamperemeter bei einer Empfindlichkeit von 10^{-6}—10^{-8} Ampere/Skalenteil gemessen. Bei der Messung grosser Diffusionsströme gebrauchen wir einen Kompensator (Abb. 4). Die kleinste bestimmbare Konzentration hängt von der Empfindlichkeit des Mikroamperemeters ab. Mit unserer Einrichtung konnten schon 10 γ Stoffmengen in 50 ml Volum bestimmt werden. Wir teilten die in der Praxis angewandten Methoden in drei Gruppen: 1. Direkte Redoxtitrationen (Bestimmung von

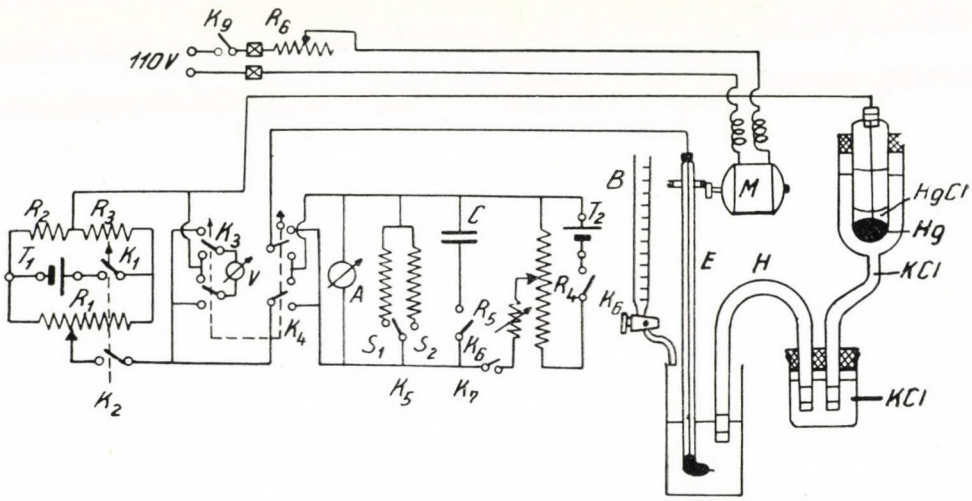


Abb. 4. Das Schaltschema der im Laboratorium der Csepel-Werke erzeugten Titriereinrichtung

R_1: Potentiometer von 300 Ohm, R_2R_3: Widerstand von 500 Ohm, R_4: Potentiometer von 1200 Ohm, R_5: Potentiometer von 0,01 Megohm, R_6: Gleitkontaktwiderstand von 100 Ohm, C: Elektrolytkondensator von 2000 Mikrofarad, S_1, S_2: Shunt für Empfindlichkeit von 1/10, bzw. 1/100, V.: Spannungsmeter, A.: Mikroamperemesser, B.: Bürette, E.: Platinelektrode, K.: Kalomelelektrode, H.: Agarbrücke, M.: Motor

Cr, V, Mn und Fe), 2. indirekte Redoxtitrationen (Bestimmung von Sb, As, Bi, Te und Co) und 3. Fällungstitrationen (Bestimmung von Ag, Zn, Cd).

Bei den direkten Redoxtitrationen wurde als Titrierreagens Eisen(II)-Sulfat (Mohrsches Salz) benutzt. Die Cr(III)-, V(IV)- und Mn(II)-Ionen wurden auf chemischem Wege zur höchsten Wertigkeit oxydiert und die erhaltenen CrO_4^{2-}-, VO_3^--, MnO_4^--Ionen mit Fe(II)-Ion titriert. Das Grundprinzip der Methode ist, dass an der zu +1 Volt polarisierten rotierenden Platinelektrode unter den erwähnten Ionen nur das Fe(II)-Ion einen bedeutenden Diffusionsstrom verursacht (Abb. 6). Die Stärke des Diffusionsstromes ist der Konzentration des Fe(II)-Ones proportional. Sind in der Lösung noch Ionen von Chromat, Vanadat oder Permanganat vorhanden, so kann kein freies Fe(II)-Ion in der Lösung existieren. Das Mikroamperemeter bleibt während der Titration im

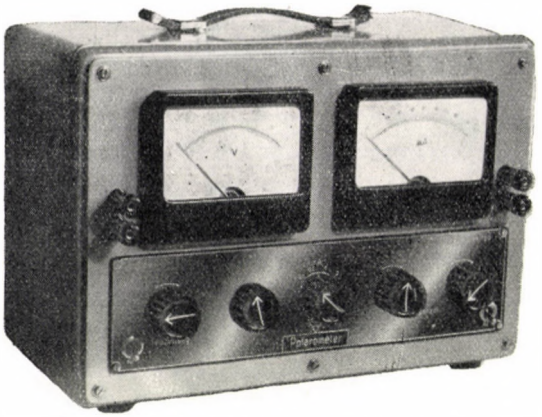


Abb. 5. Amperometrische Titriergeräte

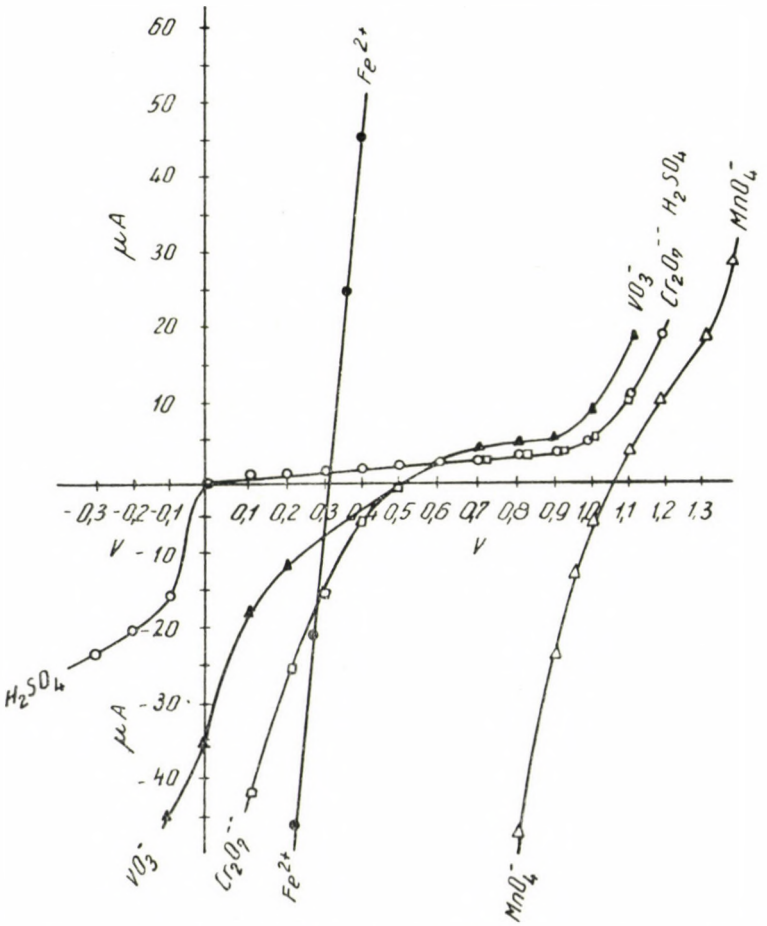


Abb. 6. Die Stromspannungskurven von Fe(II), $Cr_2O_7^{2-}$, VO_3^-, MnO_4^-, in schwefelsaurem Medium (2 mg Cr, V, Mn, 6 mg Fe in 100 ml)

Ruhezustand. Am Endpunkt der Titration gelangen die Fe(II)-Ionen in Überschuss, und die Stromstärke springt augenblicklich an. Zum Ausschlag des Mikroamperemeters genügt ein Tropfen (etwa 0,02 ml) Überschuss des Reagens. Bei weiterer Reagenszugabe nimmt der Diffusionsstrom proportional dem Fe(II)-Ionenüberschuss allmählich zu. Der Endpunkt der Titration wird aus der umgekehrten L-förmigen Kurve graphisch festgestellt.

Im idealen Falle ist der Diffusionsstrom streng proportional der Konzentration der Fe(II)-Ionen, d. h. der steile Teil der Kurve ist eine Gerade.

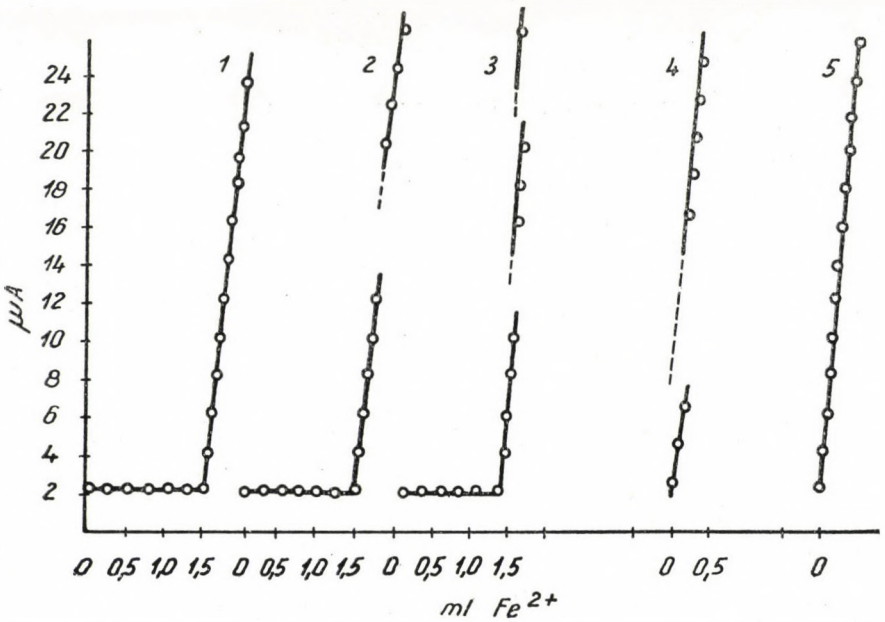


Abb. 7. Sprünge der Titrationskurven
1. Kurve: $Cr_2O_7^{2-}$-Titration, 2. Kurve: Wiederholte $Cr_2O_7^{2-}$-Titration
3. Kurve: VO_3^--Titration. 4. Kurve: Mit O_2 behandelte Elektrode
5. Kurve: Mit CO_2 behandelte Elektrode.

Während unserer Versuche ergab sich, dass die Linearität wesentlich vom Zustand der Elektrodenoberfläche, von ihrer »Frische« oder »Gebrauchtheit« abhängt. Während der Bestimmungen von Chrom, Vanadium und Mangan kam es öfters vor, dass an der Diffusionskurve eigenartige Sprünge und Brüche auftraten (Abb. 7). Bei der Titration von Vanadium wurde das zweimal beobachtet. Nach unseren Untersuchungen wird diese Erscheinung weder von den Fe(II)- noch von den Fe(III)-, noch von den Cr(III)-Ionen verursacht. Wird die Titration jedoch mit ausgeglühter und in Fe(II)-Sulfatlösung aufbewahrter Elektrode mehrmals wiederholt (z. B. $K_2Cr_2O_7$ mit Fe(II)-Lösung titriert), so beobachten wir diese Erscheinung schon nach der zweiten oder dritten Titration. Wenn wir die Elektrode wieder längere Zeit (5—6 Stunden) in Fe(II)-Lösung aufbewahren, zeigt sich an

der Kurve der ersten Titration kein Bruch. Wird die Elektrode in einer schwefelsäurigen Grundlösung mit CO_2-Gas gespült, so bleiben die Sprünge aus.

Die Sprünge treten an der Diffusionsstromkurve dann auf, wenn mit der Elektrode ein mit Fe(II)-Ionen reduzierbarer Stoff (Chromat, Vanadat, Permanganat) titriert wird. Im Falle derselben Fe(II)-Lösung werden die Sprünge immer bei demselben Masslösungsüberschuss beobachtet und sind von der Konzentration des titrierten Ions unabhängig. Die unmittelbare Ursache dieser Sprünge ist die Änderung der an der Oberfläche der Elektrode adsorbierten Sauerstoffschicht. Diese Annahme wird durch den folgenden Versuch unterstützt: In einer verdünnten Schwefelsäure-Grundlösung wird die frische Elektrodenoberfläche längere Zeit mit Sauerstoff gespült und dann die Diffusionsstromkurve von Fe(II) registriert. Es wurde ein ausgeprägter Stromstärkesprung beobachtet. Durch Zuführung von CO_2-Gas ist es möglich die adsorbierte Sauerstoffschicht zu vertreiben, und die Sprünge zu vermeiden. Mit Fe(II)-Lösung lässt sich der adsorbierte Sauerstoff auf chemischem Wege entfernen. Die Erscheinung der Sprünge ist in praktischer Hinsicht von Bedeutung, weil die graphische Auswertung des Endpunktes der Titration durch sie erschwert wird. Die Kurve entsteht nämlich nicht aus gestreuten Punkten, sondern aus linearen Stücken, so dass die Zeichnung einer Ausgleichskurve unmöglich ist. Bei der Titration von Chromat, Vanadat und Permanganat ist oft die Abspülung der Elektrodenoberfläche mit CO_2 notwendig.

Die amperometrischen Titrationen werden in der Stahlanalyse zur Bestimmung des Vanadiumgehaltes von stark wolframhaltigen Werkstoffstählen, der Chrom- und Wolframverunreinigung der S. M.-Stähle und des Cr_2O_3- und V_2O_5-Gehaltes der Elektroofenschlacken betriebsmässig angewandt [7]. Die Bestimmung kleinerer Mengen von Vanadium neben viel Chrom (z. B. in Werkstoffstählen) ist mit den üblichen Methoden [8] nicht genügend genau. Wegen der Farbe der Lösung und wegen des grossen Indikatorfehlers kann kein Redoxindikator benutzt werden, die potentiometrische Titration ist demgegenüber wegen des kleinen Potetinalsprunges nicht genau. Bei der amperometrischen Titration fallen diese Fehler weg. Neben 16—20% W und 5% Cr kann 0,1—0,5% V mit einer Genauigkeit von $\pm$0,01% bestimmt werden.

Durchführung der Methode: 5 g eines Stahlspanes wird in Phosphorschwefelsäure gelöst, dann zu Oxydierung der Carbide mit Salpetersäure solange gekocht, bis eine reine Lösung entsteht. Diese wird auf ungefähr 100 ml verdünnt und auf 10° abgekühlt. Die rotierende Platinelektrode wird eingetaucht, bei +1,0 Volt polarisiert, und dann der Lösung unter langsamer Rotierung der Elektrode 0,1n $KMnO_4$ zugegeben. Der Ausschlag des Instrumentes nimmt zuerst ab, später, nachdem das Permanganation überschüssig geworden ist, tritt ein entgegengesetzter (negativer) Strom auf. Der Permanganatüberschuss darf nur 1—2 Tropfen betragen. Die Lösung wird 2—3 Minuten lang in Ruhe gelassen und dann tropfenweise 0,1n Oxalsäure zugegeben, bis der Instrumen-

tenausschlag seinen konstanten Wert erreicht (Abb. 8). Dann werden noch 1—2 Tropfen Überschuss zugegeben und das Vanadation mit Fe(II)-Ion titriert. Da das Cr(III)-Ion durch Permanganat bei 10° nur sehr langsam oxydiert wird, kann das Vanadium neben viel Chrom genau bestimmt werden. Zur Zersetzung des Permanganatüberschusses kann statt der Oxalsäure auch ein anderer Stoff, z. B. die Lösung von Natriumazid verwendet werden (Tabelle IV).

Die Bestimmung kleiner Mengen von Chrom wird entsprechend dem erwarteten Chromgehalt, aus 2—0,5 g Stoff durchgeführt. Nach Lösung in

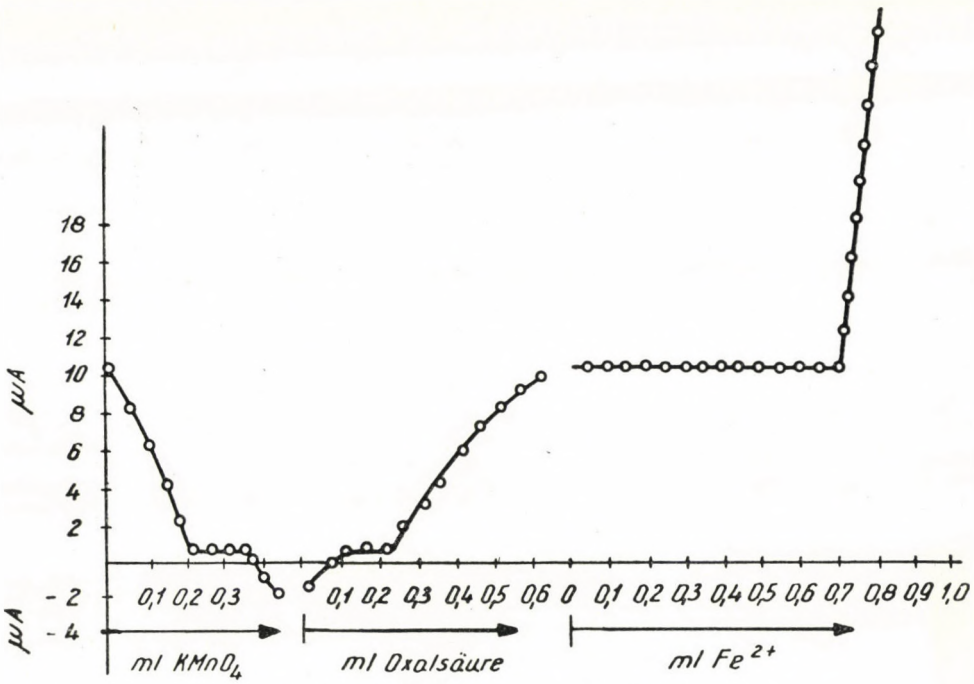


Abb. 8. Titrationskurven von VO_3^-

Schwefelsäure-Phosphorsäure wird mit Salpetersäure oxydiert, die Lösung zu NO-frei gekocht, auf ungefähr 50 ml verdünnt und in Anwesenheit von 2 ml 0,5% $AgNO_3$ mit 10 ml 10%igen $(NH_4)_2S_2O_8$ oxydiert, bis zum Auftreten von Permanganatfarbe gekocht und dann weiter bis zur Zersetzung des Persulfats erwärmt. Jetzt geben wir 2 ml 5%ige NaCl-Lösung zu, kochen, kühlen und titrieren. Enthält der Stoff auch Vanadium, so ergibt sich die Summe von Chrom und Vanadium. Wird das Vanadium auf die obenerwähnte Weise bestimmt, so ergibt sich der Chromgehalt aus der Differenz (Tabelle IV).

Bei der Analyse von Martin- oder Elektroofenschlacken wird 2 g des gepulverten Stoffes in einem Eisentiegel mit einer Na_2O_2-Na_2CO_3-Mischung aufgeschlossen. Der Aufschluss wird mit Wasser extrahiert, gekocht, gekühlt und ein ali-

quoter Teil in Anwesenheit von verdünnter Schwefelsäure titriert. Die Titration erfordert 100 ml Lösung, deren Schwefelsäuregehalt 20 ml 1 : 3 verdünnte Schwefelsäure ist. Die Masslösung enthält 22,62 g $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6\ H_2O$ in 1 Liter 1n Schwefelsäure. 1 ml der Salzlösung zeigt 1,00 ml Cr bzw. 3,03 mg V an.

Diese Methode eignet sich gut zur Mikrobestimmung des Chromgehaltes von Chromnickelwiderstandsstoffen mit hohem Nickelgehalt (Tabelle IV).

Die bei der Analyse der Stähle angewandten Methoden können ohne Veränderung auch im Falle der Aluminiumlegierungen gebraucht werden. Bei Hochspannungsleitungen aus reinem Aluminium wird die Leitfähigkeit durch

Tabelle IV

Die Bestimmung von Chrom und Vanadium in Stählen und Schlacken

Cr Gehalt %		V Gehalt %		Die Zusammensetzung der Legierung in %
I	II	I	II	
1,17	1,18	—	—	Mn : 0,43, V : —, Ni : —
1,75	1,76	—	—	Mn : 0,54, Mo : 0,80, W : 2,50
0,17	0,17	—	—	Martin-Stahl
14,95	14,92	—	—	Ni : 60,0 Fe : 22,5, Si : 1,0, Mn : 1,50
19,92	19,95	—	—	Ni : 78,0 Fe : 1,50, Mn : 0,50
—	—	0,140	0,145	Cr : 0,10, Ni : 0,05
—	—	0,31	0,32	Cr : 12,0, W : 2,0, C : 2,0
—	—	0,58	0,58	Cr : 12,0, W : 2,0, C : 2,0
—	—	5,05	5,05	Cr : 7,0, W : 12,1 C : 1,0
1,11	1,11	0,20	0,20	Cr-V Stahl
1,14	1,15	0,07	0,08	
0,17	0,17	0,07	0,08	Martin-Stahl

Cr_2O_3 Gehalt %		V_2O_5 Gehalt %		Schlackenprobe	CaO	Fe_2O_3	MgO	SiO_2	Al_2O_3	MnO
0,90	0,90	0,76	0,76	I.	56,3	3,3	8,1	22,2	5,8	1,3
0,29	0,29	0,57	0,58	II.	53,4	2,7	17,3	22,1	3,7	0,9
0,26	0,26	0,14	0,14	III.	46,5	1,1	14,9	30,9	4,8	0,6
0,06	0,06	0,09	0,09	IV.	45,0	0,8	15,0	35,0	4,8	0,2

den Cr- und V-Gehalt des Leitungsmaterials stark verschlechtert. Die Bestimmung von Chrom und Vanadium ist also von grosser Wichtigkeit. Die Anwendung eines Instrumentes mit entsprechender Empfindlichkeit ermöglicht, dass mit hochverdünnten (0,001—0,0001n) Masslösungen aus 1 g Einwaage die Ver-

unreinigungen von tausendstel % bestimmt werden können. 0,015 ml einer 0,00005m Fe(II)-Lösung verursacht einen Ausschlag des Multiflexmikroamperemeters von 10^{-8} Ampere/Skalenteil Empfindlichkeit. Erst wird die Summe von Cr und V bestimmt, dann nach selektiver Oxydation V gesondert titriert. Neben viel V kann wenig Cr in Aluminium so bestimmt werden, dass 5 g des Metalles in einer 30%igen Lauge gelöst wird. Der ungelöste Rückstand (Fe, Mn, Cr und ein Teil von Cu) wird filtriert, aluminiumfrei gewaschen, geglüht und in Säure gelöst. Der Rückstand wird mit $KHSO_4$ aufgeschlossen und mit $AgNO_3$-$(NH_4)_2S_2O_8$ nach der üblichen Weise oxydiert. Das Permanganat wird mit NaCl zersetzt, gekocht und nach Auskühlung titriert. Diese Bestimmung wird durch Vanadium nicht gestört, weil es unserer Erfahrungen nach bei der Laugenlösung gemeinsam mit Aluminium nahezu vollständig ausgelöst wird. Die zu der Titration erforderliche hochverdünnte Lösung wird aus einer 0,05m Stammlösung durch Verdünnung mit 1n Schwefelsäure hergestellt. In das Gefäss der Lösung werden sodann 1 g grobe Cd-Späne eingebracht, so dass die langsame Wasserstoffentwicklung die Oxydation der Lösung verhindert. Der Titer der Lösung verändert sich mit der Zeit nicht.

Die amperometrische Titration eignet sich gut zur Bestimmung von Mangan. Die allgemein verbreitete Methode von PROCTER und SMITH ist im Falle einer Legierung mit hohem Nickel-, Cobalt- oder Kupfergehalt wegen der Anwesenheit der farbigen Ionen entweder ungenau oder überhaupt nicht durchzuführen. Eine genaue Bestimmung kann durchgeführt werden, wenn das Permanganation mit Hilfe einer zu +1,0 Volt polarisierten rotierenden Platinelektrode mit Fe(II)-Lösung titriert wird. Das Mangan(II)-Ion wird im Schwefelsäure-Phosphorsäure-Medium in der Anwesenheit von Ag-Ionen mit $(NH_4)_2S_2O_8$ zu MnO_4^- oxydiert, der Überschuss des Oxydiermittels durch Kochen zersetzt und die abgekühlte Lösung titriert. Diese Methode kann auch vorzüglich im Mikromasse durchgeführt werden. Mit entsprechend stabilisierter hochverdünnter Masslösung kann in 50 ml Volum 5γ von Mn bestimmt werden. Diese Methode übertrifft hinsichtlich ihrer Genauigkeit die übrigen Methoden. Sie wird bei den Schiedsanalysen von Standardproben und bei der Analyse von Legierungen mit hohem Gehalt an farbigen Ionen (Alnico-Magnet, Widia, Stellit, Kanthal, Cromel, Alpakka, usw.) angewandt (Tabelle V) [9].

Die Bestimmung der Eisen(II)-Ionen kann mit MnO_4^-- oder CrO_4^--Ionen durchgeführt werden. Auch kleine Mengen der anwesenden Fe(II)-Ionen verursachen an der zu 1,0 Volt polarisierten rotierenden Platinelektrode einen grossen Diffusionsstrom. Während der Titration nimmt der Diffusionsstrom ab, der Endpunkt der Titration wird durch die Reagensmenge der minimalen Stromstärke angegeben.

Von den indirekten Titrationen wollen wir vor allen die chromatometrischen Sb-, As-, Bi und Te-Bestimmungen erwähnen. Gemeinsamer Zug all dieser Methoden ist, dass der Lösung $K_2Cr_2O_7$ in bekannter Menge zuge-

Tabelle V

Die amperometrische Bestimmung des Mangans

Stoff	Mn-Gehalt in %	Amperometrisch gefunden %			Die Zusammensetzung der Legierung %
	0,13	0,138	0,136	0,137	Cu : 61,5 Ni : 13,4 Zn : 24,9
Alpakka	0,07	0,067	0,070	0,068	61,1 13,8 25,0
	0,43	0,436	0,432	0,434	61,3 13,5 24,7
	0,08	0,086	0,084	0,085	Co : 0,10 Fe : 0,05 Ni : R
Nickel	0,10	0,108	0,110	0,110	0,15 0,10 R
	0,12	0,123	0,120	0,120	0,52 0,20 R
Messing	0,78	0,785	0,785	0,785	Fe : 0,2 Zn : 29 Cu : 69,95
Alnicomagnet	0,10	0,100	0,103	0,102	Al : 12,7 Ni : 29,5 Co : 94 Cu : 3,8 Fe : 48,3
Cromel	0,10	0,09	0,095	0,095	Cr : 20,0 Ni : 79 Fe : 0,50
Mn-Standard-Stahl	0,63	0,630	0,630	0,630	—

geben und der Überschuss des Reagens mit Fe(II)-Ionen zurücktitriert wird. — $K_2Cr_2O_7$ oxydiert Sb(III) zu Sb(V), As(III) zu As(V) und TeO_3^{2-} zu TeO_4^{2-}.

Es gibt mit Bi(III)-Ionen einen Niederschlag mit der Formel $(BiO)_2Cr_2O_7$. Dieser wird filtriert und der Überschuss des Bichromates aus einem aliquoten Teil der Lösung bestimmt.

Zur Bestimmung des Antimons eignet sich die chromatometrische Methode besonders deshalb, weil in Lösungen mit hohem Kupfergehalt noch gute Ergebnisse gezeitigt werden. Mit der Lowschen Permanganat- bzw. mit der Győry-schen Bromatmethode bekommen wir in Anwesenheit von viel Kupfer einen niedrigeren Antimongehalt als der tatsächliche, weil das Kupfer den Sauerstoff der Luft katalytisch dem Antimon übermittelt, so dass weniger Masslösung erforderlich ist. Die amperometrischen Antimontitrierungen werden in der Mischung von Schwefelsäure-Phosphorsäure-Salzsäure (Knopsche Lösung) durchgeführt. Die Oxydation des Antimon(III)-Ions durch Bichromat ist kein augenblicklicher Vorgang, mit der Titration soll also nur nach 15—20 Minuten begonnen werden. Das Bichromation ist im Salzsäuremedium mit Fe(II)-Ionen gut zu titrieren, da die Salzsäure bei +1,0 Volt noch keinen bedeutenden Diffusionsstrom liefert, also nicht stört (Abb. 9). Die Titration wird weder von Kupfer, Silber, Wismut, Zinn(IV), noch von dem eventuell ausfallenden $PbSO_4$ gestört. Die Methode ist zur Analyse von Kupferlegierungen (Antimonbronze, Zinnbronze), von Lagermetallen, von Hüttennebenprodukten (Elektrolysenschlämmen) und von Lötmaterial gut geeignet [10]. Nach der Schwefelsäure-Salpetersäure-Lösung der Legierung wird NO_2 durch Kochen

vertrieben, die Lösung bis Schwefelsäurerauch eingedampft, verdünnt, mit Na_2SO_3 reduziert. Der Sulfitüberschuss wird durch Kochen vertrieben, die

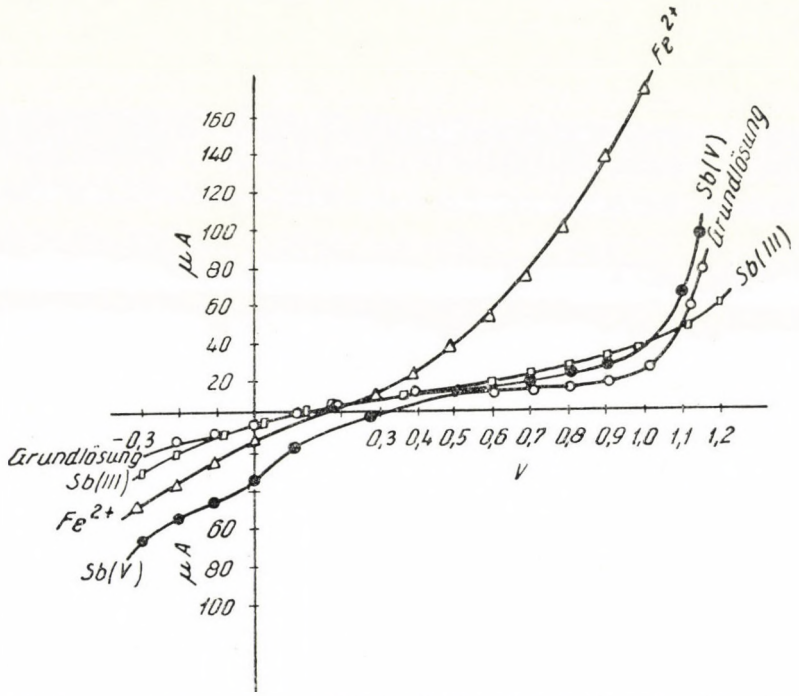


Abb. 9. Die Stromspannungskurve von Sb(III), Sb(V), Fe(II) in KNOP-Grundlösung (5 mg Sb, 15 mg Fe in 100)

Lösung abgekühlt, KNOPsche Lösung und Bichromat zugegeben und nach einer Zeit der Überschuss des Bichromats zurücktitriert (Tabelle VI).

Tabelle VI

Die amperometrische Bestimmung des Antimons

Stoff	Bestandteile in %													Sb	
	Cu	Pb	Sn	Zn	Bi	Cd	As	Se	Fe	Al	Ag	Si	Ni	titr.	grav.
Sn-Sb-Bronze	84,2	1,2	12,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,85	1,80
Lagermetall .	6,6	1,9	R	0,2	0,3	1,0	0,08	—	0,1	—	—	—	—	10,8	10,75
Lötmetall	17,3	—	—	17,5	—	—	—	—	0,4	0,4	49,6	—	—	14,0	13,98
Elektrolysen-schlamm	21,6	5,5	0,3	—	—	—	0,1	0,5	—	—	—	3,8	1,5	11,4	11,3
Messing	69,9	—	—	29,0	0,005	0,002	—	—	—	—	—	—	—	0,035	0,04
Kupfer	R	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,04	—	0,01	—	—	—	0,37	0,15	0,16-spek-tral

Die amperometrische Antimonbestimmung ist zur Analyse der Verunreinigungen von tausendstel % des Elektrolytkupfers und der verschiedenen Kupferlegierungen (z. B. Messing) gut geeignet. Eventuell ist in der gleichen Grössenordnung auch Arsen vorhanden, das vorher in Form von $MgNH_4AsO_4$ abgeschieden werden muss, da sonst Arsen gemeinsam mit Antimon titriert wird. Die quantitative Abscheidung der kleinen Menge von Arsen ist durch die gleichzeitige Abscheidung von $MgNH_4PO_4$-Kollektor zu erreichen.

20—50 g der Legierung wird eingewogen, in Salpetersäure gelöst und nach Vertreibung des Säureüberschusses mit ammoniakalischer $MgCl_2$-NH_4Cl-(Magnesiamixtura-) Lösung und mit $(NH_4)_2HPO_4$-Lösung versetzt, dann Ammoniak bis zur Erreichung eines pH-Wertes von 8,5—9 zugegeben. Ist viel Eisen oder Aluminium vorhanden, so ist die Zugabe von wenig Weinsäure oder Ammoniumtartarat vor der Ammoniakbehandlung zweckmässig. Eisen(III)-Hydroxyd reisst nämlich einen Teil des Antimons mit. Der Niederchlag wird kupferfrei gewaschen, in Schwefelsäure gelöst, dann nach SCHULEK und VILLECZ reduziert. Nach der Verdünnung der Lösung wird Bichromatüberschuss zugegeben und das Bichromat nach 5 Minuten titriert. Der von Arsen befreiten Lösung wird bis zum Aufhören der Kupferhydroxydabscheidung Salpetersäure, dann $MnSO_4$- und $KMnO_4$-Lösung zugegeben und die Mischung gekocht. Das ausfallende MnO_2 adsorbiert die ganze Menge des Antimons. Der Niederschlag wird filtriert, kupferfrei gewaschen, in verdünnter Salpetersäure und $NaNO_2$ gelöst und nach Zugabe von Schwefelsäure bis zur Entwicklung von NO gekocht. Das Antimon wird mit verdünnter Na_2SO_3-Lösung reduziert, gekocht und abgekühlt. Es wird Bichromatüberschuss beigesetzt und nach 5 Minuten mit Fe(II)-Lösung titriert.

In der Metallanalysenpraxis wird die Bestimmung des Tellurs meistens bei der Analyse der sog. Anodenschlämme benötigt. Die gravimetrische Tellurbestimmung beruht auf der Reduktion des elementaren Tellurs. Ein Nachteil dieser Methode ist die schnelle Oxydation des Tellurs. Seine Trennung von den übrigen Bestandteilen (vor allem von den Edelmetallen und Se, As und Sb) ist eine ziemlich schwierige und langwierige Arbeit. Die amperometrische Bestimmung kann dagegen innerhalb einer Stunde durchgeführt werden.

Durchführung: 2 g des Schlammes wird in einem Nickeltiegel mit Na_2O_2 aufgeschlossen, in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert ; nach Auskochen des Chlors werden Se, Te, Au, Sn, Sb und As mit $Ca(H_2PO_2)_2$ reduziert. Nach der Filtrierung wird der Niederschlag in konzentrierter Salpetersäure gelöst, gekocht und bis zum Erscheinen des Schwefelsäurerauches eingedampft. Nach Abkühlung wird verdünnt, und ein Überschuss von Bichromat zugegeben. Nach einer halben Stunde ist mit Fe(II) zu titrieren. Die entstandene Antimonsäure und Metazinnsäure stören nicht (Tabelle VII) [11].

Die indirekten chromatometrisch-amperometrischen Titrationen können auch zu einigen speziellen Analysenaufgaben herangezogen werden. Bei der Mi-

Tabelle VII

Die amperometrische Bestimmung des Tellurs in Anodenschlämmen

Tellurgehalt in %				Die Zusammensetzung des Schlammes in %								
Gravimetrisch	Amperometrisch			Pb	Sn	Zn	As	Se	Ag	Si	Sb	Cu
0,04	0,035	0,036	0,035	4,7	8,0	—	0,5	0,08	0,12	0,5	9,3	22,8
0,08	0,080	0,081	0,080	5,5	0,3	—	0,1	0,5	3,8	1,5	11,4	21,6

krobestimmung des Arsens werden die Spuren von Arsen mit $Fe(OH)_3$- oder $MgNH_4PO_4$-Kollektor von den störenden Metallen getrennt, dann der Kollektorniederschlag in Schwefelsäure gelöst, das Arsen zu dreiwertig reduziert (z. B. nach SCHULEK und VILLECZ). Dann wird Bichromatlösung zugegeben und nach einer Zeit der Überschuss mit Fe(II) zurücktitriert. 0,2 mg Arsen kann $\pm 1\%$ genau bestimmt werden.

Bei der Bestimmung von Wismut geben wir im schwachen salpetersauren Medium (pH = 3,0—3,5) Bichromat in etwa 5fachem Überschuss zu. Der ausscheidende $(BiO)_2Cr_2O_7$-Niederschlag wird filtriert und das Bichromat aus einem aliquoten Teil des Filtrates mit Fe(II) zurücktitriert.

Durchführung: aus der Lösung entnehmen wir eine Probe, die etwa 5 mg Bi enthält, führen sie in einen 100 ml Messkolben ein, geben 80 ml Wasser zu, dann versetzen wir sie mit 5 ml $K_2Cr_2O_7$ (5 mg Cr), füllen auf, schütteln und lassen sie stehen. Nach der Filtrierung wird der Lösung 25 ml entnommen, in einem 200-ml-Becher mit 10 ml 1 : 1 Schwefelsäure und 50 ml Wasser versetzt und mit $FeSO_4$ titriert.

Bei den Titanbestimmungen wird das in schwefelsaurem Medium durch Zinn zu dreiwertig reduzierte Titan unter CO_2-Atmosphäre mit Bichromatüberschuss oxydiert und dann das Bichromat mit Fe(II) zurücktitriert. Bei der Bestimmung des Fe(II)-Gehaltes von Erzen und Schlacken wird die Lösung in einer CO_2-Atmosphäre in salzsaurem Medium in Anwesenheit von $K_2Cr_2O_7$-Überschuss oxydiert und das Bichromat zurücktitriert. Bei der Bestimmung von MnO_2 wird das Lösen in Anwesenheit von $FeSO_4$ durchgeführt und das Fe(II)-Ion mit Bichromat titriert. Diese letzteren Bestimmungen können nur in der Abwesenheit von säurelöslichen Metallen durchgeführt werden.

Die Konzentrationen der bei den Titrationen verwendeten Lösungen sind die folgenden: 2,8284 g $K_2Cr_2O_7$ in 1 Liter. Fe(II)-Lösung: 22,620 g $(NH_4)_2Fe\text{-}(SO_4)_2 \cdot 6\,H_2O$ in 1 Liter 1n Schwefelsäure gelöst.

Eine oft angewandte indirekte Titriermethode ist die Bestimmung des Kobalts mit $K_3Fe(CN_6)$. Die übliche α-Nitroso-β-Naphthol-Methode hat aber mehrere Nachteile. Teils ist sie ziemlich langsam, teils ist die Zusammensetzung des eventuell geglühten Niederschlages nicht immer stöchiometrisch. In unserem Laboratorium wird statt dieser Methode ausschliesslich mit der amperometrischen Titration gearbeitet [12]. Das Kobalt(II)-Ion wird im

Tabelle VIII

1 ml Masslösung entspricht	
Cr	1,00 mg
V	3,03 «
Mn	0,63 «
Sb	3,51 «
As	2,16 «
Te	3,68 «
Fe(II)	3,22 «
Bi	4,02 «
Ti	2,74 «

Ammoniak-Ammoniumtartarat-Medium durch das $[Fe(CN)_6]^{3-}$-Ion zu Kobalt(III) oxydiert. In der Praxis wird das Oxydationsmittel im Überschuss verwendet und mit einer $CoCl_2$-Lösung von bekannter Konzentration zurücktitriert. Auf diese Weise ist eine höhere Genauigkeit als bei der direkten Titration zu erreichen. Die rotierende Platinelektrode wird bei 0,00 Volt gegen die gesättigte Kalomelelektrode polarisiert. An dieser Elektrode gibt das $[Fe(CN)]^{3-}$-Ion einen grossen negativen Diffusionsstrom (Abb. 10). Wird der Lösung Co(II) zugegeben, so fällt der Diffusionsstrom (Abb. 12). Am Endpunkt der Titration erreicht die Stromstärke ihr Minimum, das gewöhlich 0,5—1 Mikroampere beträgt. Die Bestimmung wird nur durch das Mn(II)-Ion gestört, weil es ähnlich dem Kobalt oxydiert wird. Bei der Titration erhalten wir die Summe von Co und Mn. Wird der Mangangehalt mit einer anderen Methode bestimmt, so kann es in Korrektion genommen werden. Trotz diesem kleineren Nachteil ist die Titration wegen ihrer Schnelligkeit und Genauigkeit als die beste Bestimmungsmethode des Kobalts zu betrachten. Im Falle von technischen Legierungen wird die Bestimmung des Mangans ohnehin immer durchgeführt, seine Anwesenheit bedeutet also keinen besonderen Zeitverlust.

Die Titration erfordert keine vollständige Apparatur, es genügt allein die Verbindung der rotierenden Platinelektrode und der Kalomelelektrode über das Mikroamperemeter (Abb. 11). Nötigenfalls kann auch eine ruhende Elektrode verwendet werden, in diesem Fall ist aber die Lösung ständig und gleichmässig zu rühren. Das Verfahren eignet sich auch zu Mikrobestimmungen, es lässt sich noch 10 γ Co in 50 ml Volumen bestimmen. Ein weiterer Vorteil der Methode besteht darin, dass die Trennung der übrigen Bestandteile mit Zinkoxyd überflüssig ist, sie kann unmittelbar aus der sauren Lösung der Legierung durchgeführt werden.

In unserer Betriebspraxis wird diese Methode zur Analyse der wolframhaltigen Werkstoffstähle, Stelliten (60% Kobalt), Widia (3—20% Kobalt),

von Kolbenlegierungen vom Silumintyp (1,5% Kobalt), von Berylliumbronze (2% Kobalt), von Nickelmetall (0,1—0,5% Kobalt), von Alnico-Magnetstählen (5—15% Kobalt) von Widerstandsstoffen von Kanthaltyp und von Grundemaillen mit CoO-Gehalt angewandt (Tabelle IX).

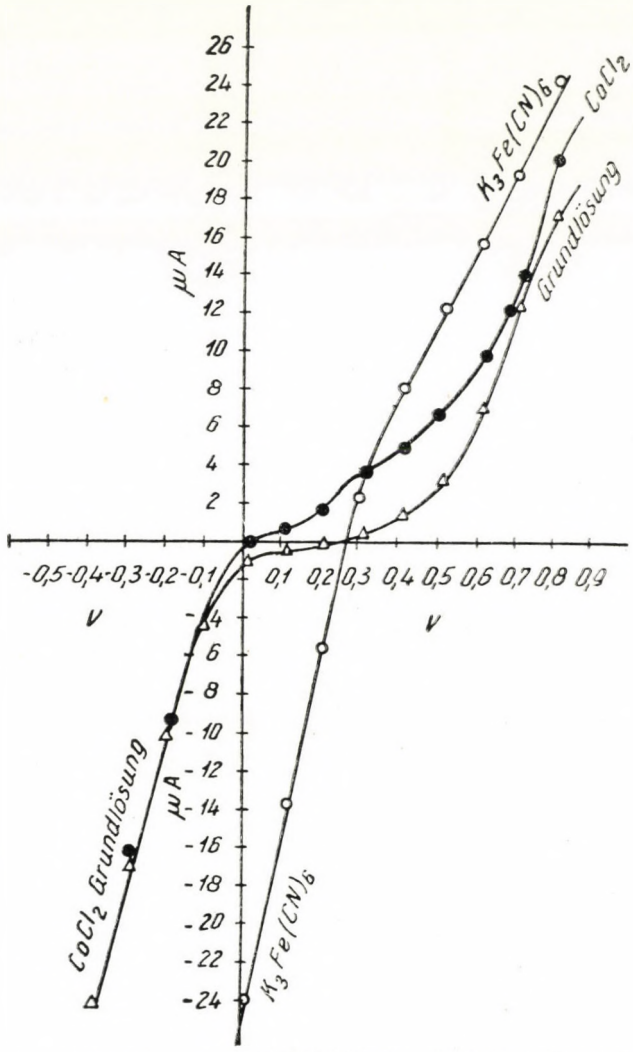


Abb. 10. Die Stromspannungskurve von $K_3[Fe(CN)_6]$ und Co^{2+} in Ammoniak und Tartarat enthaltender Grundlösung (4 mg Co, 2 ml $K_3[Fe(CN)_6]$ in 100 ml)

Durchführung: In einem 200 ml Becher werden 5 ml 30%ige Weinsäure und 30 ml konz. Ammoniumhydroxyd gemischt, mit Wasser zu etwa 50 ml ergänzt. 5 ml $K_3[Fe(CN)_6]$-Lösung wird zugegeben und *danach* die zu untersuchende Probe, die etwa 5 mg Co enthält, eingeführt. Die Lösung wird

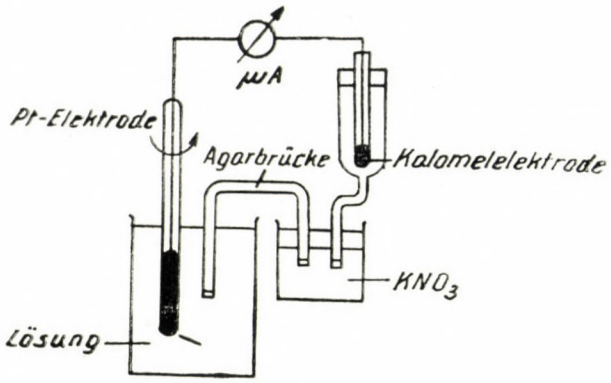


Abb. 11. Kurzschaltung

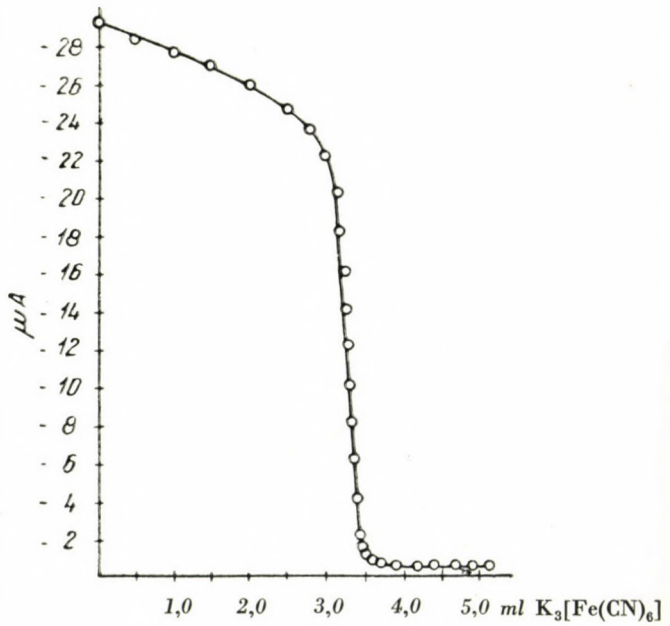


Abb. 12. Das indirekte Titrieren von Co(II)

Tabelle IX

Kobaltbestimmung

Stoff	Bestandteile in %										Co-Gehalt in %	
	W	Cr	Ni	Cu	Fe	Al	Si	Mn	C			
Werkstoffstahl .	17,8	4,6	—	0,2	R	—	0,3	0,3	1,0		4,16	4,15
Nickelmetall ...	—	—	R	0,2	0,5	—	0,05	0,05	—		0,56	0,57
Berylliumbronze	—	—	—	96,0	—	—	—	—	—	Be: 0,5	2,15	2,17
Kolbenlegierung	—	—	1,62	1,70	0,26	R	22,0	0,54	—		1,39	1,40
Stellit	4,0	23,9	—	—	9,0	—	2,0	—	1,0		60,10	60,05
Widia	68,8	—	—	—	1,8	—	—	—	7,4	Ti: 15,0	6,60	6,60
Alnico-Magnet .	—	—	24,0	3,9	47,8	13,9	0,05	0,05	0,06		10,22	10,25

Emaillefritt	Al_2O_3	SiO_2	Na_2O	CaO	MgO	MnO	BaO	B_2O_3	F	CoO Gehalt	
	9,5	47,9	20,4	8,8	2,5	1,4	1,0	5,9	0,7	1,00	1,05

gemischt und nach 2—3 Minuten mit $CoCl_2$-Lösung zurücktitriert. Die Lösungen sind: $CoCl_2$-Lösung: 2 g Metall in Salzsäure gelöst, zu 1 Liter verdünnt, $K_3[Fe(CN)_6]$ Lösung: 11,0 g $K_3[Fe(CN)_6]$ krist. in 1 Liter.

Wenn kein Kobalt zugegen ist, dann ist diese Titration zur Bestimmung von grossen Mengen Mangan neben farbigen Ionen (wie z. B. im Falle von CuMn- oder NiMn-Legierungen mit 15—30% Mn-Gehalt) sehr geeignet. In diesen Fällen ist die reduktometrische Titration mit MnO_4^- infolge der hohen Verdünnung nicht genügend genau, weiterhin kann das Mn ohne Ausscheidung von MnO_2 nicht zu MnO_4^- oxydiert werden. 1 ml der Masslösung gibt 2,00 mg Co bzw. 1,84 mg Mn an.

Von den Fällungstitriermethoden ist die Bestimmung kleiner Mengen Silber von grosser praktischer Wichtigkeit. Die Bestimmung der kleinen Mengen Silber (0,1—0,5%) in Kupferlegierungen bringt immer eine gewisse Unsicherheit mit sich. Der Silberchlorid-Niederschlag ist nach ihrer Abscheidung mit fremden Ionen verunreinigt, beim Waschen treten Verluste auf, beim Trocknen scheidet sich metallisches Silber aus. Die gewöhnlichen massanalytischen Bestimmungen werden durch Kupfer gestört, indem die Indikatorvorgänge gestört werden. Diese Fehler sind mit den Indikatormethoden der Amperometrie leicht zu beseitigen [13]. Das Silber kann mit Halogenionen amperometrisch gut titriert werden. Im Prinzip wäre die Titration mit Jodidion am besten, da die Löslichkeit des AgJ die kleinste ist. In Anwesenheit von Kupfer kann jedoch Jod nicht angewandt werden, da es auch vom Kupfer unter Entstehung von CuJ verbraucht wird. Die Ionen CN^- und SCN^- dürfen aus gleichen Gründen nicht benützt werden. Dagegen lässt sich Chlorid oder Bromid auch neben einem 100fachen Kupferüberschuss gebrauchen. An der bei +0,05 V polarisierten Platinelektrode geben die Silberionen einen negativen

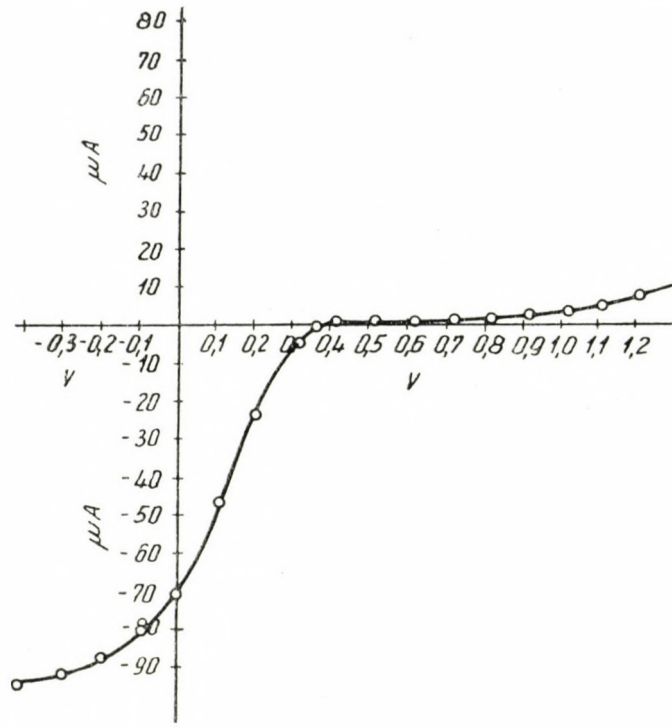


Abb. 13. Die Stromspannungskurve des Ag-Ions in salpetersaurem Medium (2 mg Ag in 100 ml)

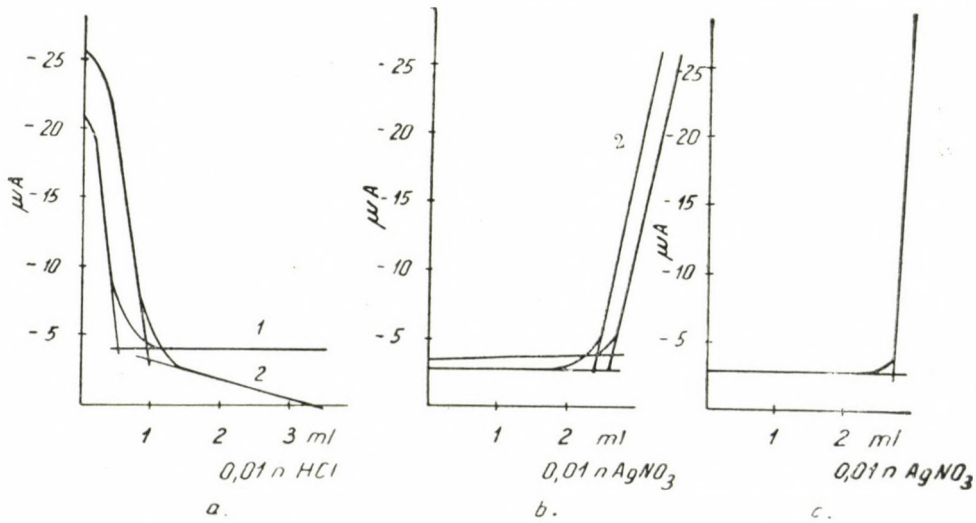


Abb. 14. Das direkte und indirekte Titrieren des Ag-Ions mit Cl^-. bzw. Br^--Ionen: a) Direkt mit Cl-Ion; b) Indirekt mit Cl-Ion, c) Indirekt mit Br-Ion. 1. Ohne Cu, 2. Neben Cu

Diffusionsstrom (Abb. 13). Die Chloridionen verringern diesen Strom und der Endpunkt der Titrierung wird durch das Minimum angezeigt. In Anwesenheit von Kupfer fällt der Diffusionsstrom auch nach dem Endpunkt der Titration, so dass die Feststellung des Endpunktes nicht mit der erforderten Genauigkeit erfolgen kann (Abb. 14). Verwenden wir einen Chloridionüberschuss, so kann mit $AgNO_3$-Lösung von bekannter Konzentration, z. B. 0,01 n zurücktitriert werden. In diesem Falle ist die Feststellung des Endpunktes genauer. Wenden wir einen Überschuss vom Bromidion an, so ist die Form der Titrierkurve ausgezeichnet und biegt sich nicht einmal neben viel Cu (Abb. 14).

Durchführung : ein Teil, der etwa 1—4 mg Ag enthält, wird der Lösung entnommen, und in einen 100-ml-Becher eingeführt. 5 ml Salpetersäure (d = 1,25), 5 ml 1%ige Gummiarabicumlösung, 50 ml Wasser und 5,00 ml 0,01n KBr-Lösung werden zugegeben, gut gemischt und nach einer Minute mit 0,01n $AgNO_3$ titriert. Am Endpunkt der Titration steigt die Stromstärke plötzlich an. Die Titration wird durch Salpetersäure, Essigsäure, Weinsäure, Phosphorsäure, Perchlorsäure und Schwefelsäure nicht gestört. Mit diesem Verfahren kann Silber nicht nur in kleinen, sondern auch in grossen Mengen mit einem Fehler bestimmt werden, der kleiner als 1% ist (Tabelle X).

Tabelle X

Silberbestimmung

Stoff	Bestandteile in %							Silbergehalt in %			
	Cu	Pb	Sn	Zn	Sb	Al	Fe	gravimetrisch		amperometrisch	
Ag-Bronze	99,85	—	—	—	—	—	—			0,150	0,145
Ag-Bronze	98,55	—	—	—	—	—	—	1,38	1,35	1,38	1,39
Ag-Bronze	94,85	—	—	—	—	—	—	5,00	5,10	5,05	5,10
Elektrolysenschlamm	21,6	5,5	0,3	—	11,4	—	—	3,75	3,70	3,80	3,75
Lötmetall	17,3	—	—	17,5	14,0	0,4	0,4	49,50	49,60	49,60	49,60
Lötmetall	6,6	—	(Si :	0,4)	—	—	0,4	92,80	92,80	92,60	92,60

In einigen Fällen lässt sich zur Bestimmung des Zinkes die amperometrische Titration mit $K_4[Fe(CN)_6]$ gut gebrauchen. In schwefelsaurem Medium neben Ammoniumsulfat gibt das $[Fe(CN)_6]^{4-}$-Ion an der bei +1,0 Volt polarisierten rotierenden Platinelektrode einen recht grossen Diffusionsstrom (Abb. 15). Bis das Zinkion in der Lösung mit dem Reagens einen Niederschlag gibt, ist der Diffusionsstrom sehr niedrig (einige Mikroampere). Am Endpunkt der Titration verursachen die freien $[Fe(CN)_6]^{4-}$-Ionen einen grossen Stromsprung (Abb. 16). Der Kupfergehalt der Legierung wird vorangehend durch Elektrolyse beseitigt.

Durchführung: Zu einer Lösung, die 5—25 mg Zink enthält, werden in einem 200-ml-Becher 3 ml 1 : 1 Schwefelsäure, 2 g Ammoniumsulfat zugegeben

und mit Wasser zu 50 ml aufgefüllt. Die Titration erfolgt langsam und tropfenweise. Nach jedem Tropfen soll einige Sekunden gewartet werden, bis das Instrument seinen endgültigen Wert einnimmt. Im Bereich des Endpunktes schlägt das Instrument vorübergehend aus, nimmt aber dann seinen Ruhezustand wieder ein.

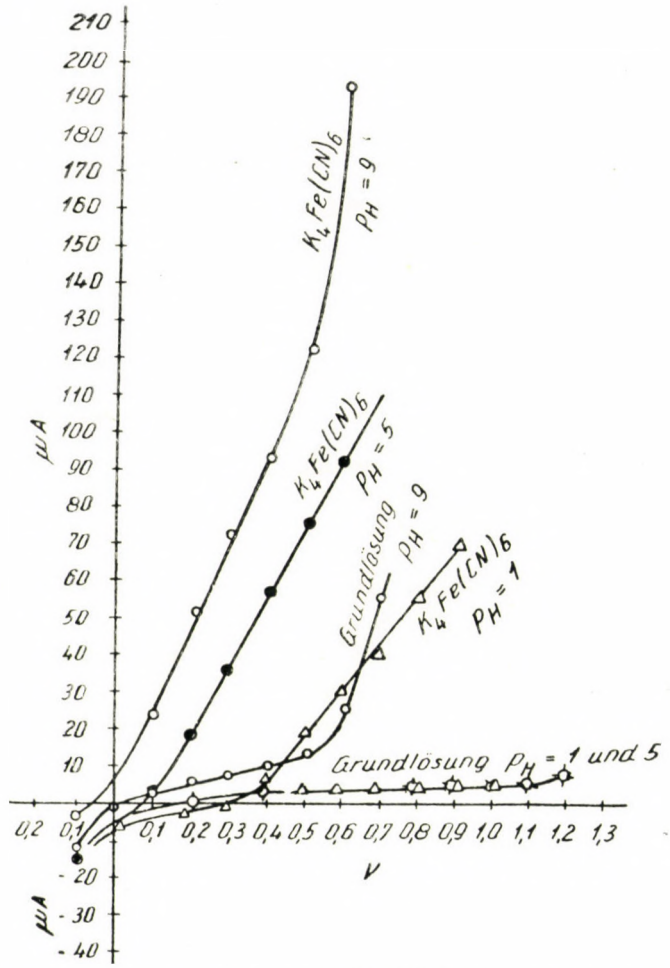


Abb. 15. Die Stromspannungskurve von $K_4[Fe(CN)_6]$ bei verschiedenen pH-Werten (2 ml 0,1 m $K_4[Fe(CN)_6]$ in 100 ml)

Nach dem Endpunkt verursacht jeder Tropfen einen mächtigen Ausschlag (5—10 Mikroampere). Die Masslösung: 42,239 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3\,H_2O$ in 1 Liter (0,1m Lösung).

Der Zinkgehalt einer Bunt- oder Leichtmetallegierung kann nach der Elektrolyse des Kupfers unmittelbar bestimmt werden. Aluminium stört die

Bestimmung nicht. Ist in kleineren Mengen Eisen zugegen, so führen wir die Titration in einer Ammoniak-Ammoniumtartarat-Lösung von pH = 6,5 aus. Der Mangangehalt wird vorangehend mit Ammoniak-Wasserstoffperoxyd gefällt und filtriert. Die Zusammensetzung des Niederschlages ist im sauren Medium $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$, im neutralen $Zn_2[Fe(CN)_6]$.

Die amperometrische Endpunktsbestimmung kann auch in der Jodometrie angewandt werden [15]. Die Jod-Jodkalium-Lösung gibt an der bei +0,5 V

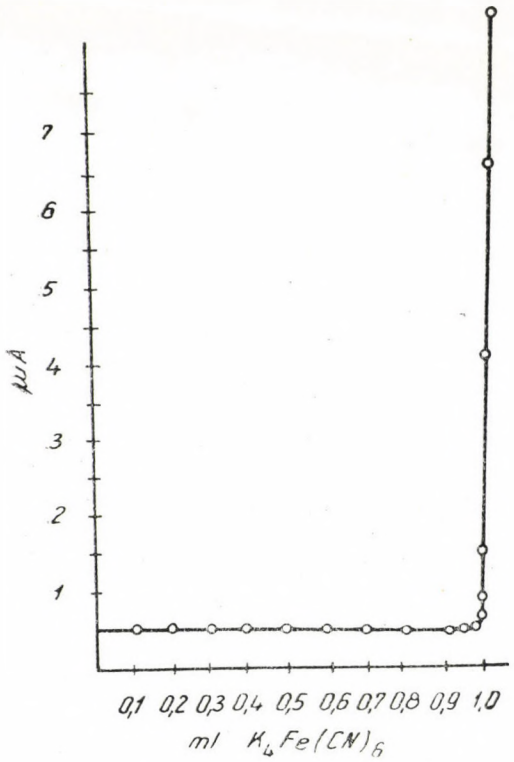


Abb. 16. Das Titrieren von Zn mit $K_4[Fe(CN)_6]$

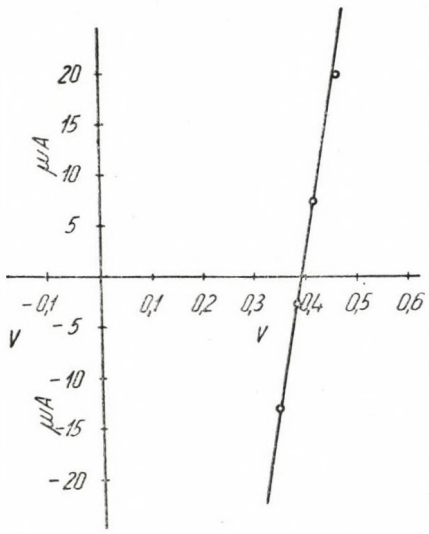


Abb. 17. Stromspannungskurve von J_2-KJ

polarisierten Pt-Elektrode einen grossen positiven Diffusionsstrom. Schon der Strom von einem Tropfen 0,01 n J_2-Lösung ist bedeutend (Abb. 17). Die Anwendung der amperometrischen Endpunktsbestimmung ist vorteilhafter als die Indikation mit Stärke, erstere ist nämlich empfindlicher und auch neben farbigen Ionen brauchbar. Die Mikrobestimmung von kleinen Mengen Zinn erfolgt folgendermassen : Nach der Auflösung des Metalles wird das Zinn in der Form von Metazinnsäure mit Salpetersäure oder mit organischen Fällungsmitteln abgeschieden, ausgeglüht, in einem Nickeltiegel mit Na_2O_2 aufgeschlossen,

in Salzsäure gelöst und mit einem Nickelband reduziert. Die Zinn(II)-Ionen werden in einer CO_2-Atmosphäre mit 0,01 n Jodlösung titriert.

Ein neues Gebiet der Anwendung von amperometrischen Titrationen sind die Titrationen der Säuren und Metallen mit Lauge [16]. Über +1,2 V zersetzt sich das OH^--Ion unter Ladungsverlust in (OH)-Radikal, dann zu

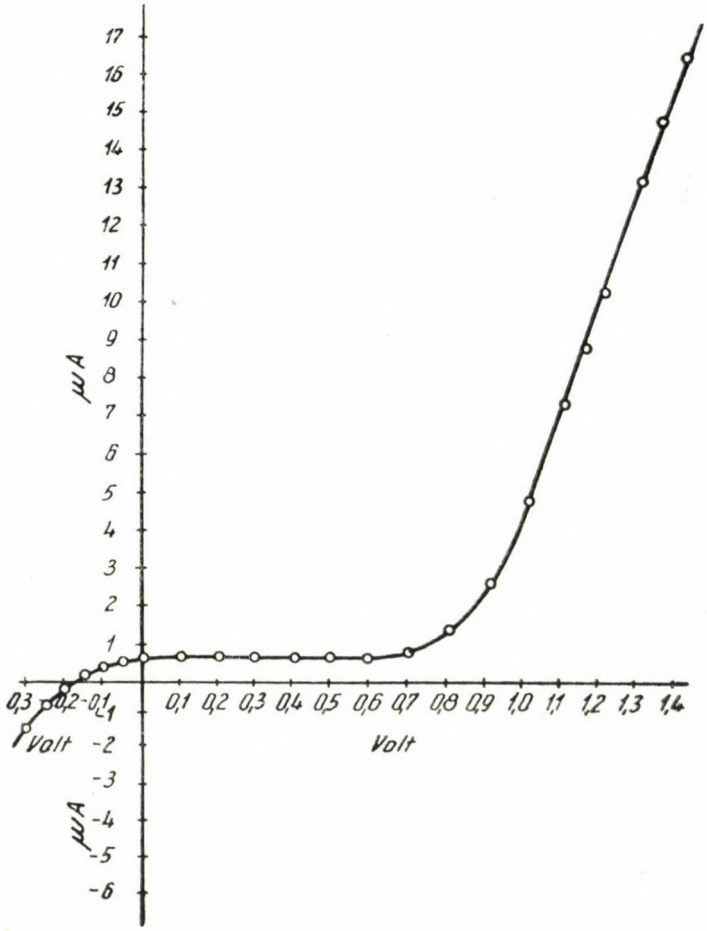


Abb. 18. Die Stromspannungskurve des OH^--Ions (2 ml 0,1n $NaOH^-$ in 100 ml)

Wasser und Sauerstoff. Bei dem Elektronenverlust tritt ein Diffusionsstrom auf (Abb. 18). Sind in der Lösung Wasserstoffionen anwesend, so entsteht natürlich kein Strom. Das ist die Grundlage der Titrati on der Säuren (Abb. 19). Metallionen, die schwach lösliche Hydroxyde haben, können alkalimetrisch titriert werden, weil nach der Erreichung des Überschusses an OH^- eine ausgeprägte Stromzunahme auftritt. Säuren und Metalle lassen sich nebeneinander titrieren. An der Titrierkurve können zwei Sprünge beobachtet werden (Abb. 19).

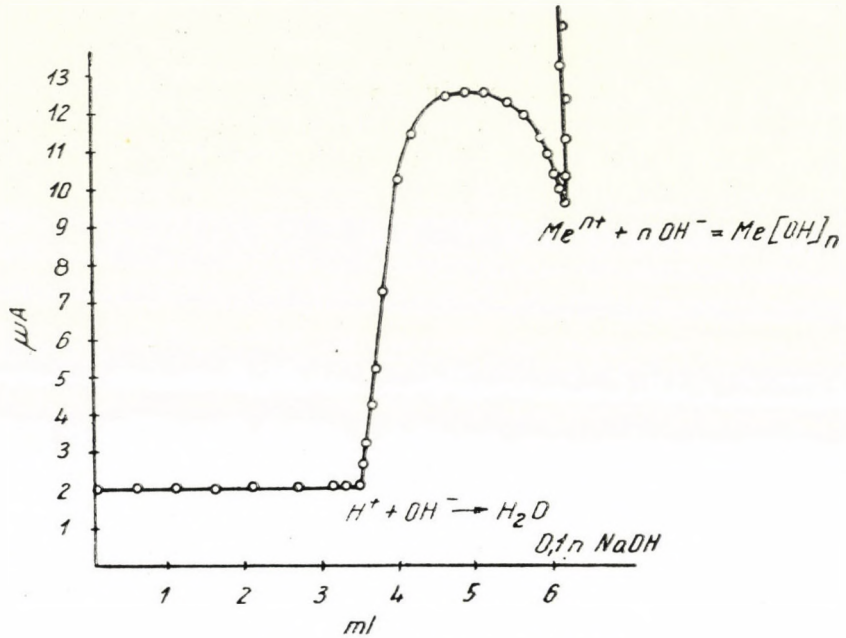


Abb. 19. Metalltitration mit Lauge

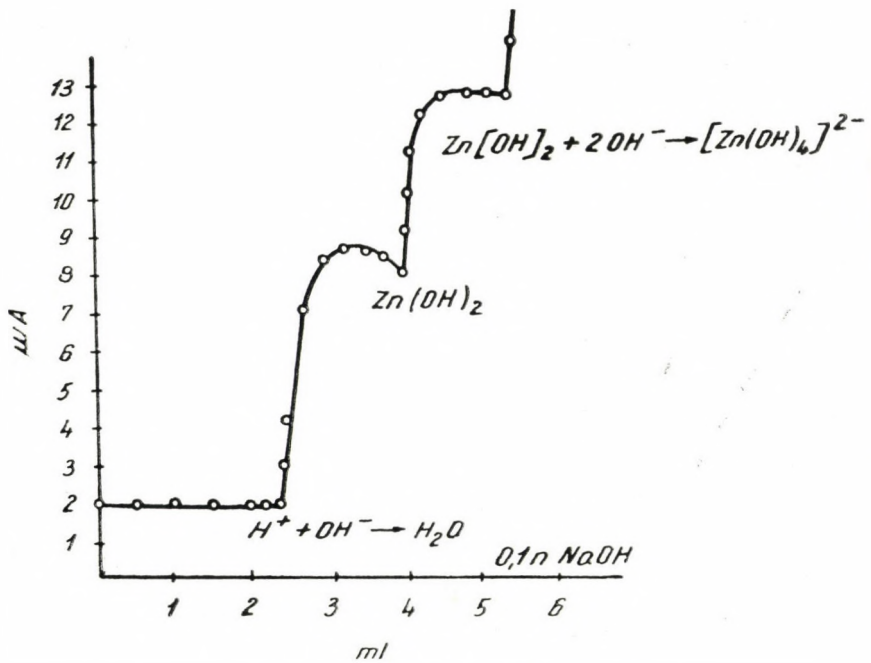


Abb. 20. Die Titrationskurve von Zn

Wenn sich das entstandene Hydroxyd im Überschuss der Lauge löst und sich an der Elektrode ein stabiler, kein Elektron abgebender Komplex bildet, so tritt ein dritter Sprung auf (Abb. 20). Die Methode wurde bis jetzt zur Titration von Cu, Ni, Zn, Co(II), Co(III), Al und Fe angewandt. Magnesium konnte nicht titriert werden, da das Magnesiumhydroxyd eine ausgeprägte OH^--Ionenadsorption aufweist, was bedeutet, dass an der Kurve der Sprung des Endpunktes fehlt. Auch die Titration von Ag und Cr war erfolglos.

Die Platinelektrode wird bei +1,5 V polarisiert. Die Genauigkeit der Titrationen ist sehr gut. 10,9 mg Cu entsprechen einem Sollwert von 10,5 mg. Die Titration ist bestens mit 0,1 n Masslösungen durchzuführen. Wird eine verdünntere Lösung verwendet, so ist ein CO_2-freies Medium notwendig, da diese Lösung wegen der Reaktion $CO_2 + OH^- \leftrightarrows HCO_3^-$ einen Teil ihres OH^--Gehalts verliert. Da die Lösung von der Luft immer CO_2 aufnimmt, ist es zweckmässig im Stickstoffgas zu titrieren. Statt der rotierenden Elektrode sollen eine vibrierende Elektrode und ein magnetischer Rührer benutzt werden, da so der Ausschluss der äusseren Luft am besten gesichert ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die amperometrischen Methoden beschrieben, die im Laboratorium der Csepel-Metallwerke angewandt werden. Hauptsächlich werden V, Cr, Cr_2O_3, V_2O_5, Mn und Co bestimmt, und zwar auf direktem Wege. Für Sb, As, Bi, Te wird die indirekte Bestimmung über $K_2Cr_2O_7$ benutzt. Der Nachweis von Ag und Zn erfolgt durch Fällungsreaktionen mit KBr bzw. mit $K_4[Fe(CN)_6]$.

LITERATUR

1. J. Heyrovský: Polarographie, theoretische Grundlagen, praktische Ausführung und Anwendungen der Elektrolyse mit der tropfenden Quecksilberelektrode (Springer-Verlag, Wien) 1941, S. 419.
2. M. v. Stackelberg: Polarographische Arbeitsmethoden (Walter de Grujter & Co. Berlin) 1950, S. 252, 269.
3. I. M. Kolthoff und H. Laitinen: J. phys. Chem. **45**, 1079 (1941).
4. N. Konopik: Österr. Chemiker Ztg. **54**, 289, 325 (1953).
5. J. Heyrovský und S. Berezický: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **1**, 19 (1929).
6. I. Bozsai und Z. Hegedüs: Mérés és Automatika **1**, 133 (1953).
7. I. Bozsai: Kohászati Lapok **87**, 271 (1954).
8. M. Jean: Précise d'analyse des aciers et des fontes. (1949) S. 346.
9. I. Bozsai und Z. Hegedüs: Magyar Kémiai Folyóirat **58**, 331 (1952).
10. I. Bozsai: Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 305 (1955).
11. I. Bozsai und Z. Hegedüs: Magyar Kémiai Folyóirat **58**, 335 (1952).
12. I. Bozsai: Bisher nicht publiziert.
13. I. Bozsai: Bisher nicht publiziert.
14. T. D. Parks, O. D. Smith und S. B. Radding: Anal. Chim. Acta (Amsterdam) **10**, 485 (1954).
15. G. Knowles und G. F. Lowden: Analyst **78**, 159 (1953).
16. I. Bozsai: Bisher nicht publiziert.

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ : Da Sie über viel Erfahrungen mit der rotierenden Platinelektrode verfügen, möchte ich fragen, wie oft reinigen Sie sie, welchen Durchmesser hat die Elektrode und aus wie reinem Stoff ist sie hergestellt?

I. BOZSAI : Die Elektrode hat einen Durchmesser von 0,5 mm und besteht aus reinem Platin. Ihre Reinigung erfolgt nach Silbertitration mit konzentrierter Salpetersäure, nach Zinktitration durch $K_4[Fe(CN)_6]$ mit 10%iger Natronlauge. Die Elektrode wird übrigens täglich mit schwefelsaurer Eisen(II)-Sulfatlösung gewaschen.

THE USE OF AMPEROMETRIC TITRATIONS IN THE ANALYSIS OF METALS

I. Bozsai

(Material Testing Laboratory, Csepel Iron and Metal Works, Budapest)

Summary

Amperometric methods applied with success in the Laboratory are described. The direct determination of V, Cr, Cr_2O_3, V_2O_5, Mn and Co is the main task. Sb, As, Bi and Te are, in turn, indirectly determined, through $K_2Cr_2O_7$. For the detection of Ag and Zn, the precipitate tests with potassium bromide and potassium iron(II) cyanide, respectively, proved suited.

Imre BOZSAI Budapest, Csepel Vas- és Fémművek

POLAROGRAPHIE DER N-HALTIGEN HETEROCYCLISCHEN VERBINDUNGEN

J. VOLKE

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Die organischen Verbindungen, in deren Molekeln ein oder mehrere heterocyclisch gebundene Stickstoffatome anwesend sind, nehmen in der organischen Chemie eine so wichtige Stellung ein — da zu ihnen viele Farbstoffe, Alkaloide, Vitamine, sowie auch neuere Heilmittel gehören —, dass schon viele von ihnen polarographisch untersucht wurden. Einerseits handelte es sich dabei um Ausarbeitung analytischer Methoden zur Bestimmung dieser Stoffe, anderseits, besonders in neuerer Zeit, hat sich das Studium der Struktur der Heterocyclen die Heranziehung der Polarographie zur Konstitutionsermittlung und Erforschung der Reaktionsmechanismen dieser Stoffe erzwungen. Beide diese Richtungen haben gleich viel zu unserer heutigen Kenntnis des elektrochemischen Verhaltens der heterocyclischen Stickstoffverbindungen beigetragen. Im weiteren sollen die Eigenarten der polarographischen Aktivität dieser Klasse von Verbindungen sowie auch deren Anwendungsmöglichkeiten in der analytischen Chemie behandelt werden.

Polarographische Aktivität äussert sich durch Reduktion, Oxydation oder durch Bildung von Quecksilberverbindungen an der Quecksilbertropfelektrode. Ausserdem können manche Stoffe die Reduktion der Wasserstoffionen aus der Lösung katalytisch erleichtern. Bei den heterocyclischen Verbindungen sind zwar alle diese vier Eigenschaften je nach der Verbindung vertreten, gemeinsam sind jedoch für fast alle Heterocyclen — auch für diejenigen, die an der Elektrode weder reduziert noch oxydiert werden — die Stufen der katalytischen Wasserstoffabscheidung. In diesen Stufen äussert sich deutlich der basische Charakter des heterocyclischen Stickstoffatoms, denn die Katalyse der Reduktion wird gewöhnlich durch das Kation der Base verursacht, das die Molalisierung des reduzierten Wasserstoffs erleichtert [1]. Die Konzentration dieses Katalysators hängt von dem pH-Wert der Lösung ab, so dass auch die Intensitäten der katalytischen Ströme stark pH-abhängig sind, was vom analytischen Standpunkte aus zu den grössten Nachteilen dieser Ströme gehört, die übrigens in jeder Hinsicht eine grosse Empfindlichkeit gegen äussere Einflüsse aufweisen.

Während bei fast allen N-haltigen Heterocyclen die beschriebenen kata-

lytischen Wellen festgestellt wurden, ist die direkte Reduzierbarkeit oder Oxydierbarkeit an der Tropfelektrode, sowie die Fähigkeit anodische Stufen durch Reaktion mit Quecksilber zu bilden, durch andere Eigenschaften der Verbindungen bedingt. Von der Reduktion oder von der Oxydation kann in einem heterocyclischen Stoffe entweder der nicht hydrierte N-haltige Ring

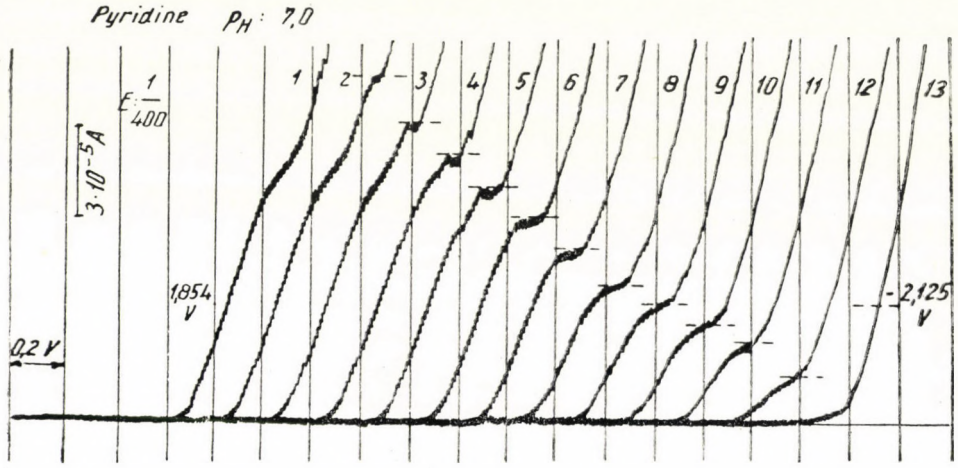


Abb. 1. Abhängigkeit der katalytischen Stufe des Pyridins von dessen Konzentration bei pH 7; c = 0,19—3,3 · 10^{-4}m. Nach [1]

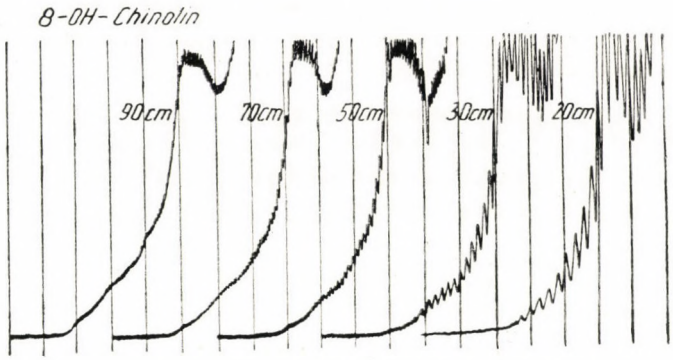
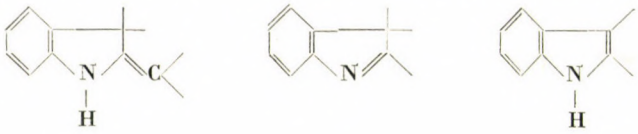


Abb. 2. Abhängigkeit der katalytischen Stufe des 8-OH-Chinolins von der Behälterhöhe; c = 5 · 10^{-4}m, pH = 6,2; s = 1 : 50; ab —0,6 V

selbst, oder auch oft eine äussere Gruppierung, ein Substituent, betroffen werden. Ob die äusseren Gruppen einer Reduktion unterliegen werden, zeigen die allgemeinen Regeln der organischen Polarographie; schwieriger ist es jedoch, das Verhalten des heterocyclischen Ringes vorauszusagen.

Unter den fünfgliedrigen aromatischen heterocyclischen Ringen sind die nicht substituierten Grundverbindungen wie Pyrrol, Indol oder Carbazol weder

reduzierbar noch oxydierbar. Erst durch Einführung von aktiven Substituenten entsteht die Möglichkeit die Reduktionsstufen verschiedener Derivate zu erhalten. In dieser Weise verhalten sich die Pyrrolaldehyde [2], sowie auch die Ketone [2], bei denen jedoch die Konjugation der Carbonylgruppe mit dem aromatischen System des Ringes notwendig ist; diese Tatsache wird auch durch die Nichtreduzierbarkeit von N-Acetylpyrrol [2] und N-Acetylcarbazol [3] bestätigt. Das Verhalten der Aldehyde kann mit dem des Benzaldehyds verglichen werden, die Acetone entsprechen den betreffenden Acetophenonen und Benzophenonen. Bei den Methylendihydroindolen **(I)** ist die Doppelbindung über das Stickstoffatom mit dem Benzolring konjugiert, was sich in einem relativ positiven Halbstufenpotential (−1,3 V) äussert. Bei einem negativeren Potential verläuft die Reduktion von Indoleninen **(II)** (−1,70 V), wahrscheinlich in diesem Falle an der Doppelbindung =C=N− ; die Indole **(III)** sind, wie schon erwähnt, inaktiv. Diese Unterscheidungsmöglichkeit zwischen drei verschiedenen Strukturtypen hat sich bei der Erforschung der Indolalkaloide [4], z. B. aus der Gattung *Strychnos* und bei Curarealkaloiden bewährt.



I **II** **III**

Eine Sondergruppe bilden die Indolderivate mit Carbonylgruppen [5, 6, 7], Isatin, Dioxindol oder Indigocarmin, die dank ihrem konjugierten System von Doppelbindungen bei verhältnismässig positiven Potentialen reduziert werden können.

Die Pyrrol- [8, 9] und Indolsulfonsäuren [10] geben anodische Stufen durch Reaktion mit Quecksilber. Es wurde der Einfluss der Stellung, die die SO_3H-Gruppe im Molekül einnimmt, auf die Halbstufenpotentiale studiert. Ausserdem wurde festgestellt, dass die Substitution durch eine Methyl- oder Phenylgruppe, wahrscheinlich dank dem + I-Effekt der Substituenten, die Bildung der anodischen Stufen bei negativeren Potentialen verursacht.

Ähnlich wie beim Pyrrol und Indol wurde auch beim nichtsubstituierten Pyridin erkannt, dass die in gepufferten [1] oder in ungepufferten [11] Grundlösungen beobachteten kathodischen Wellen bloss der bereits beschriebenen katalysierten Wasserstoffabscheidung angehören und dass dabei keineswegs der heterocyclische Ring unter Aufnahme von Elektronen betroffen wird. Dieses Verhalten entspricht auch dem aromatischen Charakter des Pyridins. Im Falle von Pyridinabkömmlingen, die polare Substituenten enthalten, wie z. B. eine Carboxylgruppe [12, 13, 14], ist die polarographische Reduktion möglich. Die durch das Stickstoffatom in dem Molekel hervorgerufene Polarisation verursacht bei den Pyridincarbonsäuren, dass ihre Halbstufenpotentiale

in der Reihenfolge Isonicotin-, Picolin- und Nicotinsäure zu negativeren Werten verschoben werden, was leicht verständlich ist, wenn man bedenkt, dass sich die induktiven und elektromeren Einflüsse [12] in der Stellung 4 am stärkstem geltend machen. Alle drei Säuren werden in zweielektronigen Stufen reduziert ; bei der Nicotinsäure soll von der Elektrodenreaktion der heterocyclische Kern betroffen werden, bei den anderen zwei dagegen die Carboxylgruppe [12], wobei Stoffe vom Ketentyp gebildet werden. Diese Ansichten entsprechen am besten auch den präparativen Ergebnissen [12]. Die im sauren Medium der Aufnahme von zwei Elektronen entsprechende Stufe der Picolin- oder Isonicotinsäure sinkt mit steigenden pH-Werten in der Form einer Dissoziationskurve [15—17] ; in Gegenwart von Calciumionen folgt der sinkenden Welle

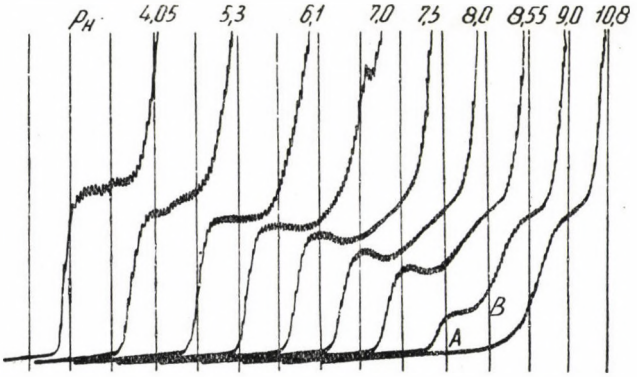


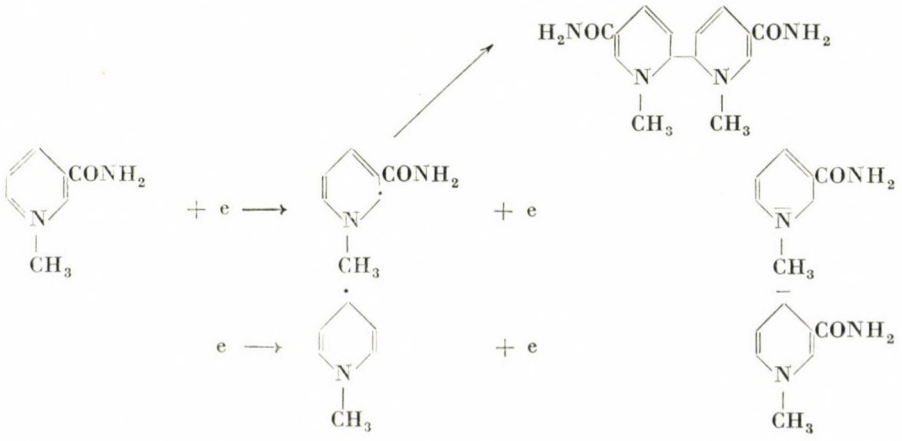
Abb. 3. pH-Abhängigkeit der Stufe der Isonicotinsäure ; Veronal-Acetat-Puffer, 0,05m Ca^{2+}, $3{,}3 \cdot 10^{-4}$m INS., ges. K. E., ab —0,6 V, s = 1 : 15

eine andere, negativere, wobei die Summe der beiden gleich hoch bleibt [17]. Es handelt sich um eine Elektrodenreaktion von zwei Formen dieser Verbindungen, zwischen denen ein Dissoziationsgleichgewicht herrscht. Aus den polarographischen Messungen kann die scheinbare Dissoziationskonstante K' bestimmt werden, mit deren Hilfe die Rekombinationsgeschwindigkeitskonstante berechnet wird. Die zwei Formen, die reduziert werden, sind wahrscheinlich das Zwitterion oder die nicht dissoziierte Säure [15—17] in der ersten und das Anion der Säure in der zweiten Stufe [17]. Dass die ebenso zweielektronige Reduktion der Nicotinsäure nach einem anderen Mechanismus verläuft, ist schon aus den negativeren Halbstufenpotentialen und der Form ihrer Wellen ersichtlich. Unter den Dicarbonsäuren ähnelt das polarographische Verhalten der Dinicotinsäure [18] dem der Nicotinsäure, die Chinolin- [19] und die Cinchomeronsäure [19] unterscheiden sich von der Isonicotinsäure nur durch die Möglichkeit einer weiteren Dissoziation.

Was die analytische Ausnutzung des polarographischen Verhaltens der Pyridincarbonsäuren und ihrer Ester [104] betrifft, können sie alle in sauren

Lösungen analysiert werden ; die Bestimmung der drei Monocarbonsäuren in Gemischen erfolgt leicht mit Hilfe der oszillographischen Polarographie [18] ; mit einem verhältnismässig grossen Fehler bestimmt man polarographisch bei pH 8 die Isonicotin- und Nicotinsäure nebeneinander [20]. Die Reduktion des heterocyclischen Ringes wurde auch bei dem Nicotinamid [21] festgestellt, das wahrscheinlich durch Aufnahme von zwei Elektronen in sein Dihydroderivat [22] übergeht. Die in alkalischen Lösungen beobachteten Stufen finden vielfach Anwendung in der Analyse [1, 21]. Aus der Abnahme der Stufenhöhe der Amide in alkalischer Lösung kann die Hydrolyse [23, 24] auf die freie Säure kinetisch verfolgt werden. Oszillographisch können Nicotinamid und die freie Säure nebeneinander [18] in einer HCl-Lösung bestimmt werden. Die Reduktion des Isonicotin- [15] und teilweise auch des Picolinamides [15] kann einigermassen mit der der freien Säuren verglichen werden.

Zu den am heterocyclischen Ring reduzierbaren Verbindungen gehören die Pyridinabkömmlinge mit quartärem Stickstoffatom, wie Methylpyridiniumhydroxyd [25], auch subst. Propylpyridiniumsalze [26], Trigonellin [25], Nicotinamidhalogenmethylate [25, 27] und die Codehydrase [25] sowie ihre Modellverbindungen [25] nach KARRER. Dass die Halbstufenpotentiale dieser Stoffe positiver, als die der anderen ähnlichen aromatischen Verbindungen sind, wird durch die elektromeren Effekte des asymmetrischen Pyridinkerns verursacht. Die Werte der Halbstufenpotentiale dieser Verbindungen sind pH-unabhängig, was davon zeugt, dass die Reduktion ohne Protonenaufnahme verläuft. Mit Ausnahme des N-Methylpyridiniumhydroxyds werden solche Pyridinabkömmlinge unter Aufnahme eines Elektrons zu Monohydroradikalen reduziert ; diese können dann entweder in einer weiteren Stufe zu einer Dihydroverbindung reduziert werden oder dimerisieren :



Der Mechanismus konnte auf präparativem Wege bestätigt werden, wobei festgestellt wurde, dass beim Nicotinamidchlormethylat ungefähr 66% der

Verbindung zu Dihydroderivat [27] reduziert werden und 27% dimerisieren [27]. Die Bedingung für diesen Reaktionsverlauf ist die Anwesenheit des quartären Stickstoffatoms und der Carboxylgruppe in der Stellung 3. Die Tatsache, dass einerseits das Nicotinsäureamid [25] und anderseits auch Isonicotinamidbrommethylat [25], bei welchen immer nur eine der zwei Bedingungen erfüllt ist, unter Aufnahme von Protonen reduziert werden, was sich in einer Verschiebung ihrer Halbstufenpotentiale in der Änderung des pH-Wertes der Grundlösung äussert, kann als Beweis dafür betrachtet werden.

Die Reduktion von Pyridoxin [28] und Pyridoxamin [28] scheint nicht endgültig bewiesen zu sein.

Eine der Doppelbindungen in dem nicht hydrierten Kerne des Alkaloids Anabasin [29] (3-Piperidyl-Pyridin) unterliegt polarographischer Reduktion. Bei den mit ihm eng verwandten Dipyridylen [29, 30] gilt dieselbe Reihenfolge der Leichtigkeit, mit der diese Verbindungen an der Tropfelektrode Elektronen aufnehmen, wie bei der Pyridinmonocarbonsäuren, d. h. am leichtesten das in den Stellung 4,4′ substituierte Dipyridyl, schwerer das 2,2′ und schliesslich das 3,3′-Dipyridyl. Die Reduktion des Nicotins [18] ist so schwierig, dass ausser einer kaum merkbaren sehr negativen Stufe, die für analytische Zwecke praktisch schwer benützt werden kann, nur ein oszillopolarographischer [18] Beweis geführt werden konnte ; auch die Reduktion des Sulfapyridins [31] konnte oszillographisch beobachtet werden.

In allen vorhergenannten Fällen von Pyridinderivaten, vielleicht nur mit Ausnahme der Isonicotin- und Picolinsäure, werden die Doppelbindungen 1,2 (zwischen dem Stickstoff und Kohlenstoffatom) oder 3,4 (zwischen zwei Kohlenstoffatomen) während der Elektrodenreaktion angegriffen. Wie in der Pyrrol- und Indolreihe, gibt es aber auch hier äussere Substituenten, die an sich selbst als polarographisch aktiv bekannt sind.

Eine Carbonylgruppe mit einem aromatischen System konjugiert ist in dem Piperidinalkaloid Lobelin [32] vertreten, was seine einfache Bestimmung bei geschickter Wahl der Grundlösung (pH 6,8) auch neben seinem Zerfallsprodukt Acetophenon ermöglicht. Beim Piperin [33] ist es dagegen die mit einer Carboxylgruppe konjugierte Doppelbindung, die seine polarographische Bestimmung gestattet. Das tuberculostatische Hydrazid der Isonicotinsäure [34, 18] besitzt die Gruppe $-CO \cdot NH \cdot NH_2$, die in sauren, neutralen und alkalischen Lösungen unter Empfang von 4 Elektronen in 2 Schritten zu $RCH_2NH \cdot NH_2$ oder vielleicht zu RCH_2OH und $H_2N \cdot NH_2$ reduziert und in stark alkalischen Lösungen ähnlich wie das nicht substituierte Hydrazin in einer anodischen Welle oxydiert wird. In Lösungen von pH 2—9 wird dieser Stoff leicht polarographisch bestimmt, und mittels der oszillographischen Methode können darin auch Spuren [18] der inaktiven freien Säure nachgewiesen werden.

Zum Unterschied von den zwei zuerst beschriebenen Gruppen von Verbin-

dungen — Pyrrol- und Pyridinderivaten — sind nicht nur alle Derivate des Chinolins, sondern auch die Grundverbindung selbst, direkt am heterocyclischen Ring reduzierbar. Nach Durchführung von coulometrischen [35] und polarographischen [36] Versuchen kann man es für erwiesen halten, dass durch eine zweielektronige Elektrodenreaktion ein 1,4- oder 1,2-Dihydroderivat entsteht. Das analytisch wichtige 8-OH-Chinolin [37] gibt in sauren Lösungen eine wahrscheinlich 2-elektronige Stufe, die bei mittleren pH-Werten ungefähr auf die Hälfte herabgesetzt wird. Bei sehr hohen pH-Werten (>13) [38] sinkt auch diese in der Form einer Dissoziationskurve ; dieser Vorgang ist wahrscheinlich mit der Bildung einer neuen Form dieses Stoffes verbunden, deren Konzentration vom pH-Wert der Grundlösung abhängt. Ein ziemlich ähnliches

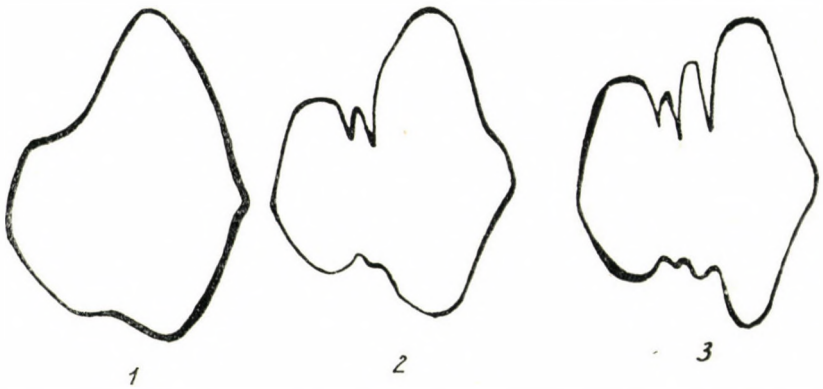


Abb. 4. Oszillopolarographische Unterscheidung zwischen Isonicotinylhydrazid und der freien Säure (dV/dt — V-Kurven) von links nach rechts : 1) 2n H_2SO_4, 2) $2 \cdot 10^{-4}$m Isonicotinylhydrazid, 3) Isonicotinylhydrazid + Isonicotinsäure, beide 2.10^{-4}m

Verhalten weisen auch die substituierten Derivate auf, vor allem die pharmazeutisch wichtigen Desinfektionsmittel [38], die durch Chlorierung des 8-OH-Chinolins dargestellt werden. 8-OH-Chinolin selbst wird auch in Impfstoffen und Seren direkt bestimmt. Durch Substitution mit Methylgruppen [40] wird das Halbstufenpotential zu negativeren, mit Sulfonsäuren zu positiveren Werten geschoben. Der Reduktionsmechanismus wurde nicht vollständig aufgeklärt, es werden zweifellos Dihydroverbindungen gebildet, es ist jedoch nicht bekannt, ob dieser Reaktion noch eine Dimerisierung folgt. Für analytische Zwecke werden mit Vorteil alkalische Grundlösungen verwendet, obwohl bei kleinen Konzentrationen die polarometrische Titration von einigen 8-OH-Chinolinderivaten mit Kaliumbromat [42] empfohlen wird.

Am Kerne verlaufen die Reduktionen der Chinolincarbonsäuren [37, 43—46] ; es handelt sich hier auch um eine Aufnahme von 2 Elektronen ; in dem Verlauf dieses Vorganges gibt es bestimmte Ähnlichkeiten zwischen der

Chinolin-2- und 4-Carbonsäure und 8-OH-Chinolin einerseits und der Chinolin-8-Carbonsäure, Chinaldin und Chinolin anderseits [43]. Wie im Falle der Pyridincarbonsäuren, werden die 2- und 4-Derivate am leichtesten [43] reduziert.

Das Anästheticum Percain [47], α- Diäthylaminoäthylamid der 2-Butoxycinchoninsäure, gibt gut messbare Stufen in Grundlösungen von pH um 6, und es ist sogar möglich, seine Hydrolyse auf die unwirksame 2-OH-Cinchoninsäure [48] zu verfolgen. Eine Bestimmungsmethode wurde für die 2-Phenyl-Chinolin-4-Carbonsäure [49] (Atophan) ausgearbeitet.

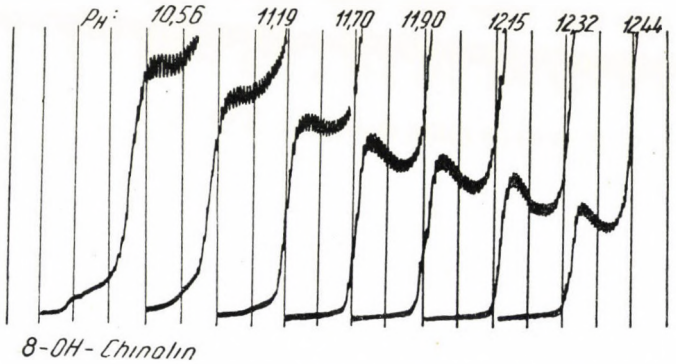
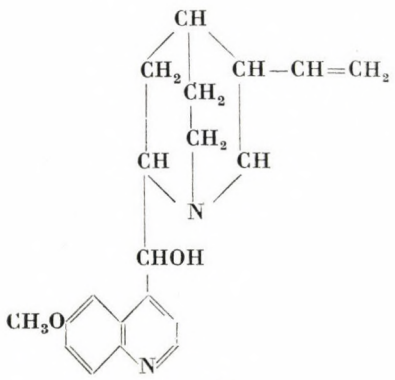
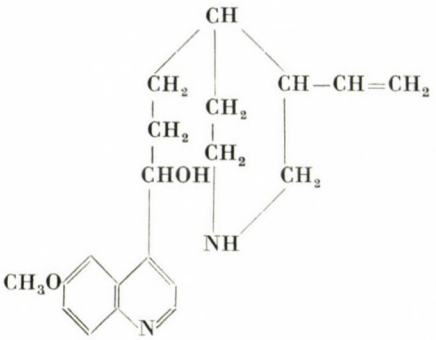


Abb. 5. Die Abhängigkeit der Stufe von 8-OH-Chinolin vom pH Wert; $c = 5 \cdot 10^{-4}$ m, ab —0,6 V, ges. K. E., s = 1 : 10

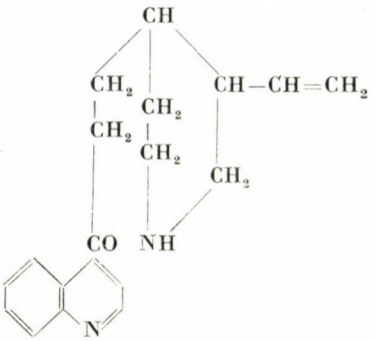
Die Frage, welche Gruppe in der Molekel der Chininbasen wie Chinin an der Quecksilbertropfelektrode reduziert wird, ob es nämlich der Chinuclidin- oder der Chinolinring ist, löste man durch Vergleich [50] der polarographischen Kurven von Chinin (I)— (beide Ringe geschlossen) — mit Chinotoxol (II) — (geöffneter Chinuclidinring)—, die sich sehr ähnlich verhalten, woraus man schliessen konnte, dass der den beiden Stoffen gemeinsame Chinolinring von der zweielektronigen Reduktion betroffen wird.



I



II



III

Die ketonischen Chinotoxine (III), die schon bei positiven Halbstufenpotentialen reduziert werden, lassen sich in sauren Lösungen neben Chininbasen [51] bestimmen; die Chininbasen erfordern für ihre Bestimmung LiOH-Lösungen [51].

Für die meisten Chinolinderivate ist die schwere Löslichkeit im Wasser typisch, durch welche die oft erscheinenden Adsorptionswellen an den polarographischen Kurven verursacht werden und die es auch in manchen Fällen notwendig macht, für analytische Zwecke äthanolische Grundlösungen anzuwenden.

Die Adsorptionseigenschaften sind noch stärker bei den Acridinen ausgeprägt, wo die an den Stufen erscheinenden Anomalien ursprünglich als Folgen der Dimerisierung [52, 53] erklärt, und erst später mit Hilfe von BRDIČKA's Kriterien und aus i—t-Kurven als Adsorptionsstufen [54] erkannt wurden. Präparativ wie bei den Chinolinen hat man nachgewiesen [52], dass der heterocyclische Ring in den Endprodukten reduziert ist und dass diese über ein Radikal [54] in zwei einelektronigen Schritten entstanden sind. Die Adsorption von Dimeren [54] ist nicht ausgeschlossen, da durch diese die ausserordentlich hohen Werte der von adsorbierten Molekeln bedeckten Elektrodenoberfläche erklärt werden könnten, die sich hier aus den Berechnungen für Adsorptionsströme nach BRDIČKA ergeben. Bei den Aminoacridinen soll bei dem Empfang des ersten Elektrons eine lineare Abhängigkeit [55] zwischen dem Halbstufenpotential und der Änderung der Reaktionswärme für die in verschiedenen Stellungen substituierten Acridine gelten: E = konst. Q_a. Die Experimente stimmen mit dieser Voraussetzung überein. Aus dem Vergleich des polarographischen Verhaltens der Aminoacrodine mit ihrer bakteriostatischen Aktivität geht hervor, dass es Zusammenhänge [57] zwischen diesen zwei Grössen gibt, und dass die unwirksamen unter ihnen bei pH 7 keiner Wasserstoffionen für den ersten Reduktionsschritt bedürfen. Es wurde jedoch keine klare Beziehung zwischen den Halbstufenpotentialen und der Wirkung gegen Malaria gefunden [103], bloss eine gewisse Parallelität zwischen der bakteriostatischen

Aktivität und dem Halbstufenpotential bei einigen Derivaten des 5-Aminoacridins. Die verschiedenen pharmazeutischen Präparate, wie Atebrin, Rivanol oder Trypaflavin werden für analytische Zwecke entweder mit einer Kaliumbichromatlösung polarometrisch titriert, oder im Acetatpuffer von pH 4,7 [58] polarographiert. Die Unterscheidung zwischen diesen Verbindungen erfolgt oszillopolarographisch [31]. In alkalischen Lösungen wurde die Kinetik der Oxydation von Lucigenin (Dimethyldiacridinnitrat) durch Wasserstoffperoxyd gemessen [59].

Den für die Erforschung der Reduktion von Isochinolin [35] durchgeführten coulometrischen Versuchen fehlt es an Beweiskraft, da die aus diesen berechneten Diffusionskoeffizienten für Isochinolin zehnmal höher sind als zu erwarten ist. Zu den Substitutionsderivaten des Isochinolins dagegen, bei denen es sich allerdings meistens um die Reduktion äusserer Gruppen handelt, gehören die ausserordentlich wichtigen Stoffe aus der Reihe der Alkaloide, wie Cotarnin [60], Hydrastinin [60] und Berberin [60]. In diesem Falle hat die Polarographie durch die Feststellung, dass in sauren Lösungen das Ammoniumsalz [61], im alkalischen Medium dann die Ammoniumbase und die offene Aldehydform vorliegen, ein wichtiges Problem der Tautomerie gelöst. Ähnliche Fragen wurden auch beim Sanguinarin [62] und Chelerythrin [62] auf Grund polarographischer Messungen beantwortet. Für die polarographische Bestimmung dieser Verbindungen sind Pufferlösungen von pH 3—4 [60] geeignet, wo die Alkaloide in einer 2-elektronigen Stufe reduziert werden. Saure Lösungen werden auch zur Bestimmung von Narcein [63], einer Verbindung ketonischen Charakters mit konjugierter Doppelbindung verwendet. In äthanolischen Lösungen sollen Reduktionsstufen von Papaverin [64] beobachtet werden.

Den Isochinolinalkaloiden im weiteren Sinne des Wortes können auch die Phenanthrenisochinolinalkaloide zugeordnet werden. Wie beim Pyridin, so auch beim Morphin und Codein wurde erst nach längerer Zeit endgültig bewiesen, dass die oft beobachteten kathodischen Stufen ihren Ursprung bloss in der katalysierten Wasserstoffabscheidung haben. Diese Feststellung gab Anlass zur Ausarbeitung zahlreicher indirekter Verfahren zur polarographischen Bestimmung von Morphin, vor allem nach Überführung in ein Nitroso-Derivat [65]. Die bis jetzt einzigen polarographisch aktiven Morphinderivate sind die durch Oxydation künstlich dargestellten Ketone. Von den Morphinderivaten weisen diejenigen mit nicht erhaltener Sauerstoffbrücke, deren OH-Gruppe zum Carbonyl mit konjugierter Doppelbindung oxydiert wurde (I), das Verhalten aromatischer Aldehyde auf (Thebainon [66], Hydroxythebainon [66], u. a.). Ähnliche Verbindungen, bei denen die Sauerstoffbrücke nicht geöffnet ist (II), werden schrittweise in zwei Stufen reduziert; die eine entspricht der Reduktion der Sauerstoffbrücke und die andere der Reduktion der Ketogruppe (Codeinon [66, 67], Dihydroxycodeinon [66], Sinomerin [68], u. a.). Die Alkaloide mit einer Sauerstoffbrücke und mit einer Ketogruppe, jedoch ohne konjugierte Doppel-

bindung (Dihydromorphin [66, 69], Dihydrocodeinon [66, 67] und Dihydrooxycodeinon [66, 67]) werden je nach dem pH-Wert in einer oder zwei Stufen

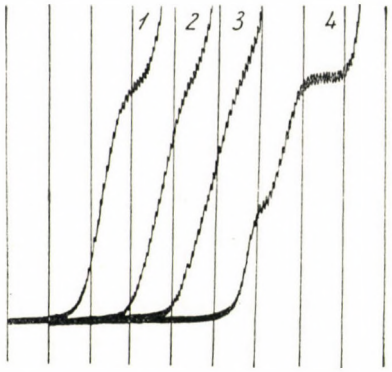
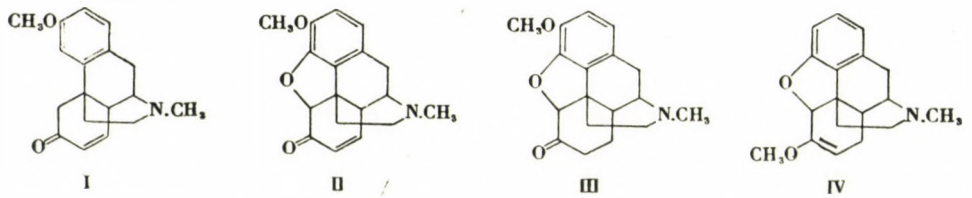


Abb. 6. Gleichzeitige Bestimmung von Dihydrocodeinon und Dihydromorphinon; $c = 5 \cdot 10^{-4}$ m; pH: 1) 8,4; 2) 9,7; 3) 10,1; 4) 11,2; ab —1,0 V, ges. K. E., s = 1 : 20

reduziert. Es konnte bisher noch nicht entschieden werden, welche von den zwei in Frage kommenden Gruppen in diesem Falle reduziert wird.



Im Acetyldimethyldihydrothebain [67] [Acedicon (IV)] ist die Ketogruppe blockiert und dadurch die Reduktion unmöglich gemacht. Nach alkalischer Hydrolyse verhält sich dieser Stoff wie Dihydrocodeinon.

Alle übrigen Morphinderivate geben bloss katalytische Stufen, auch die Allylgruppe im N-Allyl-nor-Morphin [70] unterliegt nicht der polarographischen Reduktion, wie ursprünglich vorausgesetzt wurde [71].

Es ist bis heute noch keine systematische polarographische Untersuchung der ganzen Reihe der Heterocyclen mit mehreren Stickstoffatomen im Molekül unternommen worden; die grösste Aufmerksamkeit wurde den verschiedenen biologisch und medizinisch wichtigen Harnstoffderivaten, vor allem den Pyrimidinen gewidmet. Bei den Pyrimidinen [73] werden zweifellos die Doppelbindungen des Systems reduziert, wozu zwei Elektronen und eine veränderliche Protonenzahl pro Molekül je nach dem pH-Wert der Lösung verbraucht werden. Diese Reduktion könnte als eine 1,4- oder 1,2-Addition verlaufen. Im letzteren Falle würde dann die Doppelbindung 1,6 angegriffen werden. Dies geht auch

aus der Tatsache hervor, dass Isocytosin (I) mit einer einfachen Bindung zwischen Stickstoff 1 und Kohlenstoff 6 keine Stufen gibt, während sein O-Methylderi-

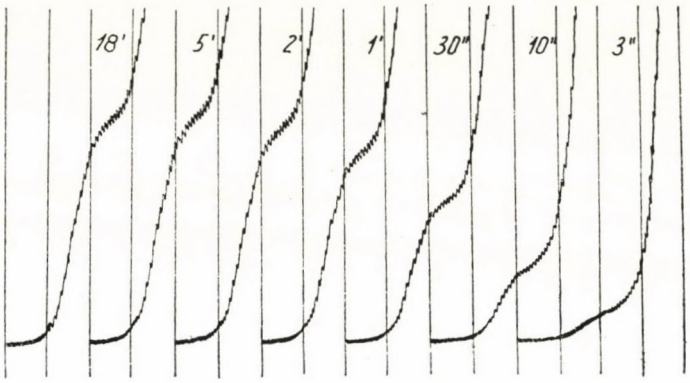


Abb. 7. Alkalische Hydrolyse von Acetyldemethyldihydrothebain in 0,06 n NaOH; zum Polarographieren mit Essigsäure auf pH 5 angesäuert

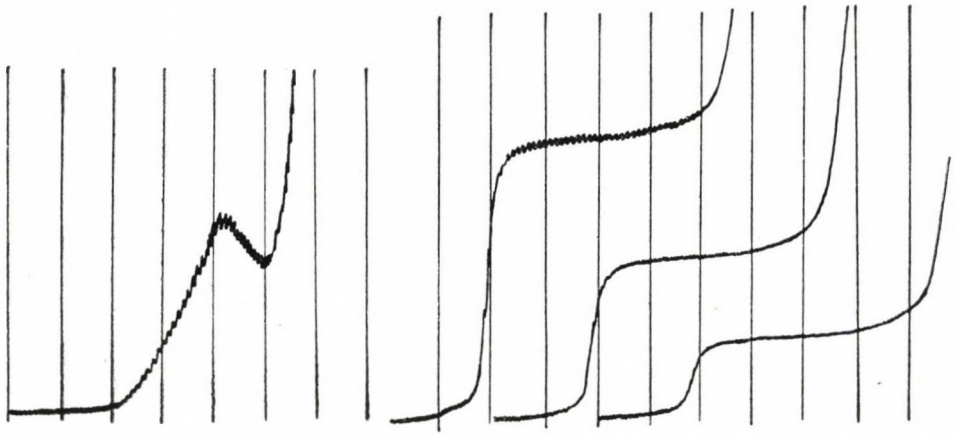
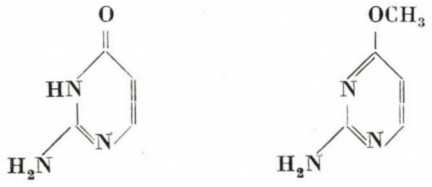


Abb. 8

a) Katalytische Stufe von N-Allyl-nor-Morphin $c = 10^{-3}$m; ab —1,0 V, ges. K. E., s = 1 : 70

b) Nitrosiertes N-Allyl-nor-Morphin, $c = 4 \cdot 10^{-4}$ m, $2 \cdot 10^{-4}$m, $1 \cdot 10^{-4}$m; ab —0,4 V, ges. K. E., s = 1 : 30

vat (II), wo die Doppelbindung durch Methylierung erneuert ist, der Reduktion an der Hg-Tropfelektrode unterliegt.



I II

Die Halbstufenpotentiale der Pyrimidine mit $-NH_2$, -OH, $-OCH_3$-Substituenten werden dank dem + I-Effekt dieser Substituenten zu negativeren Werten verschoben. Die Derivate des Uracils [74], — auch die mit reduzierter 1,6-Bindung — geben dagegen anodische Stufen, die durch Reaktion der -NH · CO · NH- oder in einigen Fällen der -NH-CS-NH-Gruppierung in ihrem Molekel mit

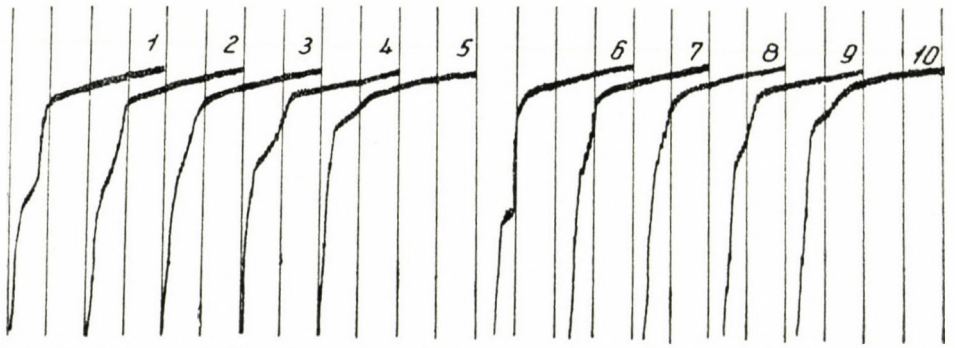


Abb. 9. Stufen von substituierten Uracilen bei pH 9,3 : 1,6 : Uracil ; 2,7 ; Thymin ; 3,8 ; 4-Methyluracil ; 4,9 ; Uracil-4-Carbonsäure ; 5,10 : 1-Methyluracil-4-Carbonsäure ; 1—5 c = $= 8 \cdot 10^{-5}$m ; 6—10 c = $5 \cdot 10^{-4}$m ; anod. kath. registriert, M. S. E. ; = 1 : 7 ; nach [74]

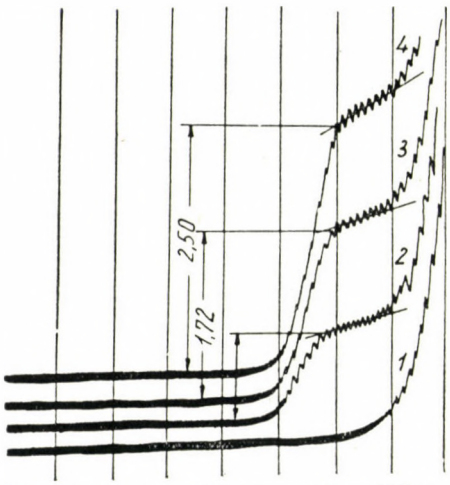


Abb. 10. Konzentrationsabhängigkeit von Adenin 0,1n $HClO_4$; c = 0 ; $0{,}5 \cdot 10^{-4}$m ; $1{,}0 \cdot 10^{-4}$m ; $1{,}5 \cdot 10^{-4}$m ; nach [78]

Hg-Ionen unter Bildung von schwerlöslichen Chelatkomplexen entstehen. Wie die erstgenannten Stufen der reduzierbaren Pyrimidine, so können auch die anodische Wellen der Uracilabkömmlinge in der Analyse verwendet werden. Bei dem Studium der anodischen Stufen der Barbiturate [75, 76] und Thiobarbiturate [77] konnten gewisse Ähnlichkeiten mit dem polarographischen Verhalten der Uracile und der Thiouracile [77] gefunden werden. Keine Stufen wurden bei den N-substituierten Barbitursäurederivaten festgestellt.

Unter den vom Pyrimidin durch Erweiterung des Ringes abgeleiteten Purinderivaten wurden auch einige Verbindungen, wie z. B. Adenin [78] oder Adenosin [78] entdeckt, bei denen eine ähnliche Reduktion am Kern verläuft wie in der Pyrimidinreihe, wahrscheinlich wieder an der Doppelbindung 1,6. Die praktische Bedeutung dieses Verhaltens wurde durch Ausarbeitung einer Bestimmungsmethode von Adeninverbindungen im Blut [79] gezeigt.

Der Pyrimidinring des Vitamins B_1, Aneurins [80] kann polarographisch nicht reduziert werden, die polarographische Aktivität entsteht erst durch Öffnen des Thiazolringes, wodurch eine -SH-Gruppe freigemacht wird. Die Folsäure [103] und die verwandten Pterine haben ein kondensiertes Pyrimidin-Pyrazin Skelett, das wahrscheinlich von der Reduktion im Pyrazinring betroffen wird. Es besteht die Möglichkeit, diese Verbindungen auch nebeneinander zu bestimmen. Die Nichtreduzierbarkeit von Leukovorin [89] mit hydriertem Pyrazinring (verwandt mit der Tetrahydrofolsäure) bestätigt auch, dass die polarographische Reduktion am Pyrazinring verläuft.

Die polarographische Reduktion wurde ausserdem auch bei einfacheren Harnstoffderivaten, wie die Parabansäure [82], Kyanursäure [83], Kyamelid [83] und Rubeanwasserstoff [83] festgestellt.

Von den Pyrazinderivaten wurden die antibiotisch wirkende Aspergillussäure [84] und Phenazin [85] polarographisch untersucht. Auch unter den Phthalazinderivaten gibt es polarographisch reduzierbare Verbindungen, vor allem 1-Hydrazinophthalazin (86) und 1,4-Dihydrazinophthalazin [86], die beide nach Aufnahme von 4 Elektronen ein Tetrahydropyridazinderivat ergeben. Diese zwei Verbindungen werden mit Hilfe oszillographischer Polarographie voneinander unterschieden. Während der Registrierung der polarographischen Kurve von 5-Aminophthalhydrazid [87] in Gegenwart von Sauerstoff in alkalischer Lösung können die Veränderungen der Chemilumineszenz durch Reaktion mit H_2O_2 verfolgt werden.

In der letzten Zeit spielen die N-Oxyde eine wichtige Rolle in der präparativen Chemie der Heterocyclen. Die NO-Gruppe dieser Verbindungen spaltet bei ziemlich positiven Halbstufenpotentialen das Sauerstoffatom ab. Da jedoch nur das Kation dieser Stoffe in die Elektrodenreaktion eintritt, sind die Höhen der Reduktionswellen pH-abhängig und ähnlich wie bei den Pyridincarbonsäuren sinken sie mit steigenden pH-Werten in der Form einer Dissoziationskurve [89]. Wenn die Grundverbindung, der das N-Oxyd entspricht, selbst nicht reduziert wird, wie es beim Pyridin [88, 91] oder Codein der Fall ist, wird die erste Stufe von keiner anderen gefolgt, bei dem N-Oxyd der Picolin- oder Isonicotinsäure [90] erscheint jedoch noch die dem Rest des Molekels ohne die N-Oxyd-Gruppe zugehörige Welle.

Bei den meisten der im vorhergehenden Text beschriebenen heterocyclischen Verbindungen waren die Elektrodenreaktionen irreversibel, das heisst, dass der Elektrodenvorgang nur in einer bestimmten Richtung ver-

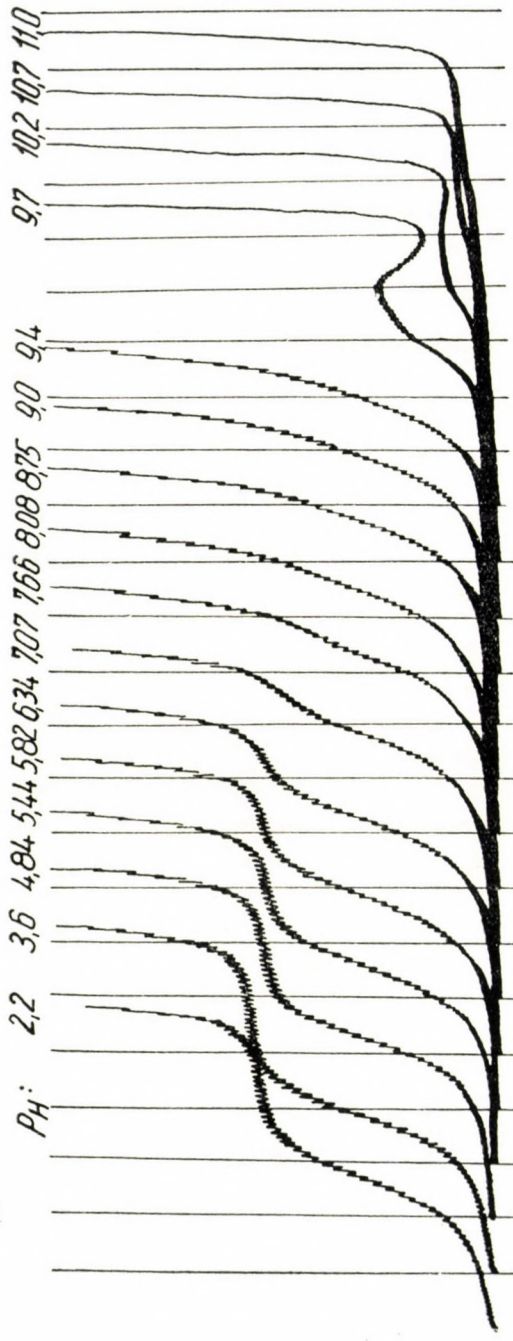
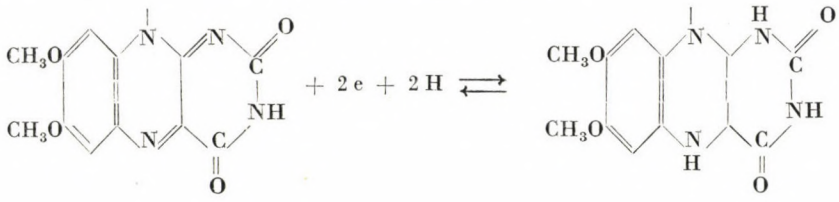


Abb. 11. pH-Abhängigkeit der Stufe von Codein-N-Oxyd; $c = 5 \cdot 10^{-4}$m; ab —0,2 V, ges. K. E.; s = 1 : 15

laufen konnte, bei dem der Depolarisator entweder nur oxydiert, in den meisten Fällen jedoch nur reduziert werden konnte. Eine verhältnismässig kleine, durch ihre Bedeutung als physiologisch wichtige Katalysatoren und auch als Redoxindikatoren trotzdem aber ausserordentlich wichtige Gruppe von Verbindungen bilden die N-haltigen reversiblen Redoxsysteme. Die polarographische Reversibilität unterscheidet sich von der thermodynamischen dadurch, dass nicht nur die Reduktion und die Oxydation umkehrbar sind und in beiden Richtungen verlaufen, sondern auch durch eine vollkommene Mobilität. Wenn diese zwei Bedingungen erfüllt sind, dann sind die Halbstufenpotentiale der anodischen sowie der kathodischen Stufe des Redoxsystems identisch und bei Gegenwart von beiden Formen des Redoxsystems in der Lösung erscheint eine einzige Redoxstufe, deren Form auch mit der potentiometrischen Titrationskurve identisch ist. Dieses Verhalten weisen unter den Stickstoffheterocyclen mit keinem anderen Heteroatom einige Diazine und Isoalloxazine auf. Bei allen diesen Verbindungen handelt es sich um Verbindungen chinoiden Charakters. Bei der Isoalloxazinverbindung Lactoflavin [92] beruht der Elektrodenvorgang in der Hydrierung des Isoalloxazinringes durch zwei H-Atome.



In Übereinstimmung mit MICHAELIS wurde bei dieser Reaktion die Bildung eines Zwischenproduktes (Semichinon) bestätigt und der Wert der Bildungskonstante ermittelt. Durch Reduktion mit einer Aluminiumspirale oder mit Natriumdithionit konnte die Leucoform des Lactoflavins dargestellt werden, die bei demselben Potential oxydiert wird, bei dem die Reduktion des Lactoflavins stattfindet. Die polarographische Welle des Lactoflavins wird durch eine positivere Stufe deformiert, deren Höhe nach dem Erreichen einer bestimmten Grenzkonzentration von der Konzentration des Depolarisators nicht mehr abhängt. Die Anomalie wurde durch Adsorption der reduzierten Form des Lactoflavins erklärt. Polarographisch konnte die Zersetzung [94] von Lactoflavin verfolgt und einige der Zerfallsprodukte identifiziert werden. Für analytische Zwecke werden Lösungen mit einem pH-Wert um 7 empfohlen [56]. Bei anderen Verbindungen, vor allem bei Pyocyanin [95, 96] wurden noch kompliziertere Vorgänge beobachtet, die dadurch erklärt werden, dass die Adsorption der reduzierten Form mehrfach ist und ihre erste Stufe mit der Stufe der Reduktion der oxydierten Form auf Semichinon zusammenfällt. Zu ähnlichen Systemen gehören weiter noch Phenazine [97], 1-Oxyphenazin [97], Rosindu-

lin G [97], sowie auch viele Verbindungen, die noch andere Heteroatome neben Stickstoff enthalten. Für die Geschwindigkeit, mit der die Stoffe dieser Reihe mit Phenylhydrazin reagieren [98], und ihr Halbstufenpotenzial gilt die modifizierte DIMROTHsche Gleichung $\Delta \log k = B \Delta E_{1/2}$ wo $\Delta \log k$ den Unterschied der Logarithmen der beiden Geschwindigkeitskonstanten, $\Delta E_{1/2}$ den Unterschied der Halbstufenpotentiale und B eine Konstante bedeutet.

Die Reversibilität [99] der Reduktion [100, 101] des wichtigen neuen biologischen Redoxindikators Triphenyltetrazoliumchlorid wurde aus dem Erscheinen einer einheitlichen Redoxstufe, wenn die Lösung gleichzeitig Triphenyltetrazoliumchlorid und sein Reduktionsprodukt Triphenylformazan enthielt, nachgewiesen.

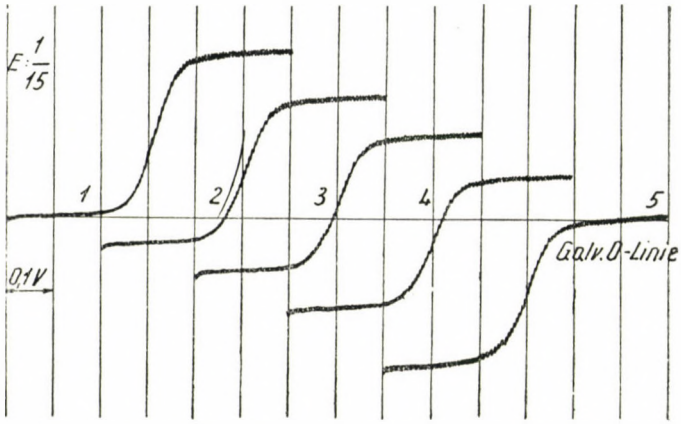


Abb. 12. Stromspannungskurven der schrittweise reduzierten $3{,}2 \cdot 10^{-4}$m Lactoflavinlösung bei pH 8 mittels $Na_2S_2O_4$; ab —0,2 V; nach; [92]

In dieser Übersicht des polarographischen Verhaltens der Heterocyclen mit Stickstoffatomen im heterocyclischen Ring wurde gezeigt, dass die Polarographie nicht nur zur Aufklärung der Reduktionsmechanismen dieser Stoffe, besonders in Verbindung mit präparativen Versuchen, und zur Entdeckung neuer analytischer Methoden auf diesem Gebiete beigetragen hatte, sondern dass beim Studium der Heterocyclen auch neue Probleme, wie z. B. Adsorptionsströme, Bildung von Dimeren usw. aufgetaucht sind, durch deren Lösung wichtige Einblicke in die polarographischen Elektrodenreaktionen erhalten wurden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Bedingungen der Reduzierbarkeit von heterocyclischen N-haltigen Verbindungen, sowie deren Beeinflussung durch äussere Substituenten diskutiert. Die sich daraus ergebenden allgemeinen Erkenntnisse wurden an Hand zahlreicher Experimentalbeispiele gezeigt. Besondere Aufmerksamkeit wurde den analytischen Anwendungen — auch bei den Alkaloiden — gewidmet, wobei die Unzuverlässigkeit der katalytischen Wasserstoffwellen für die quantitative Analyse hervorgehoben wurde.

LITERATUR

1. E. KNOBLOCH: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **12**, 407 (1947).
2. G. SCARAMELLI: Boll. sci. Fac. Chim. ind. Bologna **1940**, 49, 59; G. B. BONINO und G. SCARAMELLI: Ber. **75**, 1948 (1942).
3. L. PALASCIANO: Boll. sci. Fac. chim. ind. Bologna **1941**, 83.
4. F. ENDER, E. FAHRBACH und H. J. TEUBER: Angew. Chem. **66**, 293 (1954).
5. W. C. SUMPTER, J. L. WILLIAMS, P. H. WILKEN und B. L. WILLOUGHBY: J. Org. Chemistry **14**, 713 (1949).
6. W. C. SUMPTER, P. H. WILKEN, J. L. WILLIAMS, R. WEDEMEYER und F. L. BOYER: J. Org. Chemistry **16**, 1777 (1951).
7. H. CASSEBAUM: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **58**, 515 (1954).
8. A. P. TERENTJEW, L. A. JANOWSKAJA und E. A. TERENTJEWA: Ж. Общ. Хим. (Z. allg. Chemie) **22**, 859 (1952).
9. A. P. TERENTJEW, L. A. JANOWSKAJA und E. A. TERENTJEWA: Докл. Акад. Наук СССР. (Ber. Akad. Wiss. USSR) **70**, 649 (1950).
10. A. P. TERENTJEW und L. A. JANOWSKAJA: Ж. Общ. Хим. (Z. allg. Chemie) **22**, 866 (1952).
11. J. KŮTA und J. DRÁBEK: Chem. Listy **49**, 23 (1955).
12. F. ŠORM. Chem. Obzor **18**, 213 (1943).
13. P. C. TOMPKINS und C. L. A. SCHMIDT: J. Biol. Chemistry **143**, 643 (1942).
14. P. C. TOMPKINS und S. L. SCHMIDT: Univ. Calif. Publ. Physiol. **8**, 229 (1944).
15. H. H. G. JELLINEK und J. R. URWIN: J. Physic. Chem. **58**, 168 (1954).
16. Y. NAGATA und I. TACHI: Bull. Chem. Soc. Japan **27**, 290 (1954).
17. J. VOLKE und V. VOLKOVÁ: Chem. Listy **49**, 490 (1955).
18. J. VOLKE und V. VOLKOVÁ: Chem. Listy **48**, 1031 (1954).
19. J. VOLKE: Chem. Listy **49**, 1236 (1955).
20. W. KEMULA und J. CHODKOVSKI: Roczniki Chem. **29**, 839 (1955). Ann. Soc. Chim. Polonorum(?)
21. K. WENIG und M. KOPECKÝ: Časopis českého Lékárnictva **56**, 49 (1943).
22. P. C. TOMPKINS und C. L. SCHMIDT: Univ. Calif. Publ. Physiol. **8**, 237, 247 (1944).
23. H. H. G. JELLINEK und A. GORDON: J. Physic. Chem. **53**, 966 (1949).
24. H. H. G. JELLINEK und J. R. URWIN: J. Physic. Chem. **57**, 900 (1953).
25. F. ŠORM und Z. ŠORMOVÁ: Chem. Listy **42**, 82 (1948).
26. E. L. COLICHMAN und P. A. O'DONOVAN: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 3588 (1954).
27. S. J. LEACH, J. H. BAXENDALE und M. G. EVANS: Austral. J. Chemistry **6**, 395 (1953).
28. C. CARRUTHERS und V. SUNTZEFF: Cancer Res. **12**, 879 (1952).
29. R. H. LINNELL: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 1391 (1954).
30. P. SILVESTRONI: Ricerca sci. **24**, 1695 (1954).
31. R. KALVODA: Českoslov. Farmac. **3**, 124 (1954).
32. F. ŠANTAVÝ: Časopis českého Lékárnictva **57**, 109 (1944).
    F. ŠANTAVÝ: Časopis českého Lékárnictva **57**, 11 (1944).
33. O. HANČ und F. ŠANTAVÝ: Časopis českého Lékárnictva **59**, 40 (1946).
    F. ŠANTAVÝ und O. HANČ: Časopis českého Lékárnictva **57**, 75 (1944).
34. A. ANASTASI, E. MECARELLI und L. NOVACIC: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **40**, 113 (1952).
    P. G. W. SCOTT: J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 681 (1952).
    J. D. NEUSS, W. J. SEAGERS und W. J. MADER: J. Amer. Pharmac. Assoc. **41**, 670 (1952).
35. A. G. STROMBERG und T. M. MARKATSCHEWA: Ж. Физ. Хим. (Z. phys. Chemie) **28**, 671 (1954).
36. M. K. SCHTSCHENNIKOWA und I. A. KORSCHUNOW: Ж. Физ. Хим. (Z. phys. Chemie) **22**, 503 (1948).
37. J. T. STOCK: Proc. I. internat. polarograph. Congress, Prague, **1951**, I, 371.
38. V. VOLKOVÁ: Českoslov. Farmac. **5**, 406 (1956).
39. B. NOVOTNÝ und M. VOLDÁN: Českoslov. Farmac. **3**, 46 (1954).
40. Q. FERNANDO und J. P. PHILLIPS: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 3103 (1952).
41. J. P. PHILLIPS und Q. FERNANDO: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 4459 (1952).
42. Q. FERNANDO: Analyst **79**, 713 (1954).
43. D. J. CASIMIR und L. E. LYONS: J. Chem. Soc. (London) **1950**, 783.
44. F. J. PINCHIN und J. T. STOCK: Chemist. Industr. **1953**, 1204.
45. P. E. WENGER, D. MONNIER und L. EPARS: Helv. Chim. Acta **35**, 561 (1952).
46. J. T. STOCK: J. Chem. Soc. (London) **1949**, 763.
47. G. DUŠINSKÝ: Českoslov. Farmac. **2**, 77 (1953).
48. J. VACEK: Českoslov. Farmac. **4**, 6 (1955).
49. G. DUŠINSKÝ: Českoslov. Farmac. **2**, 225 ((1953).
50. J. BARTEK, M. ČERNOCH und F. ŠANTAVÝ: Chem. Listy **47**, 461 (1953).

51. F. Šantavý : Spisy vydávané přírodovědeckou Fak. Masarykovy Univ. (Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk) **19**, 29 (1945).
52. J. J. Lingane, C. G. Swain und M. Fields : J. Amer. Chem. Soc. **65**, 1348 (1943).
53. B. Breyer, S. G. Buchanan und H. Duewell : J. Chem. Soc. (London) **1944**, 360.
54. R. C. Kaye, H. I. Stonehill : J. Chem. Soc. (London) **1951**, 27.
55. N. S. Hush : J. chem. Physics **20**, 1660 (1952).
56. S. Fowler und R. C. Kaye : J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 748 (1952).
57. R. C. Kaye und H. I. Stonehill : J. Chem. Soc. (London) **1951**, 2638.
58. A. Blažek, R. Kalvoda und J. Zýka : Časopis českého Lékarnictva **63**, 138 (1950).
59. J. Kroh : Roczniki Chem. [Ann. Soc. chim. Polonorum] **28**, 511 (1954).
60. F. Šantavý : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **14**, 377 (1949).
61. E. Coufalík und F. Šantavý : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 457 (1954).
62. J. Bartek und F. Šantavý : Chem. Listy **47**, 1617 (1953).
63. J. Hobza und F. Šantavý : Časopis českého Lékárnictva **62**, 86 (1949).
64. V. D. Bezuglyj : Ж. Общ. Хим. (Z. allg. Chemie) **24**, 2190 (1954).
65. H. Baggesgaard-Rasmussen, C. Hahn und K. Ilver : Dansk Tidsskr. Farmaci **19**, 41 (1945).
66. F. Šantavý und M. Černoch : Chem. Listy **46**, 81 (1952).
67. V. Fořtová und J. Volke : Kongress Prakt. Polarographie, Bratislava **1952**, 99.
68. M. Maturová, O. Tělupilová-Krestýnová und F. Šantavý : Chem. Listy **49**, 566 (1955).
69. J. Volke und V. Fořtová : Kongress prakt. Polarographie, Bratislava, **1952**, 104.
70. J. Volke und V. Volková : Českoslov. Farmac. **4**, 20 (1955).
71. W. J. Seagers, J. D. Neuss und W. J. Mader : J. Amer. Pharm. Assoc. **41**, 640 (1952).
72. H. P. W. Kirkpatrick : Quart. J. Pharmac. Pharmacol. **18—20**, 245, 338, 8, 127, 526, 87 (1945—47).
73. L. F. Cavalieri und B. A. Lowy : Arch. Biochem. Biophysics **35**, 83 (1952).
74. O. Manoušek und P. Zuman : Chem. Listy **49**, 668 (1955).
75. J. Koryta und P. Zuman : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 197 (1953).
76. P. Zuman, J. Koryta und R. Kalvoda : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 350 (1953).
77. P. Zuman : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **20**, 646 (1955).
78. J. C. Heath : Nature **158**, 23 (1946).
79. W. Leyko und H. Panusz : Bull. Soc. sci. Lettr. Lodž. Classe III. **5**, No. 2 (1954).
80. K. Wiesner : Časopis českého Lékárnictva **57**, 76 (1944).
R. Pleticha : Pharmaz. Zentralhalle (Deutschland) **92**, 395 (1953).
81. W. Allen, R. L. Pasternak und W. Seaman : J. Amer. Chem. Soc. **74**, 3264 (1952).
82. V. Hladík : Proc. I. Internat. Polarograph. Congress. Prague **1951**, Part I. 686.
83. K. Suchý : Proc. I. Internat. Polarograph. Congress Prague **1951**, Part I, 530.
84. V. Cieleszky : noch nicht veröffentlicht.
85. R. C. Kaye und H. I. Stonehill : J. Chem. Soc. (London) **1952**, 3240.
86. O. Hrdý und Z. Jung : Českoslov. Farmac. **3**, 194 (1954).
87. V. Vojíř : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 868 (1954).
88. A. Foffani und E. Fornasari : Gazz. chim. ital. **83**, 1051 (1953).
89. J. Volke : noch nicht veröffentlicht.
90. T. Fornasari und A. Foffani : Gazz. chim. ital. **83**, 1059 (1953).
91. E. Ochiai : J. Org. Chemistry **18**, 534 (1953).
92. R. Brdička und E. Knobloch : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **47**, 721 (1941).
93. R. Brdička : Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **48**, 686 (1942).
94. R. Brdička : Chem. Listy **36**, 286, 299 (1942).
A. Kočent : Chem. Listy **47**, 195, 652 (1953).
95. M. Vořísková : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **12**, 607 (1947).
96. C. Cattaneo und G. Sartori : Gazz. chim. ital. **72**, 38 (1942).
97. O. H. Müller : Trans. elektrochem. Soc. **87**, 441 (1945).
98. K. Schwabe und H. Berg : Z. physik. Chem. **204**, 78 (1955).
99. B. Jámbor : Acta Chim. Hung. **4**, 55 (1954).
100. J. Doskočil : Proc. I. internat. polarograph. Congress Prague **1951**, III, 649.
101. H. Campbell und P. O. Kane : im Artikel A.W. Nineham, Chem. Reviews **55**, 355 (1955).
102. W. Ried und M. Wilk : Liebig's Ann. Chem. **581**, 49 (1953).
103. D. L. L. Hammick und S. F. Mason : J. Chem. Soc. (London) **1950**, 345.
S. F. Mason : J. Chem. Soc. (London) **1950**, 351.
104. J. Volke : Leybold Polarographische Ber. **2**, 175 (1954);
J. Volke : Českoslov. Farmac. **5**, 206 (1956).

Übersicht des polarographischen Verhaltens der wichtigsten N-haltigen Heterocyclen:

	Von der Elektrodenreaktion wird		ausser katalyt. Stufen inaktiv
	der heterocyclische Ring betroffen	ein Substituent betroffen	
Pyrrolderivate		Pyrrolaldehyde [2] Pyrrolketone [2] Pyrrolsulfonsäuren [8, 9]	Pyrrol [2] N-Acetylpyrrol [2] 2-Acetylpyrrole [2]
Indolderivate	Indolenine [4]	Methylendihydroindole [4] Isatin [5–7] Indolsulfonsäuren [10]	Indol [2, 4] Carbazol [3] N-Acetylcarbazol [3]
Pyridinderivate	Nicotinsäure [12] Nicotinamid [22] Pyridiniumverbindungen [25–27] Dipyridyle [29, 30] Anabasin [29] Nicotin [18]	Isonicotinsäure(?) [12] Picolinsäure (?) [12] Isonicotinylhydrazid [18, 34] (?) Piperin [33] Lobelin [32]	Pyridin [1, 11]
Chinolinderivate	Chinolin [35, 36] subst. Chinoline [36–38] Chinolincarbonsäuren [37, 43–46] Chinin (Chinidin usw.) [50, 51] Chinotoxol [50, 51] Chinotoxin [50, 51] Chininon (?) [51] Chinolinaldehyde (?)	Chinotoxin [50, 51] Chininon [51] Chinolinaldehyde [44]	
Acridinderivate	Acridin [52–54] subst. Acridine [52–54] Lucigenin [59]		
Isochinolinderivate	Hydrastinin [60, 61] Cotarnin [60, 61] Berberin [60, 61] Sanguinarin [62] Chelerythrin [62]		
	Papaverin (?) [64]	Narcein [63] Oxydationsprodukte des Morphins und Codeins [66–69]	Isochinolin (?) [35] Morphin [72, 66] Codein [72, 66] Thebain [72, 66]

DISKUSSION

L. SZLÁVIK : Dr. VOLKE sagte, dass sich die Elektrodenreaktion bei allen Stickstoffoxyden der Heterocyclen an der NO-Gruppe abspielt, unabhängig davon, ob es sich um eine aktive Verbindung oder eine reduzierte Form handelt.

J. VOLKE : Ich sagte, dass sich bei Verbindungen, wo die NO-Gruppe die einzige aktive Gruppe ist, der Elektrodenvorgang dort abspielt. Handelt es sich um andere Verbindungen, so laufen wahrscheinlich zwei Reaktionen parallel ab, einerseits die Reduktion der NO-Gruppe, andererseits die Reaktion der anderen Gruppen.

V. CIELESZKY : In unserem Institut befassen wir uns seit 1954 mit der Untersuchung der Eigenschaften der Hydroxamsäuren. Diese Untersuchungen bilden einen Teil der Forschung, deren Zweck die Feststellung der eisenbindenden Gruppe des spezifischen eisenbindenden Eiweisses des menschlichen Blutserums ist. Die Annahme der Hydroxamsäuregruppe stammt von FIALA, der seine Arbeit in mehreren Mitteilungen, vor allem in der Collection 1949 mitteilte. Wir untersuchten eine Reihe der Hydroxamsäuren vom Standpunkt der polarographischen Aktivität. Wir stellten fest, dass Hydroxamsäuren, die aliphatische Verbindungen sind oder den aromatischen Ring enthalten, wo jedoch die Hydroxamsäure in der aliphatischen Kette gebunden ist, polarographisch nicht aktiv sind. Wir untersuchten auch heterocyclische Hydroxamsäuren, besonders die Pyridin-Hydroxamsäure und die Hydroxamsäuren, die mit dem Pyrazinring kombiniert sind. Die letzteren stehen mit der Strukturforschung der Aspergillussäure im Zusammenhang. Es wurde gefunden, dass die Hydroxamsäure, die mit dem Pyridinring kombiniert ist, im BRITTON-ROBINSONschen Puffer keine polarographische Aktivität aufweist. Die Pyrazin-Hydroxamsäure wurde dagegen als aktiv befunden. Es wurde ein dreistufiges Polarogramm bei saurem pH-Wert beobachtet. Von den drei Stufen weist die erste eine pH-Funktion auf, die ähnlich der Funktion der Pyridin-N-oxyde ist, die von FOFFANI und FORNASARI beschrieben wurde. Es schien zuerst unverständlich, warum die Pyridin-Hydroxamsäure nicht aktiv sei. Englische Forscher, SHAW und SPRING zeigten aber, dass die N-oxyd-Tautomer-Form der Pyridin-Hydroxamsäuren spektrophotometrisch und präparativ nachweisbar unstabil ist. Die Tatsache, dass die erste Stufe der Pyrazin-Hydroxamsäure tatsächlich durch die Reduktion der NO-Gruppe verursacht wird, wurde präparativ unterstützt, indem wir die Desoxyderivate herstellten, wobei im Polarogramm der letzteren die erste Stufe fehlte. Diese Versuche beweisen die Gültigkeit der von Dr. VOLKE erwähnten NO-Reduktion. Die heterocyclischen Hydroxamsäuregruppen werden nur dann reduziert, wenn die tautomere Form mit der NO-Gruppe anwesend ist.

J. VOLKE : Ich habe Ihre Polarogramme gesehen. Sie haben eine Arbeit über die Aspergillussäure, die jedoch nur ungarisch erschien. Ich kenne die Arbeit also nicht ausführlich, aber es ist wahrscheinlich, dass es sich dort doch um einen anderen Vorgang handelt. Die Stufen besitzen eine ganz andere Form.

B. JÁMBOR : Sie erwähnten, dass Nicotinsäureamid-Methylchlorid unter Aufnahme von zwei Elektronen reduziert wird und dass diese Stufe pH-unabhängig ist.

J. VOLKE : Ja, im alkalischen Gebiet.

B. JÁMBOR : Ist das Ihre eigene Beobachtung?

J. VOLKE: Nein. Das ist eine Angabe der Literatur. Sie haben gefunden, dass sie abhängig ist?

B. JÁMBOR: Ja. Im Zusammenhang mit der Elektronenzahl möchte ich erwähnen, dass wir die Elektronenzahl 4 erhielten, obwohl die Diffusionskonstante nicht genau bestimmt, sondern aus dem Molekülgewicht berechnet wurde.* Die Stufe wurde mit einer Stufe eines Stoffes, dessen Diffusionskonstante bekannt war, verglichen. Wäre die Elektronzahl 2, so hätten wir bei der Berechnung der Diffusionskonstante einen Fehler von 200—300% begangen, was aber doch nicht vorkommen kann. Was die pH-Abhängigkeit der Stufe betrifft, so tritt im saurem Medium eine einzige Stufe auf, die sich im alkalischen Gebiet in zwei Teile sondert. Die zweite Stufe verschiebt sich 60 Millivolt je pH-Einheit. D. h. dass die zweite Stufe pH-abhängig ist, dort findet eine Reaktion mit zwei Wasserstoffionen statt. Dies bezieht sich aber nur auf die Hälfte der Stufen. Das deutet wiederum die Elektronenzahl 4 an. LEACH [27] probierte das Reaktionsprodukt präparativ elektrochemisch darzustellen. Er stellt fest, dass das Dihydroprodukt nur im alkalischen Milieu herzustellen ist. Das ist überraschend, weil das Redoxpotential in saurem Medium viel positiver ist. Man möchte annehmen, dass die Herstellung dort viel einfacher wäre. Nehmen wir an, dass die Stufe vierelektronig ist, und in saurem Medium bedeuten die 4-Elektronenstufen eine weitere Reduktion, so ist es leicht verständlich, warum das Dihydroprodukt in saurem Medium nicht herzustellen ist.

J. VOLKE: Welche sind Ihre Erfahrungen mit dem Vergleich der Höhen von Stufen verschiedener Verbindungen? Šorm]25] hat nämlich die Stufe der von Ihnen untersuchten Verbindung mit deren von Benzochinon verglichen und $n = 2$ erhalten.

B. JÁMBOR: Die Grösse der Diffusionskonstante hängt stark von der elektronischen Ladung des Molekels ab.

J. VOLKE: Die Ester der Nicotin- und Isonicotinsäure können als kationoide Stoffe betrachtet werden. Daraus folgt, dass die Höhen ihrer Stufen, wenn auch nicht ganz exakt, mit denen des Nicotinsäureamid-Methylchlorids verglichen werden dürfen.

B. JÁMBOR: Wir haben die Diffusionskonstante oft so berechnet und höchtens einen Fehler von 25% beobachtet.

J. VOLKE: Die Methyl- oder Äthylester der Nicotinsäure oder der Isonicotinsäure, die leicht reduzierbar sind, wären gute Modellstoffe für den Vergleich.

L. KOCSÁR: Vor drei Jahren entwickelte ich mit meinen Mitarbeitern eine polarographische Methode zur Bestimmung des Isonicotinsäure-Hydrazids. Es gelang, Isonicotinylhydrazid im Harn zu bestimmen und so die Untersuchung seiner Resorption und Excretion im Falle humaner Krankheiten zu ermöglichen. Ich möchte fragen, ob Dr. VOLKE Erfahrungen über die Bestimmung solcher Stoffe im Blute oder in anderen biologischen Flüssigkeiten, z. B. im *Liquor cerebrospinalis* besitzt. Das würde eine grosse Bedeutung in der medizinischen Forschung haben.

J. VOLKE: Wir haben eine solche Bestimmung des Isonicotinsäurehydrazids nicht durchgeführt. Wie ich hörte, gelang ihnen die Entwicklung einer neuen Methode zur Bestimmung der Isonicotinsäurehydrazids. Ich möchte mich sehr freuen, wenn ich diese Arbeit in deutscher oder englischer Sprache lesen könnte. Ich habe von der Bestimmung solcher Stoffe in biologischen Flüssigkeiten noch nichts gelesen.

* Bei mikrocoulometrischer Bestimmung erhielten wir ebenfalls $n = 2$ (JÁMBOR).

THE POLAROGRAPHY OF N-CONTAINING HETEROCYCLIC COMPOUNDS

J. Volke

(Polarographic Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

The conditions of reducibility of N-containing heterocyclic compounds and the effect of external substituents on these conditions are discussed. The derived general conclusions are confirmed by numerous experimental examples. Special attention was paid to the analytical applications, including the determination of alkaloids. The unreliability of catalytic hydrogen waves for the purposes of qualitative analysis is emphasized.

Dr. Jiří Volke, Praha 1. Vlašská 9.

DIE ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DER POLAROGRAPHIE IN DER PHARMAZIE

V. Volková

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Von besonderer Bedeutung für die Pharmazie ist die polarographische Methode bei der Bestimmung der Reinheit verschiedener synthetischer Heilmittel oder bei der Bestimmung der Bestandteile komplizierter Systeme, wie z. B. der Pflanzenextrakte oder der zusammengesetzten Arzneimittel. In diesen Fällen bewährt sie sich nämlich oft als die einzige spezifische Methode. Was die Polarographie für die pharmazeutische Chemie bedeutet, zeigt auch die Einführung polarographischer Bestimmungen in das neue tschechoslowakische Arzneibuch. Dabei muss noch betont werden, dass alle vier Fälle, wo sich die Polarographie durchgesetzt hat, nur diejenigen sind, wo es überhaupt keine andere Möglichkeit gibt, die Verbindungen spezifisch und schnell zu bestimmen : Ascorbinsäure, Chloramphenicol (Chloromycetin), Chlorotetracyclin (Aureomycin) und Nicotinamid.

Auch in den Fällen, wo die rein chemischen Methoden angewandt werden können, führt manchmal die Einführung der Polarographie zur Vereinfachung und dabei zur Verbesserung des analytischen Vorganges. So entfällt bei der polarographischen Bestimmung der Inhaltsstoffe von Tinkturen, Fluidextrakten und anderen Lösungen oft der komplizierte Prozess der Extraktion oder wird grundsätzlich vereinfacht. Zum Beispiel bei der Bestimmung der Chininbasen [1] in der Chinatinktur, des Zimtaldehyds [2] in der Zimttinktur, des Benzaldehyds [2] in *Aqua laurocerasi* und bei der Bestimmung vieler anderer polarographiert man direkt nach Verdünnung der analysierten Flüssigkeit mit der Grundlösung. In einigen anderen Fällen entfernt man die Ballaststoffe durch Fällung : vor der polarographischen Bestimmung von Colchicin [3] im Extrakt aus den Samen und in der Tinktur fällt man die Ballaststoffe mit Bleiacetat und das Blei im Überschuss mit einer Phosphatlösung.

Die Wahl des pH-Wertes der Grundlösung spielt oft eine wichtige Rolle bei der Unterscheidung der nebeneinander in der Probe anwesenden Verbindungen. Zur Bestimmung von Acetophenon neben Lobelin [11] wird eine Pufferlösung von pH 6,8 empfohlen, die Chinotoxine werden am besten in sauren Lösungen neben den übrigen Chininbasen [1] bestimmt. Zur Unterscheidung kann man auch den zu bestimmenden Stoff durch einen chemischen Eingriff

polarographisch aktiv machen, wobei die anderen im Arzneimittel enthaltenen Verbindungen abweichend reagieren. So unterliegt bei der Bestimmung von Cephaelin neben Emetin [4] in der Ipecacuanhatinktur bloss Cephaelin als ein Stoff phenolischen Charakters der Nitrosierung, während Emetin unverändert bleibt. Nur in wenigen Fällen muss man vor dem Polarographieren extrahieren ; die Extraktion muss jedoch gewöhnlich nicht mit einer vollständigen Isolierung der zu bestimmenden Verbindung enden.

Wenn für die Injektionslösungen Öl als Lösungsmittel verwendet wird, ist es möglich, neben dem komplizierten Extrahierungsverfahren die Injektion durch eine geeignete Kombination von organischen Lösungsmitteln in eine

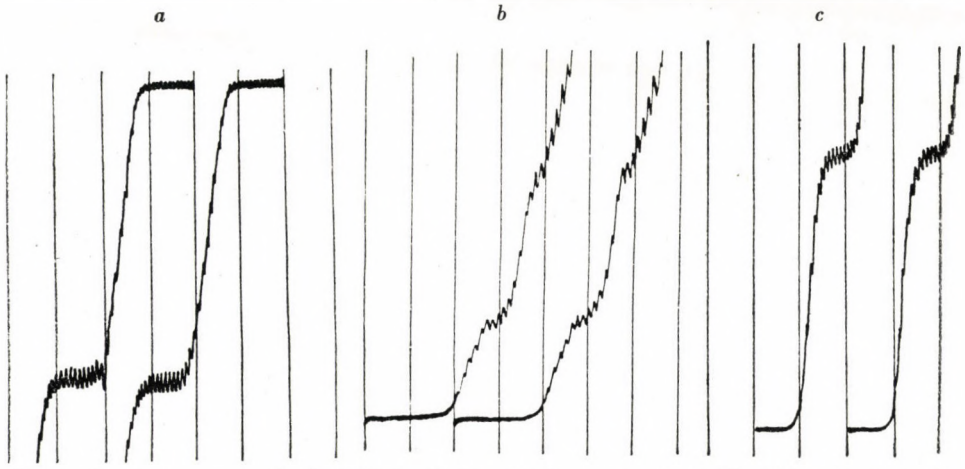


Abb. 1. Bestimmungen nach dem Tschechoslowakischen Arzneibuch II : links Probe, rechts Standard
a) Ascorbinsäure, c = 50 mg %, Acetatpuffer pH 4,7, anodisch-kathodisch, von —0,4 V zurück, 200 mV/Absz,
b) Aureomycin, c = 17 mg %, Phosphatpuffer pH 6,2, von —0,6 V an, 200 mV/Absz.,
c) Nicotinsäureamid, c = 50 mg %, 0,1 n NaOH, von —1,4 V an, 200 mV/Absz.

mit der wässrigen Grundlösung mischbare Lösung überzuführen. Für anodische Stufen des 2,3-Dimercaptopropanols wurde als ein solches Lösungsmittel Chloroform [5] empfohlen, dessen alkoholische Lösung mit einem kleinen Volumen Wasser mischbar ist.

Bei der polarographischen Bestimmug von Aldehyden und Ketonen in ätherischen Ölen ist es gewöhnlich nicht notwendig, diese Verbindungen durch Wasserdampfdestillation oder Ausschütteln zu isolieren. Die ätherischen Öle werden mit Äthanol verdünnt und diese Lösung wird dann mit der Grundlösung gemischt, wie z. B. bei der Bestimmung von Citral [2] und Citronellal [2] in *Oleum citri*, von Anisaldehyd [2] in *Oleum anisi stellati* und *Oleum anisi* und vielen anderen, wo als Leitsalz meistens LiCl dient.

Auch die Bestimmung in Tabletten wird in den meisten Fällen durch die Gegenwart der Tablettierungsmasse nicht gestört. Es genügt nur, die gründ-

lich zerriebenen Tabletten mit einem geeigneten Lösungsmittel durchzuschütteln, z. B. bei den Alkaloiden und anderen basischen Stoffen mit einer sauren, bei den Phenolen mit einer alkalischen Lösung, bei den Ketoverbindungen mit Äthanol usw.

Bloss bei der Bestimmung der Verbindungen, deren Reduktion bei sehr negativen Potentialen verläuft, wird die Analyse durch die Gegenwart der Alkaliionen gestört. Dies ist der Fall bei der Bestimmung des K-Strophantins in Tabletten, wo das verseifte Aglucon mit Chloroform ausgeschüttelt werden muss [54]. Man dunstet dann das Lösungsmittel ein und polarographiert den in wässriger Grundlösung gelösten Rückstand.

Die Drogen, wie Samen, Blüten, Wurzeln und Blätter, werden zerrieben und dann extrahiert — manchmal in einer Soxhlet-Apparatur — und die Extrakte werden zum Polarographieren, ähnlich wie die Tinkturen und die in der Pharmazie verwendeten Extrakte weiter verarbeitet. Das Extrahierungsmittel wird je nach der Natur des zu bestimmenden Stoffes gewählt: Colchicin [3] extrahiert man aus den Samen der Herbszeitlosen mit destilliertem Wasser, Piperin [55] aus dem Pfeffer mit Äthanol, Glucoside [20] aus verschiedenen Digitalisarten mit Methanol usw.

In der letzten Zeit haben wir uns in Zusammenarbeit mit dem Kontrolllaboratorium *Medika* mit der Anwendung der Polarographie zur Bestimmung in Sirupen und Salben befasst. Wir haben festgestellt, dass die Anwesenheit von Saccharose in der Lösung die lineare Konzentrationsabhängigkeit der Stufen nicht stört. Man kann sogar in Lösungen polarographieren, die 50% Sirup [70], d. h. mehr als 30% Saccharose enthalten. Zur Analyse der Salbe Endiaron, wo die Konzentration von Chloroxychinolinen bestimmt werden soll, haben wir die Chloroxychinoline mit einer 2 m HCl-Lösung extrahiert, und zwar aus einer Benzinlösung oder aus der geschmolzenen Salbe. Der wässrige Extrakt wurde dann nach der pH-Einstellung polarographiert [6].

Aus den genannten Beispielen geht schon hervor, dass auf dem Gebiete der pharmazeutischen Analyse vor allem die polarographischen Analysen organischer Verbindungen studiert wurden. Die Bestimmungen der anorganischen Kationen und Anionen kann man meistens nach den Methoden durchführen, die für die anorganische Analyse ausgearbeitet wurden. Die Polarographie macht sich hier bei der Bestimmung von Verunreinigungen, besonders von Schwermetallen [7], z. B. Blei, Kupfer, Quecksilber geltend. Von Bedeutung ist auch die Bestimmung von organisch gebundenen Metallen, und zwar entweder nach Veraschung oder nach Überführung in einen geeigneten Komplex. Direkt bestimmt man Phenylquecksilberverbindungen [56, 57], Zink in Insulin entweder nach Veraschung [8] oder nach Überführung in einen Ammoniakkomplex [8].

Die polarographische Aktivität organischer Verbindungen, die ihre direkte Bestimmung ermöglicht, hängt vor allem von der Struktur der Molekeln, bzw. von einer geeigneten Kombination gewisser Gruppen ab.

Von den Stoffen, die in der Pharmazie Verwendung finden, werden Aldehyde, Ketone mit konjugierter Doppelbindung, Verbindungen chinoiden Charakters, ungesättigte Kohlenwasserstoffe, verschiedene Nitro-, Nitroso-, Ketimino- und Halogenverbindungen, Peroxyde und viele ungesättigte heterocyclische Verbindungen polarographisch reduziert. Hydrochinone und Endiole werden oxydiert und zahlreiche Harnsäurederivate und Stoffe mit Sulfhydrylgruppen bilden Verbindungen mit Quecksilber, was sich im Erscheinen anodischer Stufen äussert. Manche polarographisch inaktive Verbindungen, wie z. B. gesättigte Ketone, phenolische Stoffe und Amine können auch in polarographisch aktive überführt werden. Die Bestimmung von polarographisch

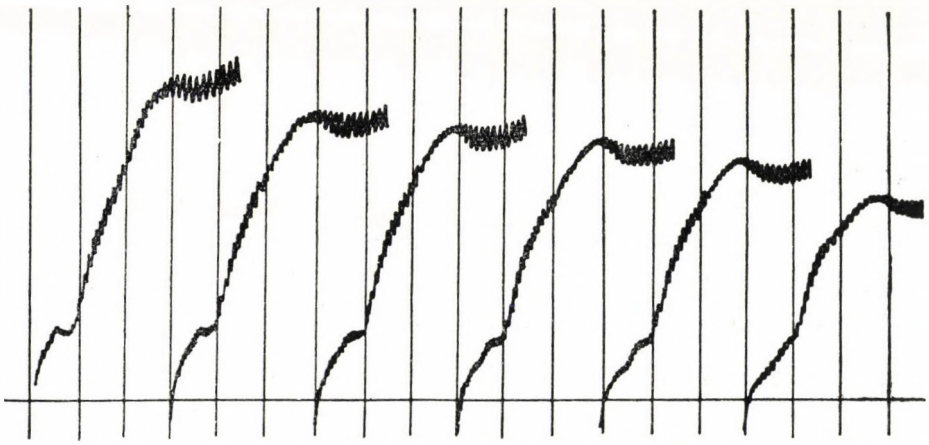


Abb. 2. Einfluss der Gegenwart des Sirups auf die Stufe des Bromoforms; von links nach rechts: 0, 10, 20, 30, 50, 70% Sirup. simplex. Nach [6]

inaktiven Stoffen, die jedoch mit polarographisch aktiven Verbindungen in stöchiometrischen Verhältnissen reagieren, wird durch polarometrische Titrationen ermöglicht.

Eine aliphatische Aldehydgruppe wird zu einer primären Alkoholgruppe reduziert. Die Reduktion verläuft in einer Stufe, sie wird jedoch bei niedrigeren Aldehyden durch Hydratisierung und bei Zuckern durch Cyclisierung kompliziert. Bei den aromatischen Verbindungen wird die Carbonylgruppe je nach dem pH-Wert der Lösung in einer oder zwei Stufen reduziert. Im ersten Reduktionsschritt entsteht ein Radikal. Als Grundlösung für die Bestimmung der *Aldehyde* wird meistens eine 0,1 m LiCl-Lösug [2] (aromatische Verbindungen) oder eine 0,1 m LiOH-Lösung [9] (aliphatische Aldehyde), oft — vor allem bei den aromatischen — mit 50% Äthanol, empfohlen. Die Zugabe von Alkohol ist in allen Fällen erforderlich, wenn ätherische Öle analysiert werden. So bestimmt man, wie schon erwähnt, Citral [2], Citronellal [2], Anisaldehyd [2], Benzaldehyd [2], Zimtaldehyd [2], weiter Cuminaldehyd [2] in ätherischen Ölen.

Die Lösung von LiOH benützt man für die Bestimmung von Formaldehyd in Desinfektionsmitteln vom Typus des Odoforms [9]. Dem polarographischen Verhalten des Formaldehyds ist das des Streptomycins ähnlich [58].

Die *Ketone* werden, im Gegensatz zu den Aldehyden, bei sehr negativen Potentialen reduziert. Bei geeigneter Konjugation, wie. z. B. bei einer Doppelbindung mit einer anderen Carbonylgruppe, oder wenn es sich um ein aromatisches Keton handelt, wird die Reduktion erleichtert und man erhält deutliche polarographische Wellen. Im Falle der konjugierten Doppelbindung wird jedoch zuerst eben die Doppelbindung reduziert. Die Anwesenheit einer Ketogruppe in dem Molekel ermöglicht in der Pharmazie direkte Bestimmungen

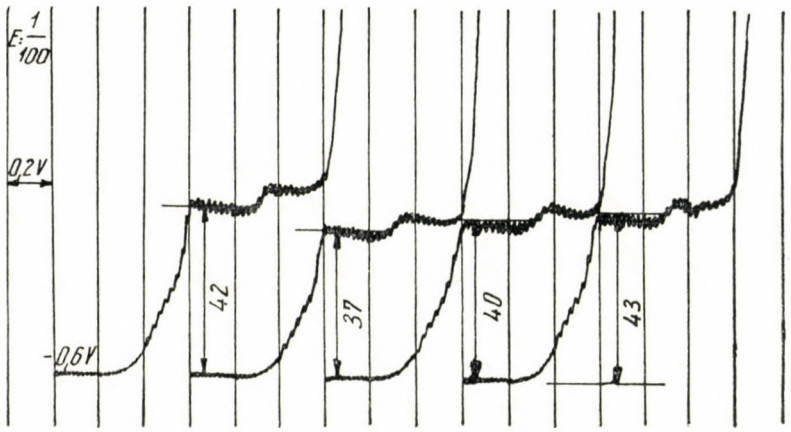


Abb. 3. Bestimmung des Zimtaldehyds im Zimtöl — 50 mg %-ige Lösung des Öls mit 20% Äthanol, 0,1 n NH_4Cl. Nach [2]

verschiedenster Stoffe. Von den einfachsten sind es die Ketone in ätherischen Ölen und Drogen, wie z. B. Carvon [2], Diosphenol [2] und Pulegon [2], die gewöhnlich ähnlich wie die Aldehyde bestimmt werden. Ähnlich wird auch Santonin [59] in Drogen und Tabletten, aber nach Extraktion bestimmt.

Aus der Gruppe der Alkaloide sind es die Verbindungen wie Narcein [10], Lobelin [11], künstlich dargestellte Oxydationsprodukte des Morphins und Codeins [12, 13], die dank der Gegenwart einer Ketogruppe polarographisch bestimmt werden können. Auf der leichteren Reduzierbarkeit der konjugierten Ketogruppe ist das Unterscheiden der eventuell toxischen Substanzen begründet, z. B. von Codeinon neben Dihydrocodeinon [12], oder von Chinotoxin neben Chinin [1]. Aus dem Verhalten der Ketosteroide an der Quecksilbertropfelektrode ist der Einfluss der Konjugation gut ersichtlich. Die 4,-5 ungesättigten 3-Ketosteroide, wie Testosteron [14], Corticosteron [14], Progesteron [14] und Cholesteron [14], geben polarographische Stufen, während Androsteron [15], Dehydroisoandrosteron [15] und andere keine direkten polarographischen Wellen geben. Bei den letzteren nicht reduzierbaren Keto-

steroiden nützt man die Reaktivität der Carbonylgruppe aus und führt diese durch Reaktion mit Hydrazinen [15, 60] in ein Betainylhydrazon über, das als ein solches bestimmt wird. Die chemotherapeutischen Mittel Aureomycin und Terramycin mit je zwei Carbonylgruppen werden unter Aufnahme von insgesamt 4 Elektronen reduziert [16]. Es besteht die Möglichkeit diese Stoffe in einer

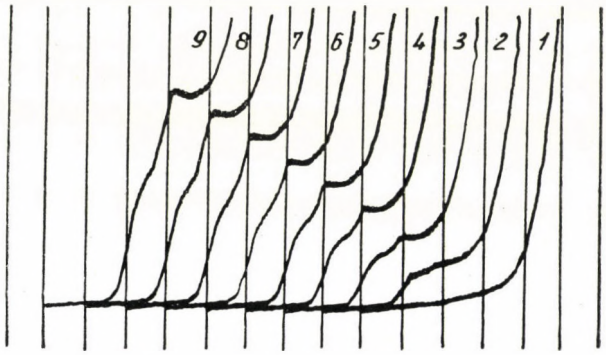


Abb. 4. Eichkurven des Desoxycorticosterons — (1): 5 ml Puffer nach BRITTON und ROBINSON pH 7,4; (2) bis (9) fortschreitend je 0,1 ml 0,01 m Desoxycorticosteron zugefügt; von —1,4 V an (Hg-Sulfat-Elektrode), 200 mV/Absz. Nach [14]

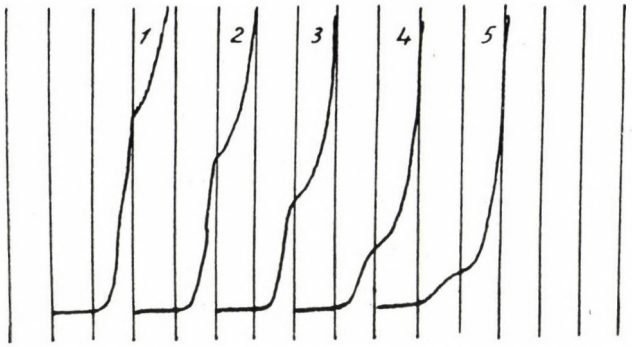


Abb. 5. Eichkurven des GIRARDschen Hydrazons des Dehydroisoandrosterons im Eisessig kondensiert, danach mit NaOH auf pH 4,7 eingestellt; 35% Äthanol; Konzentration des Dehydroisoandrosterons 3 bis 24 · 10^{-5} m; von —1,0 V an (SKE), 200 mV/Absz. Nach [15]

Lösung von pH 6,5 voneinander zu unterscheiden [17]. Die Anthrachinone [18] können auch in Extrakten, u. zw. in sauren Grundlösungen bestimmt werden.

Die Reduktion von Chinonen verläuft reversibel und bei relativ positiven Potentialen. Diese Tatsache ermöglicht gute polarographische Bestimmungen der Stoffe aus der Gruppe der K-Vitamine. Das Vitamin K_1, als 1,4-Naphthochinonderivat, wird in einer 0,1m KCl-Lösung mit Isopropanol bestimmt. Auf Grund der Reduktionsstufe des Naphthochinons wird nach Oxydation mit

Brom oder mit Ce(IV)Sulfat das Vitamin K_3 [39] bestimmt. Als Chinone bestimmt man nach Oxydation auch die nicht reduzierbaren Tocoferole [61].

Von den *heterocyclischen Verbindungen* finden in der Pharmazie vielfach Verbindungen mit Sauerstoff, Stickstoff- und auch Schwefelatomen Verwendung.

Was die Stoffe mit heterocyclischen Sauerstoffatomen im Cyclus betrifft, ist die Bestimmung von Lactonen, wie z. B. von Herzglucosiden, bzw. von ihren Agluconen von Bedeutung. Man bestimmt polarographisch diejenigen Herzglucoside, die am Kohlenstoffatom 17 einen sechsgliedrigen Lactonring [20] tragen, wie z. B. Scillaren A, Scillirosid, Hellebrin, und andere neben den Ver-

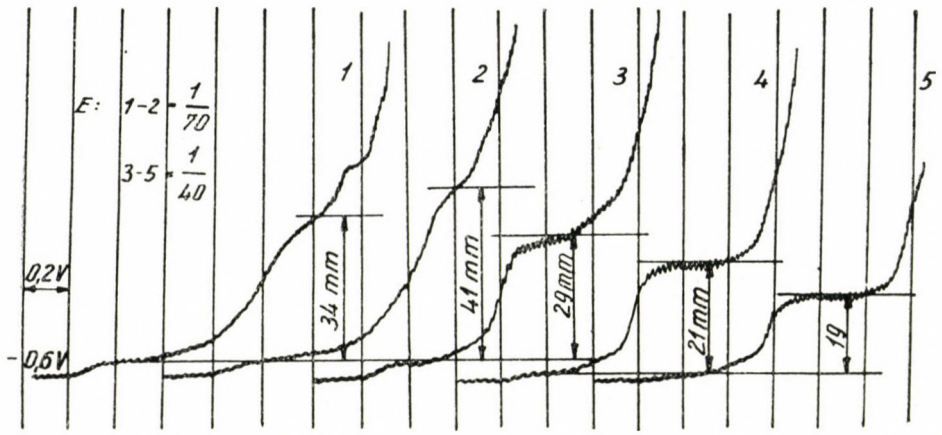


Abb. 6. Polarographische Kurven verschiedener Chinaextrakte — erste Stufe: Chinotoxine, zweite Stufe: Summe der übrigen Basen; Verdünnung der Tinkturen 1 : 99 und 1 : 49 (3—5); Grundlösung 0,1 n-LiOH. Nach [1]

bindungen mit einem fünfgliedrigen Lactonring [20], wie z. B. Strophantidin, Cymarin, K-Strophanthosid und Digitoxin. Die ersteren, die eine doppelt ungesättigte Bindung besitzen, werden schon bei —1,8 V reduziert und zu ihrer Bestimmung genügen Grundlösungen mit Lithiumsalzen, wogegen die Glucoside mit einem fünfgliedrigen Ring erst bei —2,2 reduziert werden, so dass ihre Wellen nur bei Benützung von Lösungen mit Tetraalkylammoniumsalzen sichtbar sind. Von den anderen O-haltigen Heterocyclen kommt in der Pharmazie die Bestimmung von Phenolphthalein in Betracht [21] und dann von Flavonen, einerseits mit Hilfe der Reduktionsstufen [22, 23], anderseits mittels der polarometrischen Titration [24]. Die Tocopherole sind nicht reduzierbar, und ihre Bestimmung wurde schon bei den Chinonen besprochen.

Unter den N-haltigen heterocyclischen Verbindungen sind zwar das nicht substituierte Pyridin und Isochinolin im Gegensatz zu Acridin und Chinolin nicht reduzierbar, aber ihre meisten substituierten nicht hydrierten Derivate werden reduziert, und zwar am häufigsten am heterocyclischen Ring. Zu ihnen

gehören : Nicotinamid [25], das Anästheticum Nupercain [26], Atophan [62], die Alkaloide der Chiningruppe [1] (Chinin, Cinchonin, usw.), die Acridinderivate Trypaflavin und Rivanol [24]. Bei den Isochinolinalkaloiden Hydrastinin [27], Cotarnin [27] und Berberin [27] besteht ausserdem noch die Möglichkeit der Reduktion der offenen aldehydischen Form. Das Vitamin B_2, Lactoflavin, bildet mit seiner reduzierten Form ein reversibles Redoxsystem. Die Reduktionsstufe der oxydierten Form ermöglicht eine einfache polarographische Bestimmung auch in pharmazeutischen Präparaten [63]. Die Folinsäure [64, 65] kann auch neben den Pterinen bestimmt werden.

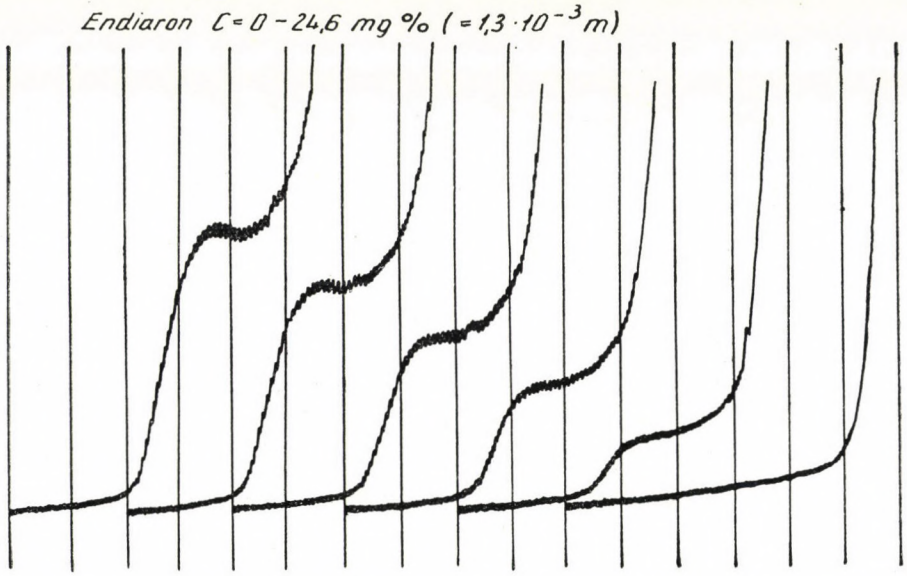


Abb. 7. Eichkurven des Endiarons, pH 9, von —0,8 V an (Hg-Boden). Nach [6]

Wir haben uns in der letzten Zeit mit der Polarographie der Chloroxychinoline beschäftigt, die in pharmazeutischen Präparaten als Desinfektionsmittel unter dem Namen Endiaron oder Vioform vorkommen, und haben dabei gewisse Ähnlichkeiten mit dem Verhalten von 8-OH-Chinolin gefunden, die jedoch ihre Unterscheidung von dieser Verbindung nicht ausschliessen. Die Methode ermöglicht gute Bestimmungen von Chloroxychinolinen [6] auch in Tabletten und Salben.

Die Stoffe mit Gruppen, die Stickstoff enthalten, wie z. B. *Nitro-*, *Nitroso-* und *Ketimino-*Verbindungen werden zwar in der Pharmazie mit Ausnahme von Chloramphenicol selten verwendet, sie besitzen aber trotzdem eine grosse Wichtigkeit in der Analyse von pharmazeutischen Präparaten, denn diese Gruppen können alle leicht in bestimmte Molekeln eingeführt werden und so auch die Bestimmung von inaktiven Stoffen ermöglichen. Da die Reduktion einer Nitro-

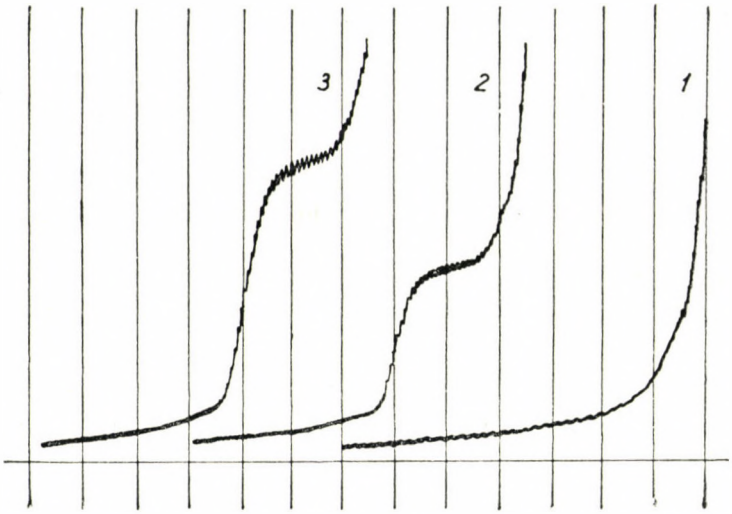


Abb. 8. Bestimmung des Endiarons in Endiaron-Salbe — (1) leere Lösung, (2) 2,0033 g Salbe abgewogen, mit 2 m HCl extrahiert, zu 50 ml aufgefüllt; 1 ml Extrakt nach Zufügung von Äthanol auf pH 9 eingestellt ; Gesamtvolum 10 ml ; (3) dasselbe +0,5 ml 0,1774% Eichlösung, von —0,6 V an (Hg-Boden), 200 mV/Absz. Nach [6]

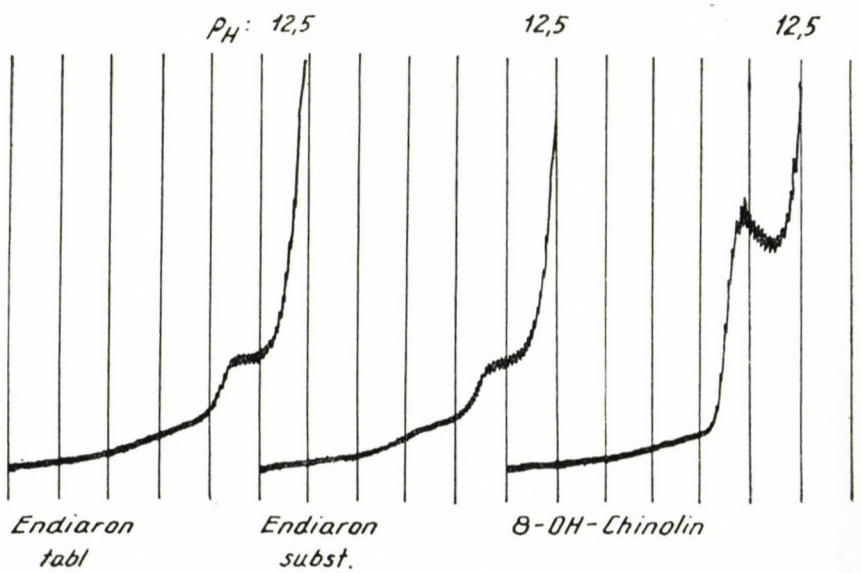


Abb. 9. Unterscheidung des Endiarons von 8-OH-Chinolin. Konzentration stets dieselbe, Glycinpuffer pH 12,5 ; von —1,0 V an (Hg-Boden), 200 mV/Absz. Nach [6]

gruppe unter Aufnahme von 4 oder 6 Elektronen verläuft, ist eine derartige Bestimmung empfindlicher als die durchschnittlichen polarographischen Bestimmungen. Die Nitrogruppe ist, wie schon erwähnt, in der Molekel des Chemotherapeutikums Chloramphenicol anwesend, dessen polarographische Bestimmung [28, 29] das neue tschechoslowakische Arzneibuch vorschreibt. Zu seiner Bestimmung eignen sich Puffer von pH 4, wo besonders mit Hilfe der Derivationsschaltung die toxischen ketonischen Verunreinigungen neben Chloramphenicol bestimmt werden. Indirekt erst nach durchgeführter Nitrierung, die mit Mischsäure gemacht wird, kann man die Alkaloide Codein und Dionin [30] bestimmen. Auch die Nitrosogruppe, die in Arzneimitteln nicht vorkommt, wird sehr oft durch Einwirkung von Nitrit in saurer Lösung eingeführt, und

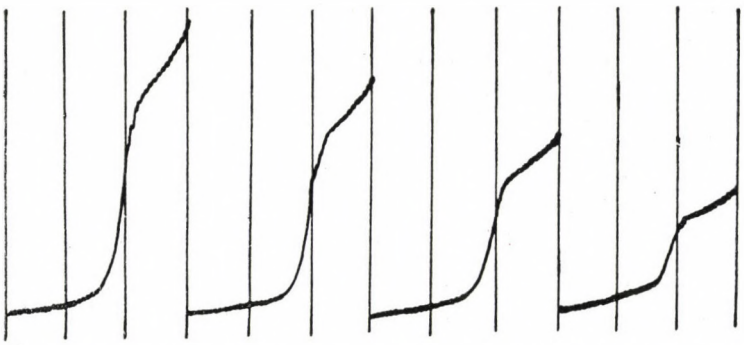


Abb. 10. Bestimmung des Codeins als Nitroderivat, mit $HNO_3 + H_2SO_4$ 15 Min. nitriert, danach alkalisiert; von links nach rechts: 800 μg, 600 μg, 400 μg, 200 μg Codein in 12 ml; von —0,2 V an (Hg-Boden), 200 mV/Absz. Nach [30]

zwar in die Molekeln der Stoffe mit phenolischen Gruppen, wobei Nitrosoderivate entstehen oder in die Molekeln der Amine, wodurch die entsprechenden Nitrosamine gebildet werden. Die Nitrosierung wird durch Alkalisierung beendet und die Lösung polarographiert. Solche Methoden wurden für Morphin [31], Heroin nach Hydrolyse [12], Cephaelin [4] — auch in Anweseheit von Emetin [4] —, für Oestron [32], Procain [33] und zahlreiche andere Verbindungen ausgearbeitet.

Die Ketiminoverbindungen entstehen durch Reaktion der Carbonylverbindungen — Aldehyde und Ketone — mit primären Aminen; die so entstandene C=N-Bindung wird unter Aufnahme von 2 Elektronen reduziert. So kann z. B. die oxydierte Form der Ascorbinsäure [34] in ammoniakalischer Lösung bestimmt werden. Eine für die Pharmazie weit wichtigere Reihe von Verbindungen mit einer C=N-Gruppierung bilden jedoch die Kondensationsprodukte von verschiedenartig substituierten Hydrazinen mit Carbonylverbindungen. Diese Stoffe verbrauchen bei ihrer Reduktion 4 Elektronen zur

Reduktion einer Gruppe. Auf ihre Bedeutung für die Analyse der Ketosteroide wurde schon bei den Ketosteroiden hingewiesen.

Die polarographische Reduzierbarkeit von Peroxyden wurde vor allem für die Bestimmung der Verunreinigungen [35] im Äther ausgenützt.

Verhältnismässig wenig wandte man bis jetzt die Reduktionswellen der pharmazeutisch wichtigen *Halogenderivate* zur deren Analyse an. Dies erfolgte bloss bei der Bestimmung der Schilddrüsenhormone Thyroxin [36], und Dijodtyrosin [36] und der jodhaltigen Kontraststoffe [36]. Charakteristisch für das polarographische Verhalten der Halogenverbindungen ist die Tatsache, dass die

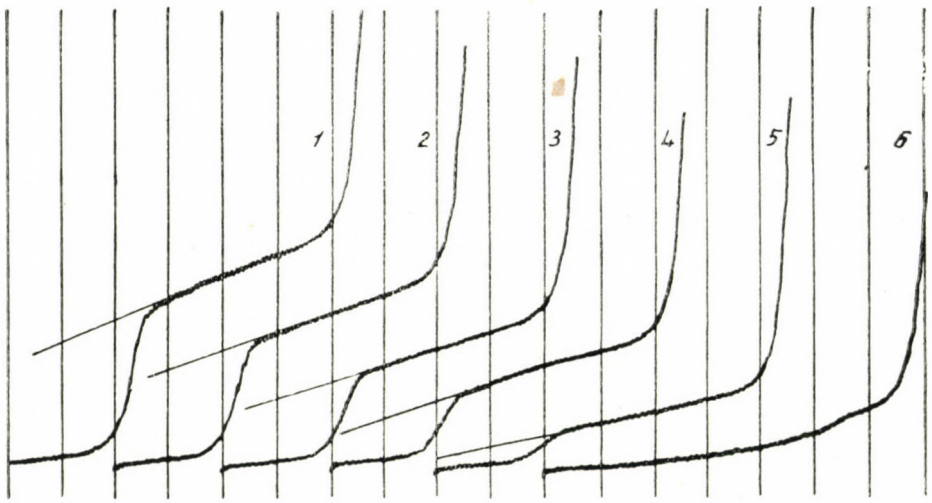


Abb. 11. Eichkurve des Cephaelins neben 4fachem Überschuss von Emetin nach Nitrosierung; 5 ml der 0 bis 25 mg %-igen Cephaelinlösung in 1 n HCl werden 15 Min. mit 2 ml 1 m $NaNO_2$ nitrosiert und danach mit 3 ml 20% KOH, 1 ml 0,5% Gelatine und 8 ml Methanol versetzt, 30 Min. nach der Reaktion polarographiert; von —0,4 V an (SKE). Nach [4]

Halbstufenpotentiale der nicht dissoziierenden Verbindungen dieser Gruppe nicht vom pH-Wert der Lösung abhängen. Die Halbstufenpotentiale werden in der Reihe Cl — Br — J positiver, sowie auch durch geeignete Konjugation, wie z. B. durch eine Doppelbindung, wenn es sich um α-halogensubstituierte Säuren handelt usw. Bei manchen mehrfach substituierten Verbindungen werden die einzelnen Halogenatome nacheinander in eigenen Stufen reduziert. Die Abspaltung eines Halogenatoms verläuft unter Aufnahme von zwei Elektronen und eines Wasserstoffions. Wir haben das polarographische Verhalten der Halogenderivate näher studiert und in Zusammenarbeit mit dem Kontrolllaboratorium der staatlichen Apotheken *Medika* einige Methoden ausgearbeitet, die die nicht ganz spezifische und langsame argentometrische Bestimmung nach Hydrolyse gut ersetzen können. Es handelt sich um die Bestimmung von Bromoform [69] in verschiedenen komplexen Arzneimitteln, wie im

Bromoformsirup und in anderen, auch fabrikmässig hergestellten Sirupen und Hustentropfen, und weiter um die Bestimmung von Ureiden der aliphatischen α-Bromsäuren [37], die als Sedativa in verschiedenen Gemischen verschrieben werden. Es wurde sogar eine Möglichkeit der Bestimmung von Brom-

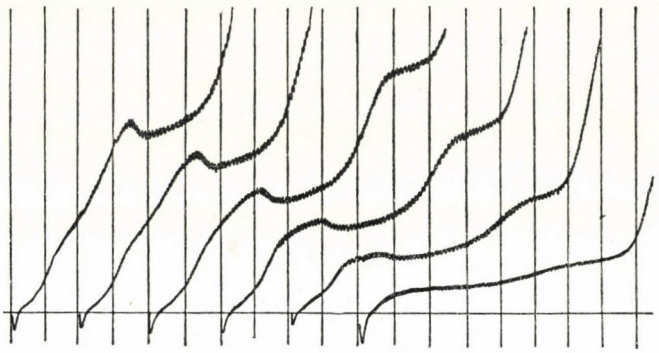


Abb. 12. Eichkurve des Bromoforms in 50% Sirup. bromoformii; c = 0 bis $2 \cdot 10^{-3}$m; Grundlösung 0,1 m NaBr, Luftsauerstoff mit Na_2SO_3 entfernt; von 0 V an (Hg-Boden), nach [6]

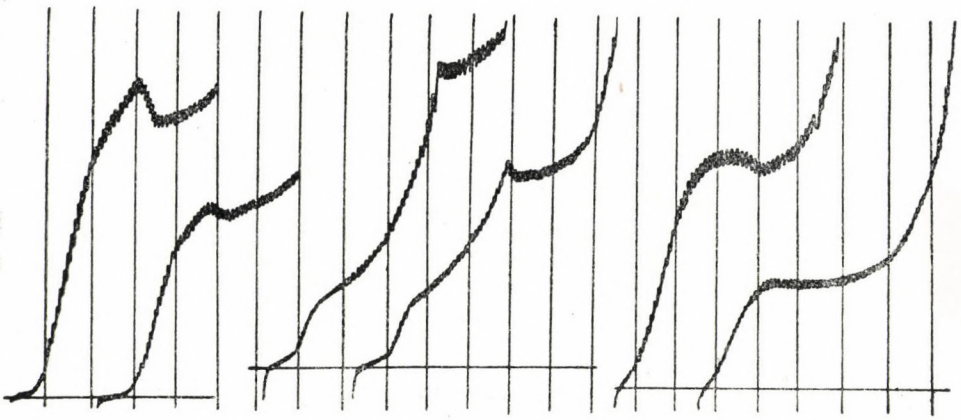


Abb. 13. Beispiele der Bestimmungen des Bromoforms in (von links nach rechts) a) Bromoformsirup, b) Apertuss-Hustentropfen, c) Benephorin-Hustentropfen. Nach [6]

ural und Adalin nebeneinander [37] entdeckt, die auf dem unterschiedlichen Verlauf der Hydrolyse dieser Arzneimittel in alkalischer Lösung beruht.

Stoffe, die an der Quecksilberelektrode oxydiert werden, kommen in der pharmazeutischen Praxis seltener als die reduzierbaren vor. Wichtig ist trotzdem die reversible Oxydation von *Hydrochinonen* und die semireversible Oxydation von *Endiolen*. Das Vitamin K_5 [38] kann mit Hilfe seiner reversiblen anodischen Stufe, die der Oxydation zu Chinonimin entspricht, bestimmt

werden. Die indirekte Bestimmung des Vitamins K_3 [69] (des esterifizierten Naphthochinons) wurde schon erwähnt. Die wichtigste Stellung unter den Bestimmungen mit Hilfe der anodischen Oxydationsstufen nimmt die Bestimmung der Ascorbinsäure ein. Sie erfolgt am besten in schwach saurer Lösung (Acetat-

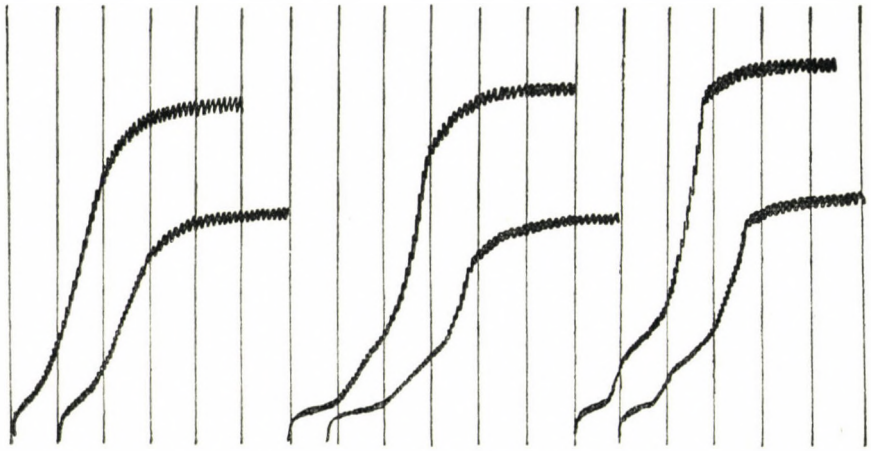


Abb. 14. Bestimmung des Bromurals in Veralgin-Tabletten: stets Eichzusatz und Probe; Grundlösungen von links nach rechts: 0,1 m HCl; 0,1 m Acetatpuffer pH 4,7; 0,1 m LiCl; kathod.-anodisch, von +0,2 V an (Hg-Boden), 200 mV/Absz. Nach [37]

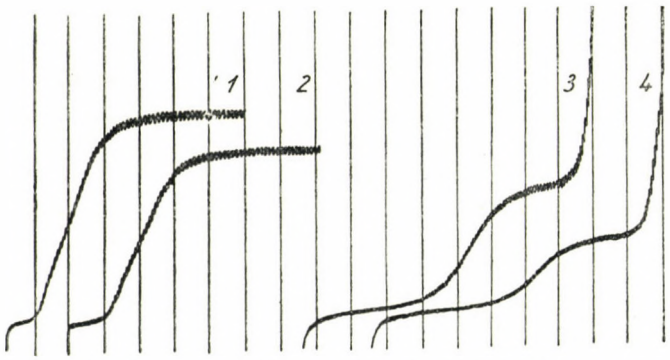


Abb. 15. Bestimmung des Bromurals neben Adalin; links die Bestimmung der Summe, rechts die Bestimmung des Bromurals als α-Bromisovalersäure (durch alkalische Hydrolyse gewonnen). Nach [37]

puffer pH 4,7) und wird durch Gegenwart von Sulfhydrylverbindungen nicht gestört [66, 67]. Die anodischen Oxydationsstufen der Tocopherole [68] haben sich bei ihrer Bestimmung nicht bewährt, so dass zu deren Bestimmung, wie schon erwähnt, indirekte Methoden [61] verwendet werden.

Auf ihrer Fähigkeit, anodische Stufen durch Bildung von unlöslichen od Komplexverbindungen mit Quecksilber zu geben, sind die polaro-

graphischen Bestimmungen von *Barbitursäure-* [40] und *Uracil*derivaten [41] und *Sulfhydryl*verbindungen [42] begründet. In diese Gruppe gehören : Luminal, Veronal, u. a., Vitamin B_1, BAL u. a.

Zu den *indirekten Bestimmungen* reiht man die schon erwähnten Einführungen der polarographisch aktiven Nitro-, Nitroso- und Ketiminogruppen und auch die Oxydation einer alkoholischen Gruppe zur aldehydischen. Zu den indirekten Methoden im engeren Sinne gehört z. B. die Bestimmung von Penicillin [43] mit Hilfe der polarographischen Welle der durch Zersetzung von Penicillin entstehenden Penicillensäure, die Bestimmung von Cardiazol [44] aus der Höhe der Cu-Stufe des Additionsproduktes von Cardiazol mit Kupfer, weiter die Bestimmung von Scopolamin [45] durch die polarographische Feststellung des Überschusses der Picrinsäure, mit der das Alkaloid gefällt wird

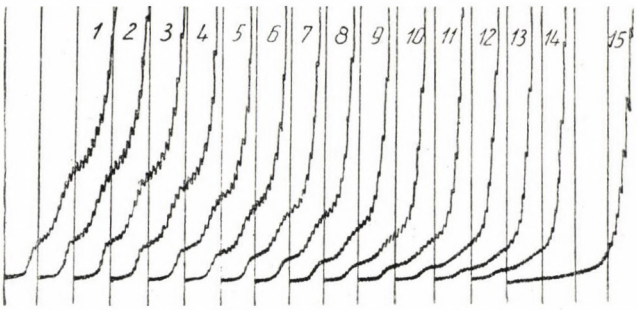


Abb. 16. Penicillin im Glycinpuffer pH 2,2 ; die Stufen entsprechen der Reduktion der Penicillensäure und werden von links nach rechts immer nach 5 (1 bis 8) oder nach 10 Minuten registriert. Nach [43]

und weiter die schon erwähnten Bestimmungen des Vitamins K_3 und der Tocopherole. Hierzu gehören aber auch die polarometrischen Titrationen, die sich bei der Bestimmung von Zink [46], von Spuren der Schwermetalle [7] und von verschiedenen Anionen [46] bewähren. In der organischen Analyse gibt es auch viele Anwendungsmöglichkeiten der polarometrischen Titrationen, wie z. B. bei der Bestimmung von Emetin [48] und Cephaelin [48] mit p-Diazobenzolsulfosäure, wobei in ähnlicher Weise auch Morphinalkaloide [22] titriert werden können. Zur Titration von Flavonen werden neuerdings Kupferlösungen empfohlen [23].

In der letzten Zeit dringt die *oszillopolarographische Methode* in der Pharmazie vor, die auch die Unterscheidung vieler Verbindungen ermöglicht, die der klassischen Polarographie nicht zugänglich ist. So können viele therapeutische Mittel, z. B. Sulfonamide [49], oder Isonicotinhydrazid neben freier Isonicotinsäure [50], verschiedene Alkaloide [51], lokalanästhetische Mittel [51] und Vitamine aus der Gruppe des Vitamins B [52] oszillopolarographisch unterschieden, sowie auch die Reinheit von Penicillin geprüft [53] werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde auf die Möglichkeiten der Anwendung der Polarographie in der pharmazeutischen Analyse und Kontrolle hingewiesen, und zwar mit Hilfe von direkten und indirekten Bestimmungen. Es wurden die verschiedenen Analysenvorgänge je nach den einzelnen Arzneimittelformen (Tinkturen, Extrakte, Tabletten usw.) und ausserdem auch die Unterschiede, die der chemischen Struktur der zu bestimmenden Verbindungen (Aldehyde, Ketone, Halogenderivate, heterocyclische Verbindungen, Chinone, Hydrochinone, Barbitursäurederivate usw.) entsprechen, beschrieben.

LITERATUR

1. F. Šantavý : Spisy vydávané přirodovědeckou Fak. Masarykovy Univ. (Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk) **19**, 29 (1945).
2. B. Bitter : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 677 (1950).
3. F. Šantavý : Časopis českého Lékárnictva **57**, 11 (1944).
4. A. Jindra, V. Jungr und J. Zýka : Českoslov. Farmac. **1**, 177 (1952).
5. R. Zumanová und P. Zuman : Pharmazie **9**, 554 (1954).
6. V. Volková und F. Icha : Českoslov. Farmac. **5**, 406 (1956).
7. A. D. Cooper und M. W. Green : J. Amer. Pharmac. Assoc. Sci. Edit. **42**, 317 (1953).
8. R. Přibil und Z. Roubal : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 366 (1953).
9. F. G. Jahoda : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **7**, 415 (1935).
10. J. Hobza und F. Šantavý : Časopis českého Lékárnictva **62**, 86 (1949).
11. F. Šantavý : Časopis českého Lékárnictva **56**, 1 (1943) ; **57**, 109 (1944).
12. V. Fořtová und J. Volke : Kongress prakt. Polarographie, Bratislava, **1952**, 99.
    J. Volke und V. Fořtová : Kongress prakt. Polarographie, Bratislava, **1952**, 104.
13. F. Šantavý und M. Černoch : Chem. Listy **46**, 81 (1952).
14. P. Zuman, J. Tenygl und M. Březina : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 46 (1954).
15. M. Březina, V. Volková and J. Volke : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 894 (1954).
16. J. Doskočil und M. Vondráček : Chem. Listy **46**, 564 (1952).
17. O. Tělupilová und V. Mašinová : Českoslov. Farmac. **2**, 226 (1953).
18. K. G. Stone und N. H. Furman : Anal. Chem. **19**, 105 (1947).
19. E. B. Hershberg, J. K. Wolfe und L. F. Fieser : J. Amer. Chem. Soc. **62**, 3517 (1940).
20. F. Šantavý, O. Čapka und J. Malinský : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 953 (1950).
21. I. M. Kolthoff und D. J. Lehmicke : J. Amer. Chem. Soc. **70**, 1879 (1948).
22. J. Berka und O. Nesvadba : Časopis českého Lékárnictva **63**, 33 (1950).
23. O. Čapka und J. Opavský : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 433 (1950);
    P. W. Engelkemeier, T. A. Geissman, W. R. Crowell und S. L. Friess : J. Amer. Chem. Soc. **69**, 155 (1947).
24. W. E. Detty, B. O. Heston und S. H. Wender : J. Amer. Chem. Soc. **77**, 162 (1955).
25. E. Knobloch : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **12**, 581 (1954).
26. G. Dušinský : Českoslov. Farmac. **2**, 227 (1953).
27. F. Šantavý : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **14**, 377 (1949).
28. E. Knobloch und E. Svátek : Chem. Listy **49**, 37 (1955).
29. Tschechoslowakisches Arzneibuch, 2. Ausgabe, Prag, 1954.
30. B. Novotný : Českoslov. Farmac. **3**, 199 (1954).
31. H. Baggesgaard-Rasmussen, C. Hahn und K. Ilver : Dansk Tidsskr. Farmaci **19**, 41 (1945).
32. C. Heusghem: Bull. Soc. Chim. biol. **31**, 1114 (1949).
33. B. Novotný : Čescoslov. Farmac. **3**, 85 (1954).
34. P. Zuman : Chem. Listy **46**, 521 (1952).
35. B. A. Gosman : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **7**, 467 (1935).
36. J. E. Page : Proc. I. internat. polarograph. Congress, Prague, **1951**, I, 193.
37. V. Volková : Českoslov. Farmac. **5**, 203 (1956)
38. E. Knobloch : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **14**, 508 (1949).
39. O. Hrdý : Českoslov. Farmac. **3**, 196 (1954).
40. P. Zuman, J. Koryta und R. Kalvoda : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 350 (1953) ;

J. KORYTA und P. ZUMAN: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 197 (1953).
41. O. MANOUŠEK und P. ZUMAN: Chem. Listy **49**, 668 (1955).
42. R. PLETICHA: Pharmazie **8**, 387 (1953);
P. ZUMAN: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **20**, 646 (1955).
43. E. KREJČÍ: Českoslov. Farmac. **4**, 73 (1955).
44. V. PARRÁK: Českoslov. Farmac. **3**, 42 (1954).
45. P. A. WENGER, D. MONNIER und H. SCHMIDGALL: Helv. Chim. Acta **35**, 1108 (1952).
46. R. KALVODA und J. ZÝKA: Českoslov. Farmac. **1**, 455 (1952).
47. R. KALVODA und J. ZÝKA: Časopis českého Lékárnictva **63**, 219 (1950).
48. A. JINDRA, V. JUNGR und J. ZÝKA: Českoslov. Farmac. **1**, 186 (1952).
49. R. KALVODA: persönliche Mitteilung.
50. J. VOLKE und V. VOLKOVÁ: Chem. Listy **48**, 1031 (1954).
51. R. KALVODA: Českoslov. Farmac. **3**, 124 (1954).
52. J. HEYROVSKÝ: Anal. Chim. Acta [Amsterdam] **12**, 600 (1955).
53. J. HEYROVSKÝ: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 739 (1953).
54. F. X. MAYER, H. JANSCH und G. MACHATA: Mikrochem. verein. Mikrochim. **38**, 59 (1951).
55. F. ŠANTAVÝ und O. HANČ: Časopis českého Lékárnictva **57**, 75 (1944);
O. HANČ und F. SANTAVÝ: Časopis českého Lékárnictva **59**, 40 (1946).
56. V. VOJÍŘ: Chem. Listy **46**, 129 (1952).
57. J. E. PAGE und J. G. WALLER: Analyst **74**, 292 (1949).
58. G. B. LEVY, B. SCHWED und J. W. SACKETT: J. Amer. Chem. Soc. **68**, 528 (1946).
59. F. ŠANTAVÝ: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **12**, 422 (1947).
60. J. K. WOLFE, E. B. HERSHBERG und L. F. FIESER: J. biol. Chemistry **136**, 653 (1940).
61. E. KNOBLOCH, F. MÁCHA und K. MNOUČEK: Chem. Listy **46**, 718 (1952).
62. G. DUSINSKÝ: Českoslov. Farmac. **2**, 225 (1953).
63. S. FOWLER und R. C. KAYE: J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 748 (1952).
64. J. B. DUNCAN und J. E. CHRISTIAN: J. Amer. Pharmac. Assoc. Sci. Edit. **37**, 507 (1948).
65. A. J. CARPENTER und E. KODÍČEK: Biochem. J. **42**, 11 (1948).
66. K. SCHWARZ: Z. anal. Chem. **115**, 161 (1939).
67. M. BŘEZINA und P. ZUMAN: Polarografie v lékařství, biochemii a farmacii (Zdravotnické nakladatelstvi, Praha) 1952, 225—234.
68. L. I. SMITH, L. J. SPILLANE und I. M. KOLTHOFF: J. Amer. Chem. Soc. **64**, 447, 644 (1942).
69. V. VOLKOVÁ und F. ICHA: Českoslov. Farmac. im Druck.

DISKUSSION

L. SZLÁVIK: Ich möchte fragen, ob Sie bei der Bestimmung des Ipecacuanha-Alkaloides ein reines Präparat oder auch einen reinen Extrakt verwendet haben?

V. VOLKOVÁ: Ich persönlich arbeitete nicht auf diesem Gebiete, aber mein Kollege, der sich damit befasste, arbeitete auch mit Extrakten.

L. SZLÁVIK: Ist in Extrakten die Bestimmung der Ipecacuanha-Alkaloide, der insgesamt 5 Alkaloide nebeneinander möglich?

V. VOLKOVÁ: Sind diese Alkaloide verwandt?

L. SZLÁVIK: Sie sind: Emetin, Cephalin, Psychotrin, Emetamin und o-Methyl-Psychrotin.

V. VOLKOVÁ: Meiner Meinung nach ist zuerst die Summe der Alkaloide mit Amino- und phenolischen Gruppen durch polarometrische Titration mit p-Diazobenzol-sulfosäure zu bestimmen und dann die Alkaloide phenolischen Charakters polarographisch nach Nitrosierung.

L. SZLÁVIK: Und Emetamin?

V. VOLKOVÁ: Das wurde polarographisch noch nicht untersucht. Man kann höchstens eine sehr negative Stufe erwarten.

B. KELENTEI: Unter der Leitung von Prof. VÁLYI-NAGY befasst sich das Pharmazeutische Institut in Debrecen seit mehreren Jahren mit Antibiotikum-

Forschung. Die Titrierung der Antibiotika erfolgt auf biologischem Wege. V. VOLKOVÁ berührte in ihrem Vortrag die polarograhische Bestimmung der Antibiotika. Meine konkrete Frage lautet: Welche ist speziell bei der Bestimmung des Chloromycetins die kleinste nachweisbare Menge und welche Spezifität besitzt die Methode?

V. VOLKOVÁ: Dr. KNOBLOCH wird in dem folgenden Vortrag diese Frage ausführlich besprechen. Jetzt sei nur erwähnt, dass im flüssigen Nährboden 1—10 Chloromycetin γ/ml unmittelbar zu bestimmen sind, was gegenüber der biologischen Titrationen, bei denen man 8—20 Stunden warten muss, einen grossen Vorteil bedeutet.

Frau Dr. L. RÁCZ: In unserem Institut werden die Ketosteroide nach der Methode von NORYMBERSKY, mit Hilfe der ZIMMERMANN-Reaktion photometrisch studiert. Wir haben die Absicht auch polarographisch zu arbeiten. Wir erwarten deshalb mit grossem Interesse, welche Methode Sie uns hierfür vorschlagen. Meine zweite Frage: Die Methode kann durch Girard D verfeinert werden. Welche Vorteile hat Girard LD gegenüber Girard T?

V. VOLKOVÁ: Neben mehreren Vorteilen ist es leichter zu bekommen. Das ist Dimethylamino-acetylhydrazid.

Frau Dr. L. RÁCZ: Soll es immer frisch bereitet sein?

V. VOLKOVÁ: Nein; das ist nicht nötig. Die Lösung des Reagents kann einige Tage verwendet werden.

POSSIBILITIES OF THE PHARMACEUTICAL APPLICATION OF POLAROGRAPHY

V. Volková

(Polarographic Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

The possibilities of applying polarography for the analysis and control of pharmaceutical preparations with the use of direct and indirect determinations are discussed. Various analytical processes for certain types of drugs (as tinctures, extracts, tablets, etc.) are described and the differences between the chemical structure of compounds to be determined (such as aldehydes, ketones, halogen derivatives, heterocyclic compounds, quinones, hydroquinones, derivatives of barbituric acid, etc.) are treated from the point of view of polarography.

Dr. VERA VOLKOVÁ Praha I. Vlašska 9.

EINIGE ANWENDUNGEN DES AMPEROMETRISCHEN TITRATIONSVERFAHRENS IN DER ARZNEIMITTEL-ANALYSE

Frau G. Bozsai

(Abteilung für Chemie des Landesinstitutes für Hygiene, Budapest)

Die Entwicklung der Methoden der Arzneimittelanalyse läuft mit der Entwicklung der Arzneimittelversorgung und Herstellung parallel. Bei der Prüfung der magistral zubereiteten Präparate werden ausser den einfachen Identifizier-Reaktionen auch gravimetrische Verfahren angewandt, deren Grundlage gewöhnlich die Ausschüttelung, das Aussiehen mit einem organischen Lösungsmittel ist. Weiterhin werden volumetrische Methoden benützt. Infolge ihrer Einfachheit verbreitete sich die Kolorimetrie schnell in der Arzneimittelanalyse. Von den elektroanalitischen Verfahren werden neuerdings die potentiometrische Titration in nichtwässerigen Lösungen und die amperometrischen Methoden angewandt.

In den letzten Jahren wurden die amperometrischen Methoden zur Bestimmung zahlreicher als Medikament angewendeter organischer Verbindungen ausgearbeitet [1], wie z. B. die Bestimmung der aromatischen Amine (Sulfothiazol) mit p-Diazobenzolsulfonsäure, die Bestimmung der Aminosalicylsäure und Aminophenol mit $KBrO_3$, die der Barbiturate und Antipyrin mit Hg(II)-Ionen, die Bestimmung des Dihydrostreptomycins mit Azofarbstoffen, Bestimmung von Glycerophosphat mit Pb(II)-Ionen, Bestimmung des Morphins mit $K_2Cr_2O_7$, von Tocopherol mit $HAuCl_4$ usw.

In unserer Abteilung wurden die amperometrischen Methoden bei der Lösung arzneimittelanalytischer Probleme mit Erfolg angewendet. Solche sind z. B. die chromatometrische As(III)-Bestimmung neben Fe(III), die Titrierung der Alkaloid-Salze mit $AgNO_3$, die Bestimmung des Zinkes in Streupulvern mit $K_4[Fe(CN)_6]$, die Bestimmung des Phenacetins mit $K_2Cr_2O_7$.

Die Bestimmung des organisch oder anorganisch gebundenen Arsens in Arzneipräparaten ist eine häufige Aufgabe. Die Methode wurde in Makro- und Halbmikromassstab von Schulek und Villecz entwickelt, dann durch Schulek und Wolstadt, bzw. durch Schulek und Rózsa verbessert. Neuerdings wiesen Boldizsár und Kerényi darauf hin, dass das zur Anzeige des Endpunktes vorgeschlagene p-Äthoxy-Chrysoidin durch photochemische Wirkung sich verändert und ein Mehrverbrauch von Bromat auftritt [2]. Der durch den Masslösungverbrauch des Indikators und die beschränkte Empfindlichkeit des

Auges hervorgerufene Fehler kann durch amperometrische Endpunktanzeige vermieden werden [3]. Die amperometrische Indikation mit der rotierenden Platinelektrode ermöglicht die Arbeit mit stark verdünnten (0,001n) Lösungen und die Bestimmung von kleinen Stoffmengen (0,2—0,3 mg). Die Genauigkeit der Titrierung ist auch im Mikro-Masse $\pm 1\%$.

Die Grundlage unserer Arbeit ist die Oxydation des As(III) zu As(V) mit einem Überschuss von $K_2Cr_2O_7$, wobei das überschüssige Bichromat mit Hilfe der zu + 1,0 V polarisierten, rotierenden Platinelektrode mit Fe(II) Ionen titriert wird. Ist As nicht als As_2O_3 anwesend, bzw. ist ein organischer Stoff zugegen, der die Oxydation durch Bichromat stört, so wird die SCHULEK—VILLECZsche Zerstörung durchgeführt. As(III) reagiert mit Bichromat nicht augenblicklich, es wird also vor der Titrierung 10 Minuten lang gewartet.

Da in Arzneimitteln oft Eisen neben Arsen vorkommt, untersuchten wir seine eventuell störende Wirkung und stellten fest, dass die Bestimmung durch Eisen nicht beeinflusst wird. Diese Methode kann z. B. zur Bestimmung des Arsens in *Tinctura pomi ferrata* gut gebraucht werden.

As_2O_3 Einwaage γ	Zugegebene Stoffmenge	As_2O_3 gemessen	Abweichung %
236,40		234,91	— 0,63
294,52		294,26	— 0,09
352,65		351,14	— 0,43
236,40	0,1 ml *Tinctura pomi ferrata*	233,46	— 1,26

Beschreibung des Verfahrens

Aus einer von organischen Stoffen freien As(III)-Stammlösung wird eine 150—300 γ Stoff entsprechende Menge in ein breites 100 ml Becherglas gegeben, 25 ml Wasser, 3 ml 50%-ige Schwefelsäure und 10 ml 0,001n Kaliumbichromat zugegeben. Nach 10 Minuten wird der Bichromatüberschuss mit $6 \cdot 10^{-3}$ n Mohr-Salzlösung titriert.

Ist As nicht als As_2O_3 vorhanden, bzw. ist es von einem die Oxydation störenden organischen Stoff begleitet, so muss dieses nach SCHULEK und VILLECZ zerstört werden. Das enstandene As(V) wird zu As(III) reduziert. Zur Zersetzung genügen wegen der kleinen Einwaage die sowieso zugegebenen 3 ml 50%iger Schwefelsäure. Nach der Zersetzung mit H_2SO_4-H_2O_2, wird 10 Minuten lang mit 0,05—0,10 g Hydrazinsulfat reduziert, der Rest mit 25 ml Wasser in ein 100-ml Becherglas gespült und weiter gemäss dem Obigen vorgegangen.

Die benutzten Lösungen sind:

0,04904 g $K_2Cr_2O_7$ in 1 l Wasser;
0,006n Mohr-Salzlösung: 2,3528 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ + 300 ml 50%ige Schwefelsäure in 1 l Lösung.

Die argentometrische Bestimmung der Halogen-Ionen kann zur Analyse der Halogensalze der organischen Basen auf Grund ihres Halogengehaltes benutzt werden [4]. Die argentometrische Bestimmung der Halogen-Ionen mit der rotierenden Platinelektrode wurde erstmals von LAITINEN, JENNINGS und PARKS entwickelt [5]. Aus der Arzneianalytik kann bisher nur die Arbeit von MADER und FREDIANI erwähnt werden [6]. Die letzteren Verfasser bestimmten den Halogengehalt einiger komplizierter, Chlor und Jod enthaltender Arzneimittel (z. B. Methyl-bis-chloroäthylaminhydrochlorid) amperometrisch.

Der Chloridgehalt der Alkaloidsalze wurde bisher mit der bekannten VOLHARDschen Titrierung bestimmt. Unter den besonderen Bedingungen der Arzneimittelanalyse stösst die Methode auf Schwierigkeiten. Das als Indikator angewendete Fe(II)-Salz gibt mit organischen Verbindungen (Phenol-OH) eine Farbenreaktion, wodurch die Feststellung des Endpunktes der Titrierung oft unmöglich wird. Das ist z. B. bei der Bestimmung von Alkaloiden neben Amidazophen, Salicylsäure oder Azophen der Fall.

Dieser Nachteil fällt bei der Anwendung der amperometrischen Methode der Chloridbestimmung weg.

Die Grundlage der Titrierung ist der $Ag^+ + Cl^- = AgCl$ Vorgang. Ag^+ gibt den Diffusionsstrom. Die rotierende Platinelektrode und die Kalomelelektrode werden unmittelbar mit dem Mikroamperemeter verbunden. Eine äussere Stromquelle ist nicht nötig. Die Kurve der Titrierung hat eine umgekehrte L-Form. Zur Vermeidung des Ausfallens von Silberchlorid wird als Schutzkolloid Gelatine angewendet. Zur Verminderung der Löslichkeit wird der Lösung Aceton zugegeben. Die Methode ist zur Bestimmung des Alkaloidgehaltes von Arzneimischungen neben Amidazophen, Koffein-Natriumsalicylat, Acetylsalicylsäure, Chininsulfat besonders geeignet. Die Fehlergrenze beträgt bei einer zehnfachen fremden Stoffmenge $\pm 1{,}5\%$.

Die Bestimmung geschieht folgendermassen: Eine ungefähr 10—20 mg (bei der Mikromethode 1—5 mg) Cl^- entsprechende Menge des zu prüfenden Arzneimittels wird eingewogen, 10 ml Wasser, 10 ml 25%ige Salpetersäure, 5 ml 1%ige Gelatinelösung und 30 ml Aceton in einem 100 ml Becherglas zugegeben. In die Lösung werden die rotierende Platinelektrode und die Kalomelelektrode eingeführt, der Motor eingeschaltet und mit 0,01n Silbernitrat titriert.

1 ml der 0,01n $AgNO_3$ Lösung zeigt 0,000355 g Cl an.

Die Bestimmung des Codein-HCl auf Grund seines Cl-Gehaltes kann mit einer durchschnittlichen Genauigkeit von 0,5 mg% durchgeführt werden.

Die amperometrische Titrierung ist besonders dort gut geeignet, wo die Bestimmung der Alkaloid-Salze in Arzneimischungen mit den üblichen Metho-

den unmöglich ist. Besonders versagt die VOLHARDsche Titrierung bei Amidopyrin, Antipyrin, Salicylsäure, Digitalis-Pulver. Hier muss die Probe verbrannt, oder der störende Bestandteil durch Ausschütteln entfernt werden.

Die amperometrische Titrierung mit der rotierenden Platinelektrode wird durch diese Stoffe nicht gestört. Die Bestimmung des Endpunktes ist ebenso leicht, wie bei den reinen Alkaloidsalzen. Der praktische Wert der Untersuchungen ist dadurch gegeben, dass unter den alltäglich geprüften Arzneimischungen die Alkaloidsalze eben von diesen Stoffen begleitet werden.

Auf diese Weise wurde der Cl^--Gehalt von anderen Alkaloidsalzen (z. B. Papaverin, Ethylmorphin, Ephedrin) auch mit guten Ergebnissen bestimmt.

Die folgenden Beispiele zeigen die Brauchbarkeit der Methode :

Codein-HCl Einwaage mg	Zugegebener Stoff	Codein-HCl gefunden mg	Abweichung mg %
9,81		9,85	0,40
15,45		15,39	0,39
22,80		22,87	0,20
30,70	300 mg Amidazophen	30,43	1,21
19,00	300 mg Acetylsalicylsäure	18,88	0,63
25,80	300 mg Antipyrin	25,46	1,32
15,45	300 mg Chininsulfat	15,43	0,13

Einer der häufigsten Wirkstoffe der Streupulver und der Trocknungssalben ist das Zinkoxyd. Die einfachste Bestimmung dessen ist die gravimetrische Messung des Glührückstandes. Neben Begleitstoffen, wie neben Talkum, *Bolus alba*, Glycerin, Schwefel, Borsäure, Wismuthsalze, Kalialaun ist sie jedoch nicht brauchbar.

Die Fällung des Zinkes in Form von Zinkammoniumphosphat ist sehr genau und kann neben den erwähnten Stoffen, mit Ausnahme von Kalialaun, nach der vorangehenden Auslösung des Zinkes durchgeführt werden [7]. Die Bestimmung ist jedoch langwierig.

Nach unseren Untersuchungen ist zur Bestimmung des Zinkgehaltes von Arzneipräparaten die Titrierung mit Kaliumhexacyanoferrat (II) am besten geeignet. Diese Reaktion wurde zur quantitativen Bestimmung des Zinkes erstmals von GALETTI angewendet [8]. Die Reaktionsgleichung ist die folgende :

$$3\,Zn^{2+} + 2\,K_4\,[Fe(CN)_6] = K_2Zn_3\,[Fe(CN)_6]_2 + 6\,K^+ .$$

Er benützte zur Anzeige des Endpunktes die Tüpfelprobe mit einer Uranylacetat- oder Ammoniummolybdat-Lösung. Diese Indikation ist umständlich und die Beobachtung des Endpunktes der Titrierung schwierig. Die Endpunktanzeige mit der rotierenden Platinelektrode, welche die Schwierigkeiten

beseitigt, wurde von BUTYENKO und RINSKAYA eingeführt [9]. Die Bedingungen der Titrierung, besonders die Alkali-Adsorption, die zu hohen Ergebnissen führt, wurden von KALVODA [10] studiert.

Ziel meiner Untersuchungen war die Feststellung der störenden Wirkung der organischen und anorganischen Begleitstoffe in den Zinkoxyd-Streupulvern und Trocknungssalben [11].

Die Versuche wurden mit der Bestimmung des Zinkgehaltes solcher Zinklösungen begonnen, deren Zinkgehalt vorangehend nach WINKLER festgestellt wurde. Zur Bestimmung wurde eine wässerige Stammlösung hergestellt und deren 10—20 mg Zn enthaltende Teile wurden in ein 150 ml Becherglas eingeführt. 10 ml 10%ige Schwefelsäure und 2 g Ammoniumphosphat wurden zugegeben und dann bei + 0,8 V mit 0,025m Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung titriert. Letztere stellte man durch Lösen von 1/40 Teil des Molekulargewichtes, also 10,5586 g des analytisch reinen Salzes in Wasser zu 1000 ml her.

(Aus der Reaktionsgleichung geht hervor, dass 3 Molgewichte Zink mit 2 Molgewichte Kaliumhexacyanoferrat(II) äquivalent sind, die äquivalente Menge des Zinkes ist der 3/80 Teil des Atomgewichtes.) 1 ml 0,025m Kaliumhexacyanoferrat(II) gibt 2,45 mg Zn an.

Zink Einwaage mg	Zink gefunden mg	Abweichung %
7,39	7,33	— 0,82
7,39	7,40	+ 0,13
15,08	14,95	— 0,87

Es ist ersichtlich, dass kleine Mengen von Zink sehr schnell und einfach innerhalb einer Genauigkeit ±1% zu bestimmen sind. Die erforderliche Zeit ist samt Einwaage 10 Minuten. Die gravimetrische Bestimmung erfordert demgegenüber 24 Stunden.

Im Falle von Zinkoxyd geht man ebenso vor mit dem Unterschied, dass das Zinkoxyd erst in 10%iger Schwefelsäure gelöst wird.

Das angewendete ZnO erwies sich als 95,05%ig, was in den späteren Versuchen natürlich berücksichtigt wurde.

Im zweiten Teil meiner Versuche wurde untersucht, unter welchen Umständen und mit welcher Genauigkeit die Methode in Anwesenheit von Begleitstoffen bei Arzneispezialitäten und magistral bereiteten Medikamenten anwendbar ist.

Die meist vorkommenden Begleitstoffe sind die folgenden: Borsäure, Schwefel, Talcum, *Bolus alba*, Kalialaun und in gegebenen Falle kommt bei uns auch Wismuth-tetrabrom-pyrocatechinicum vor.

Zink Einwaage mg	Zugegebener Stoff		Zn gefunden mg	Abweichung %
	Name	Gewicht (mg)		
7,39	Borsäure	100,0	7,35	— 0,54
7,39	Schwefel	100,0	7,38	— 0,13
7,25	Kalialaun	22,0	7,38	+ 1,79

Mit der Ausnahme von Kalialaun hatten wir die erwartete Zinkmenge in jedem Falle mit grosser Genauigkeit gefunden. Die Methode ist jedoch auch neben Kalialaun brauchbar, da die erreichte Genauigkeit den praktischen Forderungen entspricht und die Trennung des Zinkes und des Aluminiums übrigens recht schwer ist.

Ausgehend aus einem Falle, wo in einer, in der Praxis angewendeten Salbe neben Zinkoxyd auch Wismuthtetrabrom-pyrocatechinicum war, wurde auch die Bestimmung des Zinkes neben Wismuth untersucht. Zu diesem Zweck wurde das Zinkoxyd einerseits neben säurelöslichem basischen Wismuthnitrat, anderseits neben säureunlöslichem Wismuthtetrabrom-pyrocatechinicum bestimmt.

Das Verfahren bei säurelöslichem Wismuthsalz war folgendes: Die Zink und Wismuth enthaltende Lösung wurde mit 10%igem Ammoniak alkalisiert bis Fällung auftritt, dann wurde über Watte filtriert, mit 20—30 ml Wasser gewaschen, mit etwa 15—20 ml 10%iger Schwefelsäure angesäuert und mit 0,025m Kaliumhexacyanoferrat(II) titriert.

Die Zinkbestimmung neben dem säureunlöslichen Wismuthsalz verlief folgendermassen: Ein 100—200 mg ZnO enthaltender Teil der Pulvermischung wurde in einen Messkolben eingewogen, mit 10%iger Schwefelsäure bis zur Marke aufgefüllt und nach mehrmaliger Schüttelung filtriert. Ein aliquoter Teil der Lösung wurde mit 10%igem Ammoniak versetzt um das geringe gelöste Wismuthsalz zu trennen. Im weiteren wurde die vorangehende Vorschrift eingehalten.

In den Streupulvern kommt meistens *Bolus alba* oder Talkum vor. Die Zinkbestimmung neben diesen gehört nicht zu den leichten Aufgaben.

Das Verfahren mit Kaliumhexacyanoferrat(II) kann in diesen Fällen ebenso angewendet werden, wie im Falle des säureunlöslichen Wismuthsalzes mit dem Unterschied, dass sich hier das Filtrieren erübrigt. Die Herstellung einer Stammlösung ist empfehlenswert um eine Fehlerquelle durch die höhere Einwaage zu vermeiden, und das Herauslösen des Zinkoxids durch Schütteln mit der Schwefelsäure zu verbessern.

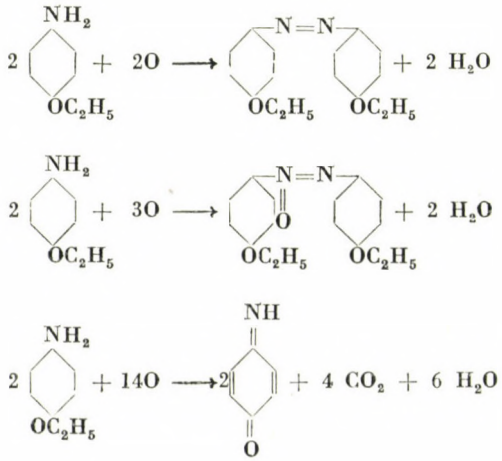
Zinkoxyd Einwaage mg	Zugegebener Stoff		Zinkoxyd gefunden mg	Abweichung %
	Name	Gewicht m		
9,20	basisches Wismuthnitrat	10,0	9,15	— 0,55
18,77	« «	10,0	18,69	— 0,43
27,61	« «	10,0	27,39	— 0,80
11,80	säureunlösliches Wismuthsalz	12,0	11,74	— 0,76
23,61	« «	24,0	23,18	— 1,82
15,47	*Bolus alba*	16,0	15,38	— 0,60
13,71	« «	14,0	13,60	— 0,81
5,98	Talkum	6,0	5,89	— 1,51
6,77	«	7,0	6,74	— 0,44

Es ist ersichtlich, dass der Zinkgehalt von Streupulvern auch in Anwesenheit von *Bolus alba* und Talkum sehr genau bestimmt werden kann.

Die amperometrische Titrierung ermöglicht den Einblick in die komplizierten Oxydationsverhältnisse einiger als Arzneimittel angewendeter organischer Verbindungen [12]. Es sind Verbindungen bekannt, wie z. B. Phenacetin, für die keine entsprechenden volumetrischen Methoden vorhanden sind. Mit Laugen oder Säuren gekocht, hydrolysiert es, und es bildet sich Phenetidin. Durch Einwirkung von oxydierenden Stoffen entstehen wahrscheinlich Azo-, Azoxy-, und Chinoid-Verbindungen. Bei der Untersuchung der Oxydationsverhältnisse und Hydrolyse des Phenacetins stellten wir fest, dass der Sauerstoffverbrauch — bei Anwendung von Kaliumbichromat als Reagenz — eine Funktion der Reaktionszeit und der Säurenkonzentration ist. Steigern wir die Säurekonzentration, so nimmt das Sauerstoffäquivalent zu. In konzentriertem Schwefelsäuremedium werden 6—7 Äquivalente verbraucht, gegenüber 2 im normalen Falle. Die geringe Überoxydation kann wahrscheinlich den Azoxy-Gruppen, die kräftige dagegen der Entstehung des Chinonimids zugeschrieben werden. Die während der Hydrolyse entstandene Essigsäure nimmt an der Oxydation nicht teil. Die Untersuchung der Oxydationsverhältnisse deutete auf die Ursachen der Fehler der oxydimetrischen Bestimmung des Phenacetins.

Die Hydrolyse erfordert Erwärmung und hohe Säurenkonzentration, wobei neben gleichzeitiger Anwesenheit von Bichromat Überoxydation entsteht. Wählen wir demgegenüber eine niedrige Säurekonzentration, die für die Oxydation günstiger ist, so wird die Entstehung des Phenetidins unvollständig und wir bekommen einen niedrigen Wert. Die Hydrolyse und die Oxydation müssen getrennt durchgeführt werden.

Oxydieren wir mit Cerisulfat, so beobachten wir keine Überoxydation. Unmittelbar nach der Hydrolyse mit 50%iger Schwefelsäure titriert ergab sich ein Sauerstoffverbrauch von 2 Äquivalenten.



ZUSAMMENFASSUNG

Im Ungarischen Staatlichen Institut für Hygiene wurde u. a. organischen und anorganischen Verbindungen Arsen mit Kaliumbichromat auch neben Eisen amperometrisch bestimmt. Neben Pyramidon, Acetylsalicylsäure, Antipyrin und Pulv. Digitalis wird Cl^- amperometrisch mit Silberionen bestimmt. In Streupulvern und Emulsionen neben grossem Überschuss von Talkum, Glyzerin, Schwefel, Alumen, Borsäure und Wismuthsalzen kann Zink amperometrisch mit Kaliumhexacyanoferrat(II) nachgewiesen werden. Die amperometrische Methode ermöglicht auch das Studium des Oxydationsprozesses organischer Verbindungen (wie z. B. Phenetidin).

LITERATUR

1. N. KONOPIK: Österr. Chemiker Ztg. **55**, 127 (1954).
2. E. SCHULEK und R. WOLSTADT: Z. anal. Chem. **108**, 400 (1932).
   E. SCHULEK und P. WILLECZ: Z. anal. Chem. **76**, 81 (1928).
   E. SCHULEK und P. RÓZSA: Z. anal. Chem. **115**, 185 (1938).
   I. BOLDIZSÁR und I. KERÉNYI: Magyar Kémiai Folyóirat **59**, 139 (1953).
3. G. BOZSAI und V. GERVAY: Gyógyszerésztud. Értesítő (Acta pharmac. hung.) **25**, 54 (1955)
4. G. BOZSAI: Gyógyszerésztud. Értesítő (Acta pharmac. hung.) **24**, 49 (1954).
5. H. A. LAITINEN, W. P. JENNINGS und T. D. PARKS: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **18**, 358 (1946).
6. W. J. MADER und H. A. FREDIANI: J. Amer. Pharmac. Assoc. Sci. Ed. **40**, 24 (1951).
7. L. WINKLER: Z. anal. Chem. **30**, 301 (1917).
8. X. GALETTI: Z. anal. Chem. **4**, 213 (1865).
9. G. A. BUTENKO und J. S. RYNSKAJA: Ж. Анал. Хим. (Z. anal. Chemie) **5**, 145 (1950).
10. R. KALVODA und I. ZÝKA: Chem. Listy **44**, 1 (1950).
11. G. BOZSAI: im Druck.
12. G. BOZSAI: Bisher nicht publiziert.

APPLICATIONS OF THE AMPEROMETRIC TITRATION METHOD IN THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

G. Bozsai

(Department for Chemistry, State Institute for Public Health, Budapest)

Summary

Among other organic and inorganic compounds, an amperometric titration method applied in the Institute is described for the determination of arsenic by potassium dichromate, even in the presence of iron. For the determination of Cl^- in the presence of pyramidone, acetylic acid, antipyrine and *Pulv. Digitalis* an amperometric titration with silver ions is used. In baby powders and emulsions zinc may be detected in the presence of an appreciable excess of talcum, glycerol, sulphur, alum, boric acid and bismuth salts, by potassium hexacyanoferrate(II), with the use of the amperometric method. In addition to these, various oxidation processes of organic compounds (as phenetidine) may readily be studied by the amperometric titration method.

Frau Dr. Gabriella BOZSAI Budapest, IX. Gyáli út 4.

DIE QUANTITATIVE OSZILLOGRAPHISCHE POLAROGRAPHIE EINIGER ALKALOIDE

L. MOLNÁR

(Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Bratislava)

Alkaloide und andere hochmolekulare organische Stoffe geben in alkalischem Medium charakteristische Einschnitte auf der oszillographischen Ellipse der Grundlösung. Für einige Depolarisatoren dieser Gruppe sind diese Einschnitte nicht charakteristisch und zeigen wahrscheinlich bloss eine katalytische Einwirkung des betreffenden Stoffes an.

Auf Grund dieser Einschnitte könnte man die Stoffe zwar quantitativ bestimmen, aber nur in reinen Lösungen. Ein qualitativer Nachweis mittels dieser ist nicht möglich.

Die blutdruckerniedrigende (hypotensive) Wirkung einiger Alkaloide des *Veratrum album* ist bekannt. Die Gewinnung dieser aus der Droge erfordert eine grosse Vorsicht wegen der hohen Empfindlichkeit der Alkaloide, weil die wirksamen unter ihnen Ester sind und bei der Gewinnung leicht Verseifung eintreten kann. Bei der Gewinnung unterscheiden wir je nach der Wirksamkeit zwei Fraktionen :

1. Die biologisch aktive und
2. die biologisch inaktive Fraktion.

Zu der ersten gehören Protoveratrin A und B, Veratramin und Veratridin, zu der zweiten Jervin, Pseudojervin, Rubijervin, Cevin, Protocevin, Cevagenin, Cevadin usw. Diese Alkaloide können durch fraktionierte Extraktion nach CRAIG, oder chromatographisch nach REICHENSTEIN getrennt werden. Die erzielte Reinheit wurde chromatographisch, biologisch und durch Titration an Versuchstieren kontrolliert. Es hat sich als notwendig erwiesen, eine Kontrollmethode auszuarbeiten, mit der man den Reinigungsprozess leicht verfolgen kann, so dass dadurch der technologische Gang der Reinigung weder gestört, noch verlangsamt wird.

Auf Grund unserer Erfahrungen, dass Jervin polarographisch aktiv ist [4], haben wir vorausgesetzt, dass es auch oszillographische Einschnitte gibt. Die Versuche haben unsere Voraussetzung bestätigt. Jervin und Pseudojervin geben in 1n LiOH- und 1n LiCl-Elektrolyten, weiters in 1n HCl sehr charakteristische und gut definierbare Einschnitte. Pseudojervin und Jervin geben das gleiche Oszillogramm in 1n HCl (Abb. 1).

Cervin, Protocervin, Cevagenin geben in beiden Elektrolyten ähnliche Oszillogramme. Praktisch haben uns nur die biologisch aktiven Alkaloide interessiert. Von den Alkaminen gibt das Protoveratrin, dessen hypotensive Wirkung am grössten ist, in 1n LiCl einen gut definierbaren Einschnitt (Abb. 2), in 1n LiOH und 1n HCl gibt es keine Einschnitte. Veratramin gibt in 1n LiCl zwei Einschnitte (Abb. 3), in 1n LiOH nur einen, und in 1n HCl verhält es sich ganz unterschiedlich, weil es nur einen anodischen Einschnitt gibt. Der Mono-

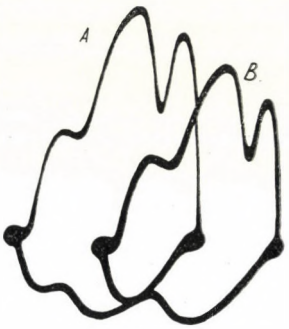


Abb. 1
A) $5 \cdot 10^{-5}$m Pseudojervin in 1n HCl
B) $5 \cdot 10^{-5}$m Jervin in 1n HCl

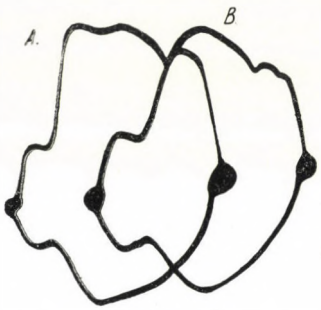


Abb. 2
A) $2{,}4 \cdot 10^{-5}$m Protoveratrin in 1n LiCl
B) $2{,}4 \cdot 10^{-5}$m Puroverin Sandoz in 1n LiCl

Abb. 3
$1{,}8 \cdot 10^{-4}$m Veratramin in 1n LiCl

ester Veratridin, der biologisch auch aktiv ist, gibt in 1n LiCl einen ähnlichen Einschnitt, aber bei positiverem Potential. Der Nachweis der Veratrumalkaloide durch oszillographische Polarographie hat eine grosse Bedeutung bei ihrer fraktionierten Trennung. Die Reinheit einzelner Fraktionen wurde an Versuchskatzen und weiters mit Papierchromatographie geprüft.

Beide letzteren Kontrollmethoden beanspruchen längere Zeit, was für den technischen Prozess nachteilig ist, weil es nicht nur einen Zeitverlust bedeutet, sondern auch eine Möglichkeit zur Zersetzung der empfindlichen Ester durch längeres Stehen darstellt. Mit der oszillographischen Polarographie kann in

einigen Minuten festgestellt werden, ob es sich bei dem vorliegenden Produkt um eine biologisch aktive oder inaktive Fraktion handelt, bzw. von welcher Fraktion die vorliegende Probe mehr enthält. Auf Grund dieser Bestimmung kann der technologische Prozess weitergeleitet werden.

Die Methode hat weiter eine grosse Bedeutung bei der Reinheitsbestimmung. Aus Abb. 2 ist ersichtlich, dass das in unserem Institut erzeugte Protoveratrin ein ähnliches Oszillogramm hat wie das »Puroverin« der Firma Sandoz. Die Oszillographie hat zur erfolgreichen Isolation der Veratrumalkaloide beigetragen. Es gelang uns mit meinen Mitarbeitern TOMKO, SELECKÝ und MARKOVIČ nachzuweisen, dass die oszillographisch identifizierten Stoffe sich bei Tierversuchen chromatographisch gleich verhalten, was eine gegenseitige Kontrolle und Auswertung ermöglicht.

Abb. 4
$1{,}2 \cdot 10^{-5}$m Chinin, und $1{,}2 \cdot 10^{-5}$m Chinidin in 1n LiCl. Beide Kurven überdecken sich. Beobachtet mit Hilfe eines Zweistrahlenoszillographen

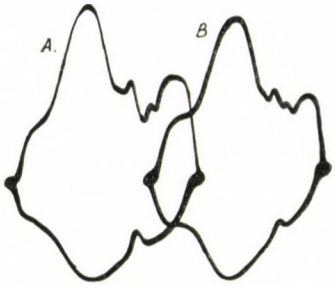


Abb. 5
A) 10^{-5}m Cinchonidin in 1n HCl
B) 10^{-5}m Chinin in 1n LiCl

Bemerkenswert ist das Verhalten der China-Alkaloide. Mit der Polarographie dieser haben sich hauptsächlich UFFELIE, KIRKPATRICK und ŠANTAVÝ befasst [1, 2, 3].

Die Reaktion entspricht einer Reduktion unter Aufnahme von 4 Elektronen, die sich an dem Chinolinring und nicht an der Doppelbindung der Vinylgruppe abspielt. Die oszillographischen Bestimmungen wurden mit einer tropfenden Quecksilberelektrode in 1n LiOH-, 1n LiCl- und 1n NaOH-Lösungen durchgeführt. 1n HCl hat sich nicht bewährt. Als die beste Grundlösung hat sich 1n LiCl erwiesen, dessen pH 7,25 ist. In dieser Grundlösung gibt Chinin einen tiefen Einschnitt bei —1,2 Volt. Ebenso verhält sich auch Chinidin (Abb. 4). Cinchonin und Cinchonidin geben zwei Einschnitte bei —1,2 und —1,3 V; dies ermöglicht den Nachweis des Chinins neben Cinchonidin (Abb. 5). In 1n NaOH Grundlösung gibt Chinin einen gut definierbaren Einschnitt (Abb. 6).

Von den übrigen Derivaten der China-Alkaloide verhält sich das Hydrochinin ähnlich.

Die Ester des Chinins, das Aristochinin und Euchinin, geben an der tropfenden Elektrode einfache Oszillogramme, und so ist es möglich Spuren von Chinin in diesen Derivaten nachzuweisen. Die Derivate von Cuprein, Optochin, Eucupin und Vuzin geben auch unterschiedliche Oszillogramme. Das Oszillogramm des Eucupins zeigt Abb. 7. Alle obenerwähnten Verbindungen geben mit der strömenden Elektrode einfachere Oszillogramme, doch mit gleichen charakteristischen Einschnitten bei −1,4 V. Infolgedessen kann man sie nur mit Hilfe der tropfenden Elektrode bestimmen.

Chinotoxin und Cinchotoxin geben in 1n LiOH bei −0,95 V sehr charakteristische Oszillogramme mit vollkommen reversiblen Einschnitten, sowohl mit der tropfenden als auch mit der strömenden Elektrode (Abb. 8). Bei den quantitativen Bestimmungen wurde 1n NaOH als Elektrolyt benützt, um gut definierbare Einschnitte zu erzielen.

Abb. 6
$5 \cdot 10^{-5}$m Chinin in 1n NaOH

Abb. 7
10^{-4}m Eucupin in 1n LiCl

Abb. 8
10^{-5}m Chinotoxin in 1n LiOH

Am Anfang wurde mit einer synchronisierten Zwillingselektrode und einem Zweistrahlenoszillographen [5] titriert. Mit dem Strahl wurde das Oszillogramm des untersuchten Stoffes projiziert, mit dem anderen das Bild der Grundlösung, zu der so lange eine bekannte Menge des Depolarisators zugefügt wurde, bis sich die Einschnitte beider Oszillogramme ausglichen und überdeckten. Wir erzielten reproduzierbare Resultate ; als eine raschere und einfachere Methode hat sich die von uns modifizierte Methode von KALVODA [6] erwiesen [7]. Mit dem einen Strahlenbündel des Zweistrahlenoszillographen wurde das Oszillogramm des Depolarisators, mit dem anderen, nach Ausschaltung des vertikalen Verstärkers und des Zeitmassstabes, die waagerechte Achse projiziert. Diese Achse verbindet in der Grundstellung die beiden leuchtenden Punkte des Oszillogrammes ; bei der Messung berühren diese die Spitzen der Einschnitte. Das Vertikalablenkungspotentiometer wurde durch Zwischenschaltung eines Messpotentiometers erweitert. Nach dem Ablesen des entsprechenden Skalenteiles wurde mit Hilfe des Messpotentiometers die Lage der

waagrechten Achse eingestellt. Die abgelesenen Werte wurden graphisch als eine Funktion der Konzentration dargestellt.

Experimentell wurde festgestellt, dass Chinaalkalodie in einer 1n LiCl Lösung exponentielle Kurven in Abhängigkeit der abgelesenen Werte von der Konzentration des Depolarisators, während in 1n LiOH bei entsprechenden Konzentrationsgrenzen lineare Kurven (Abb. 9) zeigen. In reinen Lösungen,

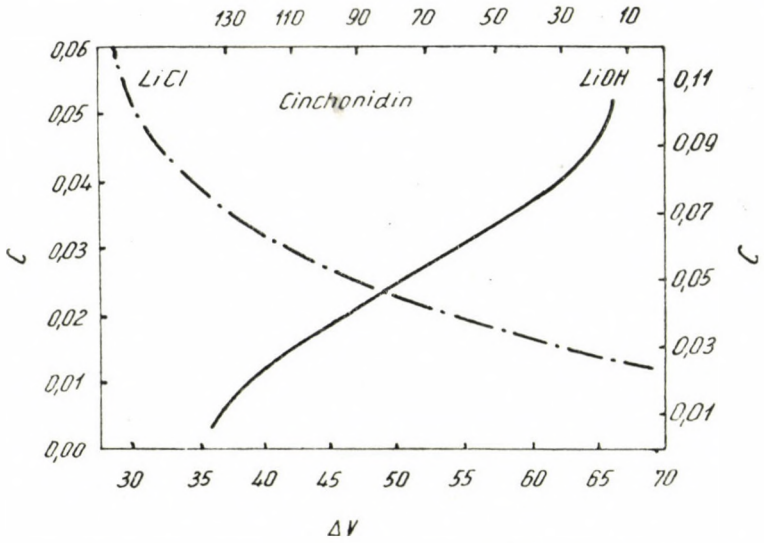


Abb. 9. Eichkurve des Cinchonidins in 1n LiCl und 1n LiOH

wo ein fremder Depolarisator die Einschnitte nicht beeinflusst, konnte im Durchschnitt eine Genauigkeit von bis $\pm 4\%$, nach Einübung in einzelnen Fällen sogar die Genauigkeit von bis $\pm 3\%$ erreicht werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die quantitative oszillographische Polarographie hat sich in den folgenden Fällen als brauchbar erwiesen : bei der Bestimmung von : 1. der Veratrum-Alkaloide, 2. der Chinin-Alkaloide und deren Derivate, 3. der 3- und 17-Ketosteroide und 4. des Benzaldehyds und Phenylacetylkarbinols und des Gleichgewichtszustandes zwischen Phenylacetylkarbinol entsprechender Schiffscher Base und Methylamin.

LITERATUR

1. O. F. Uffelie : Dissert. Univ. Groningen **1945**, S. 141.
2. H. F. W. Kirkpatrick : Quart. J. Pharmac. Pharmacol. **19**, 127 (1946).
3. F. Šantavý : Spisy vydáné přirodovědeckou Fak. Masarykovy Univ. **19**, 29 (1945).
4. J. Walaszek und A. Pircio : J. Amer. Pharmac. Assoc. Sci. Edit. **41**, 270 (1952).
5. R. Kalvoda und J. Macků : Chem. Listy **48**, 378 (1954).
6. R. Kalvoda : Chem. Listy **49**, 759 (1955).
7. L. Molnár und K. Molnárová : Chem. Zvesti (im Druck).

DISKUSSION

L. SZLÁVIK: Zu den Esteralkaloiden des *Veratrum album* gehört das Protoveratrin, dem die biologische Wirkung des *Veratrum album* neuerdings zugeschrieben wird. Während des Präparierens sind Sie den Gliedern der Germinreihe, sowie Germin und Neogermitrin nicht begegnet? Meine zweite Frage ist, ob Sie keine unbekannte Linie oder keinen Einschnitt im Oscillogramm beobachteten?

L. MOLNÁR: Diese Versuche wurden wegen Mangel der entsprechenden Standard-Verbindungen nicht durchgeführt.

J. VOLKE: Entspricht die oszillographische Reduktion des Jervins der normalen polarographischen Reduktion? Sind die übrigen Alkaloidfraktionen nicht aktiv?

L. MOLNÁR: Die Reduktion entspricht einer polarographischen Reduktion, diese Verbindungen sind auch an der tropfenden Quecksilber-Elektrode aktiv. Die Strukturformel der übrigen Alkaloide ist heute noch nicht bekannt, man kann also nicht voraussagen, ob dort eine polarographische Aktivität zu erwarten ist. Heute wissen wir noch nicht, warum keine polarographische Aktivität beobachtet wurde, ob die geeignete Methode noch nicht gefunden ist, oder ob das Molekül keine aktiven Gruppen enthält.

THE QUANTITATIVE OSCILLOGRAPHIC POLAROGRAPHY OF CERTAIN ALKALOIDS

L. Molnár

(Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Bratislava)

Summary

Quantitative oscillographic polarography proved to be suited for use when determining the content 1. of Veratrum alkaloids, 2. of quinine alkaloids and their derivatives, 3. of 3- and 17-ketosteroids and 4. of benzaldehyde and phenyl-acetyl-carbinol, and further for studying the equilibrium state between phenylacetyl-carbinol, the corresponding Schiff-base and methylamine.

Ladislav MOLNÁR, Bratislava

POLAROGRAPHISCHE BESTIMMUNG DER VITAMINE

P. ZUMAN

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Es ist beachtenswert, dass die Mehrzahl der Vitamine polarographisch bestimmt werden kann. Von den üblichen Verbindungen, die zu den Vitaminen gezählt werden, sind nur die fettlöslichen Vitamine der Gruppe A und D polarographisch inaktiv. In diesem Vortrag soll auf die Anwendungsmöglichkeiten der polarographischen Bestimmung der einzelnen Vitamine hingewiesen werden und dann am Beispiel der Ascorbinsäure gezeigt werden, welche Bedingungen und Einflüsse beachtet werden müssen, wenn eine einwandfreie Bestimmungsmethode ausgearbeitet werden soll.

Carotin (Provitamin A). Die polarographische Bestimmung des Carotins beruht auf seiner Überführung in die jodierte Verbindung, die an der Quecksilbertropfelektrode eine anodische Stufe verursacht, welche der Konzentration des Carotins proportional ist. Nach chromatographischer Abtrennung vom Chlorophyll kann diese Methode zur Bestimmung des Carotingehaltes der Karotte (3,7 bis 17,1 mg%) benützt werden.

Vitamin B_1 — Thiamin, Aneurin — äussert sich auf den polarographischen Kurven durch katalytische Stufen sowohl in kobaltsalzfreien (»Pränatriumstufe«) als auch in ammoniakalischen Kobaltsalzlösungen (»Eiweissstufe nach BRDIČKA«). Bei einem pH-Wert grösser als 9 bildet Thiamin weiter eine anodische Stufe, die der Bildung einer Quecksilber(II)-Verbindung entspricht. Und endlich wurden im alkalischen Medium Reduktionsstufen beobachtet, die der Reduktion des Pyrimidinringes oder eher der N-Formylgruppe zugeschrieben wurden. Die Bestimmung des Thiamins mit Hilfe einer dieser Stufen wurde nur in pharmazeutischen Präparaten durchgeführt. Zu demselben Zweck wurde auch die Chloridkomponente in Thiaminhydrochlorid (z.B. in 1%iger $Ca_2(NO_3)_2$-Lösung) bestimmt, oder das Thiamin durch Zugabe einer BiJ_4^--Lösung ausgefällt. Im Niederschlag wurden hierauf nach dessen Auflösung in einer K-Na-Tatratlösung die Jodide polarographisch bestimmt. Diese Methode ist aber weder einfach noch spezifisch und kann nur zur Analyse von Injektionslösungen, in keinem Fall jedoch von Tabletten, wo die Füllstoffe stören, verwendet werden. Bei der Analyse des Pflanzenmaterials ist die Thiaminbestimmung erst nach chromatographischer Trennung möglich. Bei einem sehr geringen Thia-

mingehalt kann das Hydrolysat des Pflanzenmaterials durch Adsorption oder mit Hilfe von Ionenaustauschern angereichert werden.

Vitamin B_2, Lactoflavin, Riboflavin bildet ein leicht reduzierbares Redoxsystem (Abb. 1), das sich auf den polarographischen Kurven durch gut ausgeprägte Stufen äussert. Diese Stufen wurden vom theoretischen Standpunkt eingehend studiert, sowie die Adsorptionserscheinungen und die Abänderung im alkalischen Gebiet und nach Bestrahlung. Die Stufe des Lactoflavins wurde wieder am häufigsten zur Analyse von pharmazeutischen Präparaten verwendet, in diesem Falle wurden jedoch auch Bestimmungsmethoden für Leberextrakte, in Anwesenheit der Ascorbinsäure und Erdbeerensaft, sowie für eine Kultur von Butterbakterien beschrieben. Zur Trennung des Lactoflavins aus

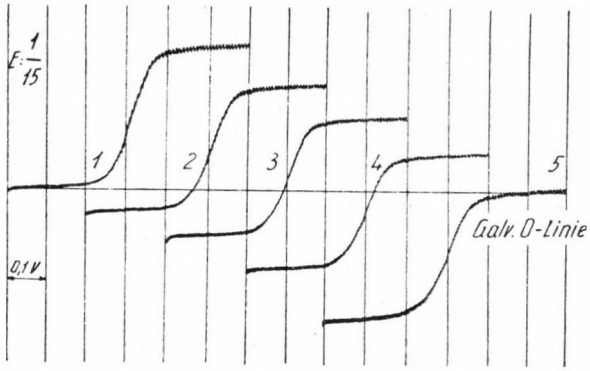


Abb. 1. Polarographische Kurven einer allmählich reduzierten Lactoflavinlösung
Die Reduktion wurde durch Zugabe von Natriumdithionit bei pH 8 durchgeführt. Kurven von —0,2 V aufgenommen, 100 mV/Absz., Empf. 1 : 15. Kurve (1) entspricht der vollständig oxydierten, (5) der vollständig reduzierten Form des Lactoflavins. Nach BRDIČKA und KNOBLOCH

natürlichem Material kann wieder die Papierchromatographie dienen. Bei der Arbeit mit Lactoflavin wird empfohlen, die Lösungen immer vorsichtig vor Lichteinwirkung zu schützen.

In der *Folsäure (Pteroylglutaminsäure)* unterliegt der Reduktion der Pteroylrest. Die Reduktion verläuft in drei Stufen, von denen die erste bei pH 6 zu analytischen Zwecken geeignet ist. Zur Analyse von pharmazeutischen Präparaten eignen sich Pufferlösungen von einem pH-Wert von etwa 9. Die Bestimmung wird von anderen Stoffen der Pteringruppe, welche bei ähnlichen HSP reduziert werden, gestört. Die Pterine unterscheiden sich voneinander durch ihre Lichtzersetzung bei pH 11.

Vitamin B_{12} (Cobalamin) äussert sich durch sehr hohe katalytische Stufen in Pufferlösungen (Abb. 2—4), sowie durch Reduktionsstufen. Die Reduktionsstufen entsprechen der Reduktion des Cobalt-Zentralatoms. Diese Stufen wurden zu den Studien der Redoxeigenschaften des Cobalamin-Moleküls benützt.

Die katalytische Stufe kann zur Bestimmung in Injektionslösungen angewendet werden. Nach der Mineralisation kann auch Cobalt im Cobalamin polarogra-

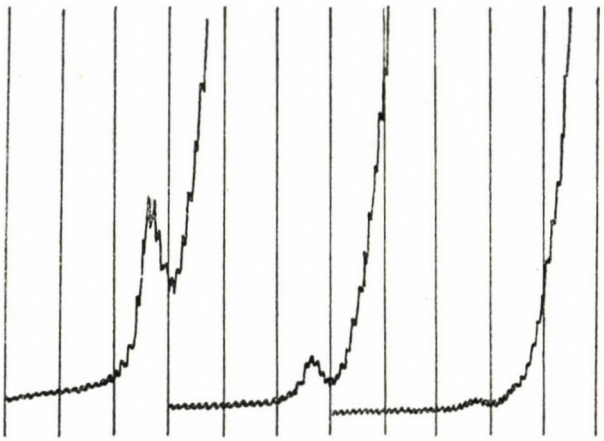


Abb. 2. Abhängigkeit der katalytischen Stufe des Vitamins B_{12} vom pH-Wert. 0,6 μg/ml Vitamin B_{12} in Pufferlösung nach BRITTON und ROBINSON pH: (1) 6,0: (2) 5,3: (3) 4,2. Kurven von —1,2 V aufgenommen, 200 mV/Absz., t = 3,5 s, m = 2,21 mg/s, Empf. 1 : 100. Die Stufenhöhe nimmt mit steigendem pH-Wert steil ab

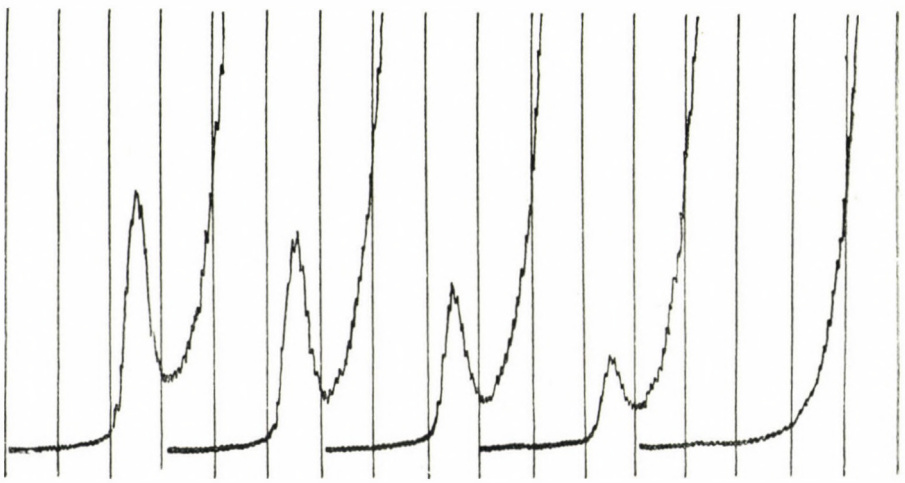


Abb. 3. Zunahme der katalytischen Stufe des Vitamins B_{12} mit steigender Konzentration. Zum Acetatpuffer pH 4,9 wurde zugegeben: (1) 0; (2) 0,58; (3) 1,17; (4) 1,82; (5) 2,32 μg Vitamin B_{12} auf 1 ml. Kurven von —1,2 V aufgenommen, 200mV/Absz., t = 3,6 s, m = 2,21 mg/s, Empf. 1 : 400. Die Höhe des Maximums ist von der Konzentration praktisch linear abhängig

phisch bestimmt werden und auf diese Weise auch der Gehalt an Vitamin B_{12} in Handelspräparaten bestimmt werden.

Von den weiteren Vitaminen der B-Gruppe sind *Pantothensäure* und *Pyridoxin* erst bei recht negativen Potentialen reduzierbar und ihre Stufen eig-

nen sich deswegen wenig zu analytischen Zwecken. Anders steht die Lage bei der *Nicotinsäure* und ihrem *Amid*, welche in die Vitamin-B-Gruppe eingereiht werden, deren Stufen sich auch zur Bestimmung im biologischen Material (nach Trennung) eignen. Je nach dem pH-Wert können die beiden Verbindungen, oder nur das Amid bestimmt werden. In letzter Zeit wurde grosse Aufmerksamkeit der Anwesenheit dieser beiden Stoffe in karzinomatösen Geweben gewidmet.

E-Vitamine (Tocopherole). Der Chromankern der Tocopherole wird an der Quecksilbertropfelektrode oxydiert, was durch eine anodische Stufe erkennbar ist. Diese Stufe liegt aber bei positiven Potentialen und ihre Höhe wird z. B. durch die Gegenwart von Ölen beeinflusst, so dass die analytische Anwendung

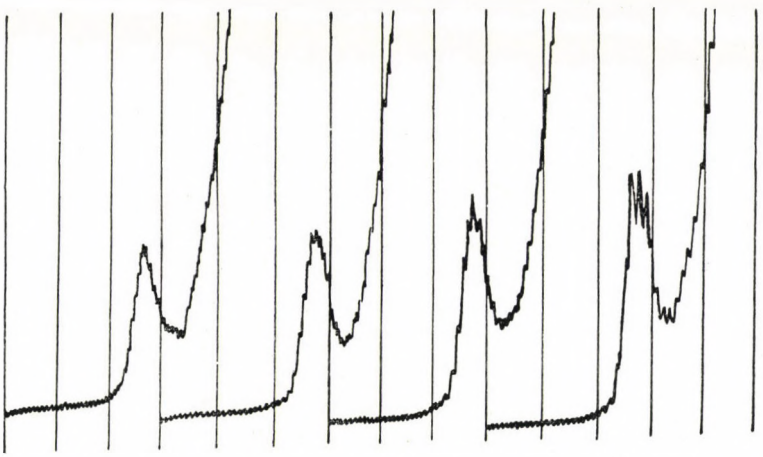


Abb. 4. Abhängigkeit des katalytischen Effekts des Vitamins B_{12} von der Quecksilberbehälterhöhe
Acetatpuffer pH 4,9 mit 0,6 μg Vitamin B_{12} in 1 ml Behälterhöhe: h = (1) 65 cm ; (2) 55 cm; (3) 45 cm ; (4) 35 cm ; t = (1) 2,4 s ; (2) 2,8 s ; (3) 3,6 s ; (4) 4,4 s. Die Höhe des Maximums nimmt mit steigender Tropfzeit zu

vereitelt ist. Auch die Titration der Tocopherole mit einer Gold(III)-chloridlösung kann wegen geringer Spezifität nicht empfohlen werden. Mit Rücksicht auf die angeführten Schwierigkeiten wurde eine Methode ausgearbeitet, die die Bestimmung der einzelnen Tocopherole nach ihrer Oxydation mit $Ce(SO_4)_2$ in die entsprechenden Tocopherylchinone ermöglicht. Unter geeigneten Bedingungen ist eine gleichzeitige Bestimmung der α-, der Summe $(\beta + \gamma)$ und der δ-Tocopherole (Abb. 5), die sich durch Anwesenheit der Methylgruppen voneinander unterscheiden, auch durchführbar.

Die Glieder der *K-Vitamingruppe*, die dem 2-Methyl-1,4-naphthochinon mehr oder weniger naheliegen, sind polarographisch aktiv, da sie entweder eine chinoide Struktur besitzen und leicht reduzierbar sind, oder dem Hydrochinon analog sind und eine anodische Stufe bilden. Neben den Analysen der reinen Stoffe wurde *Vitamin* K_3 (2-Methyl-1,4-naphthochinon) nach einer Extraktion

mit Petroläther in einem an diesem Vitamin eingereicherten Geflügelfuttermittel bestimmt. Bei der Bestimmung, bei der die Chinonstufen in einer ammoniakalischen Pufferlösung vom pH 9,9 (mit 90% i-Propanol) gemessen werden, muss darauf geachtet werden, dass Naphthochinone leicht photolytischen

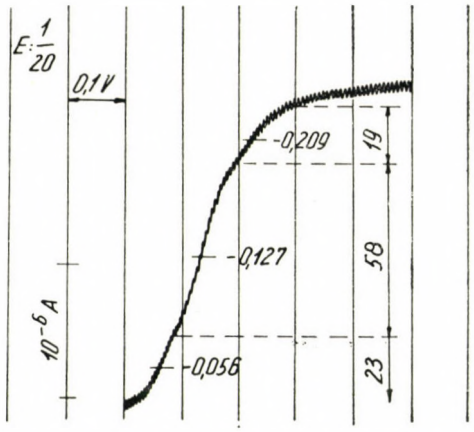


Abb. 5. Bestimmung der Tocopherole in einem Konzentrat aus Weizen-Keimenöl. Acetatpuffer pH 6,8, 70% Äthanol, SKE. Nach KNOBLOCH

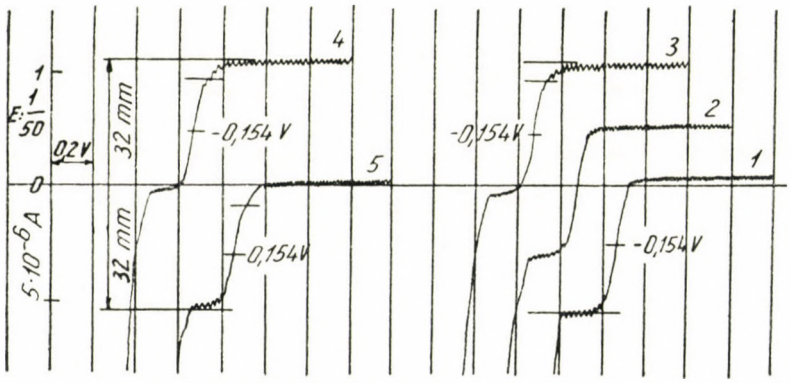


Abb. 6. Reversible Oxydation des 2-Methyl-1,4-aminonaphthols durch Eisen(III)cyanid und Reduktion des Oxydationsproduktes durch Wasserstoff in Anwesenheit von Palladium katalysator. $1 \cdot 10^{-3}$m 2-Methyl-1,4-aminonaphthol, Puffer nach BRITTON und ROBINSON pH 7. Nach KNOBLOCH

Zersetzungen unterliegen. Der Phosphorsäureester des 2-Methyl-1,4-naphthohydrochinons *(s. g. lösliches Menandiol)* unterliegt in Anbetracht der Esterifizierung der Hydroxyle nicht direkt der Elektrodenreaktion. Zur Bestimmung dieses Stoffes wurde eine Hydrolyse unter gleichzeitiger Oxydation mit $Ce(SO_4)_2$ oder mit Brom (im 50% Äthanol) durchgeführt, durch die das Vitamin K_3 gebildet wird.

Das *Vitamin* K_5 *(2-Methyl-1,4-aminonaphthol)* wird an der Quecksilbertropfelektrode in das entsprechende Chinonimin oxydiert. Die Reversibilität dieses Vorganges wurde auf polarographischem Wege bewiesen (Abb. 6). Auch die hydrolytische Spaltung des Chinonimins unter Entstehung von Vitamin K_3 konnte verfolgt werden (Abb. 7). Zur Bestimmung vom Vitamin K_5 in pharmazeutischen Präparaten genügt eine blosse Auflösung der Probe in einer geeigneten Pufferlösung. Die Oxydation des Vitamins K_5 in das entsprechende Chinonimin und die Hydrolyse des Produktes unter Bildung des Vitamins K_3 erfolgt auch in Anwesenheit von Blutkörperchen, wodurch die hohe biologische Aktivität des 2-Methyl-1,4-aminonaphthols erklärt werden kann.

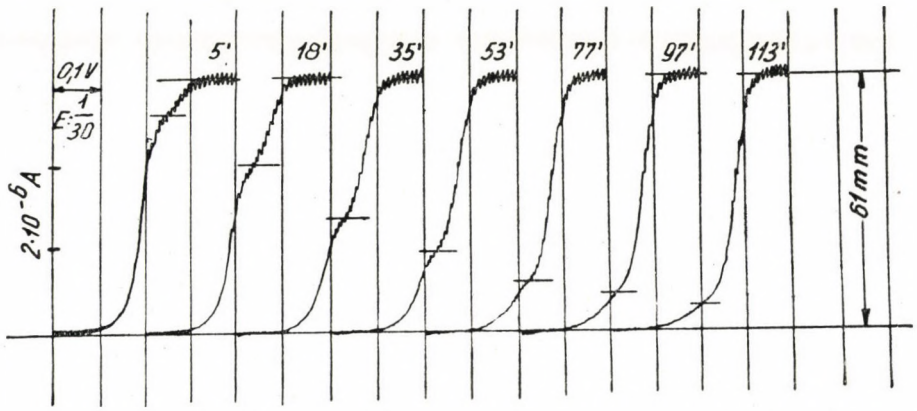


Abb. 7. Hydrolyse des 2-Methyl-1,4-naphthochinonimins. 1.10^{-3}m 2-Methy-1,4-naphthochinonimin, Phosphatpuffer pH 7,25. Die Kurven wurden nach den oben angegebenen Zeitintervallen registriert. Nach KNOBLOCH

Vitamin C, die Ascorbinsäure, liefert eine anodische Stufe, die der Oxydation der Endiolgruppe entspricht. Zur polarographischen Bestimmung eignen sich am besten Pufferlösungen mit einem pH-Werte zwischen 3 bis 6. Bei höheren pH-Werten wird die Ascorbinsäure allzuleicht oxydiert, bei niedrigeren pH-Werten kann die anodische Stufe durch die Anwesenheit von Chloridionen und anderen Stoffen, die schwer lösliche oder komplexe Quecksilbersalze bilden, gestört werden. Von den vielen in der Literatur angegebenen Pufferlösungen und -mischungen möchten wir hauptsächlich die Benützung des Acetatpuffers pH 4,7 und des Metaphosphorsäure-Acetat-Gemisches pH 4,0 empfehlen.

Die Hauptaufgabe bei der Analyse der Ascorbinsäure ist die Vorbereitung der Probe vor der eigentlichen Bestimmung. Die Bestimmung kann vor allem durch die leichte Oxydierbarkeit der Ascorbinsäure beeinflusst werden. Diese Oxydation verläuft sehr häufig durch Einwirkung des Luftsauerstoffes, besonders bei Gegenwart von Oxydasen und ihre Geschwindigkeit ist im allgemeinen umso grösser, je höher das pH der die Ascorbinsäure enthaltenden Lösung ist. Man wählt daher eher einen niedrigeren pH-Wert (siehe oben) und verarbeitet

die Probe so schnell als möglich. Ein Beispiel einer geeigneten Vorbereitung der Lösung ist die Analyse pharmazeutischer Präparate, wo es genügt, die Tabletten oder Injektionslösungen in der Pufferlösung aufzulösen, bzw. zu verdünnen, oder die Analyse weicher Früchte, deren Saft direkt in das polarographische Gefäss ausgequetscht wird.

In den übrigen Fällen, wo eine derartige einfache Aufbereitung der Probe nicht ausreicht, vermeidet man vor allem Behandlungen, z. B. Filtrieren, bei denen die Lösung längere Zeit der Luft ausgesetzt wird. Dort, wo dies möglich ist, arbeitet man in der Atmosphäre eines inerten Gases (am häufigsten CO_2 z. B. bei der Homogenisierung der Probe).

Neben dem Einfluss des Sauerstoffes und der enzymatischen Systeme muss bei der Ausarbeitung eines geeigneten analytischen Arbeitsvorganges noch die Anwesenheit anderer Oxydationsmittel erwogen werden. Am häufigsten pflegen dies einige chinoide Stoffe zu sein und in einem solchen Fall wird die Bestimmung entweder beschleunigt durchgeführt und die Resultate werden auf die Zeit null extrapoliert, oder werden diese Stoffe entfernt. Die Reaktion mit einigen Farbstoffen — z. B. mit Anthocyanen — verläuft so langsam, dass sie beim üblichen Arbeitsvorgang nicht berücksichtigt werden muss. Manchmal sind es Spuren von Schwermetallen, die in Gegenwart enzymatischer Systeme, oder auch in deren Abwesenheit, die Oxydation der Ascorbinsäure katalysieren können. Es hat den Anschein, dass die Verwendung einiger Extraktionsmittel mit guten Stabilisierungswirkungen, wie Metaphosphorsäure und Oxalsäure, vor allem dadurch begründet ist, dass sie diese Metalle (besonders Eisen) in feste Komplexe binden, die sich hierauf mit Rücksicht auf die Verschiebung ihrer Reduktionspotentiale an der Oxydation der Ascorbinsäure nicht beteiligen können. Da die Thiole durch den Luftsauerstoff, gegebenenfalls durch enzymatische Systeme leichter oxydiert werden als die Ascorbinsäure, können auch diese Stoffe als Schutzmittel dienen.

Neben der leichten Oxydierbarkeit können sich bei der Bestimmung der Ascorbinsäure auch andere störende Einflüsse geltend machen. Es ist dies vor allem die Anwesenheit einiger anderer Endiole (zusammenfassend als Reduktone bezeichnet), deren Wellen mit der Stufe der Ascorbinsäure verschmelzen. Diesen Stoffen, die bei der Erhitzung alkalischer Zuckerlösungen, eventuell in Gegenwart von Aminosäuren gebildet werden, begegnet man bei der Analyse von Lebensmitteln, deren Zubereitung in der Hitze erfolgt (Konserven). Zumindest ein Teil dieser Verbindungen kann durch die modifizierte Formaldehydreaktion eliminiert werden. Bei dieser Umsetzung reagieren bei pH 3,5 praktisch die gesamten Reduktone im Verlauf einer Minute mit dem Formaldehyd, wogegen die Ascorbinsäure während eines kürzeren Zeitintervalls unverändert bleibt. Zu 8 ml einer Lösung, die Ascorbinsäure und Reduktone enthält, fügt man 2 ml 40%-igen Formaldehyds zu und nimmt nach zwei Minuten die Kurve auf, die allein den Gehalt der Ascorbinsäure angibt.

Bei einem Überschuss von Chloriden (z. B. in eingesalzenen Lebensmitteln) oder von anderen Verbindungen, die sich durch eine anodische Depolarisation bei positiveren Potentialen als dasjenige der anodischen Stufe der Ascorbinsäure äussern, oder auch in Gegenwart grösserer Konzentrationen oberflächenaktiver Stoffe, erhält man nur undeutliche, schlecht messbare Stufen. Der Chloridüberschuss kann z. B. durch Zugabe von Thalliumionen beseitigt werden. Der störende Einfluss der Chloride wirkt sich vor allem bei niedrigeren pH-Werten aus und so ist es in diesem Fall notwendig, ein derartiges Milieu zu wählen, in dem zwar die Oxydation der Ascorbinsäure nicht zu schnell vor sich geht, jedoch aber auch der Einfluss der Chloride eingeschränkt ist (siehe Seite 284). Auch bei Anwendung von Platinelektroden erhält man Stufen, die durch die Anwesenheit von Stoffen, die Salze mit Quecksilber bilden, nicht gestört werden und besser ausgebildet sind. In Anbetracht der geringen Erfahrungen, die bis zur Zeit über die Reproduzierbarkeit dieser mit derartigen Elektroden erhaltenen Kurven vorliegen, kann diese Möglichkeit nicht als allgemein empfohlen werden.

Der störende Einfluss der oberflächenaktiven Stoffe kann dadurch herabgesetzt werden, dass eine grössere Verdünnung der analysierten Lösung gewählt wird, denn ausschlaggebend ist im allgemeinen nicht das Mengenverhältnis zwischen den oberflächenaktiven Stoffen und der Ascorbinsäure (das natürlich durch die Verdünnung nicht verändert wird), sondern die absolute Konzentration der kolloidalen Substanzen in der polarographierten Lösung.

Endlich wird die Bestimmung der Ascorbinsäure auch durch einen grossen Überschuss an Stoffen gestört, die anodische Stufen bei negativeren Potentialen bilden (z. B. bei einem Überschuss von Thiolen oder Cyaniden). Die Stufen sind hier nur sehr schlecht messbar, was nicht nur durch die Anwesenheit der mit dem Quecksilber wenig lösliche Salze bildenden Verbindungen begründet ist, sondern auch dadurch, dass bei höheren Konzentrationen, z. B. von Thiolen, eine Inaktivierung der Elektrodenoberfläche durch das adsorbierte Quecksilbersalz hervorgerufen wird. Dadurch wird die Stufe der Ascorbinsäure zu positiveren Potentialen verschoben, was wiederum eine schwierige Messbarkeit der Stufe zur Folge hat.

Wir möchten auch betonen, dass im biologischen Material neben den Thiolen noch andere Stoffe, wie z. B. einige Hydrochinon evorkommen, die sich durch anodische Stufen äussern. In den polarographischen Arbeiten aus älteren Zeiten kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Ascorbinsäure auch andere anodische Stufen zugesprochen wurden.

Alle diese angeführten Einschränkungen treten jedoch bei Analysen des üblich vorkommenden Materials nur selten auf und die Mehrzahl der gewöhnlich anwesenden Komponenten stört die Bestimmung nicht. Es wurde bewiesen, dass die Analyse durch die Anwesenheit verschiedener Saccharide und Säuren, sowie durch die in den komplexen Vitaminpräparaten vorliegenden Substanzen nicht beeinflusst wird.

Wenn man die polarographische Methode mit den laufend gebrauchten titrimetrischen und kolorimetrischen Methoden, denen Reaktionen mit 2,6-Dichlorphenol-indophenol, Methylenblau, Jod oder Cyanoferrat(III) zugrunde liegen, vergleichen will, muss an erster Stelle die grössere Spezifität der Polarographie betont werden. Diese ermöglicht die Bestimmung der Ascorbinsäure neben reduzierenden anorganischen Komponenten, Thiolen (z. B. Cystein und Glutathion), neben Hydrochinon (z. B. Hydrojuglon) und den Leukoformen einiger Farbstoffe. Die polarographische Analyse wird weiter weder durch eine Verfärbung noch durch eine Trübung der analysierten Lösungen gestört. Bei den

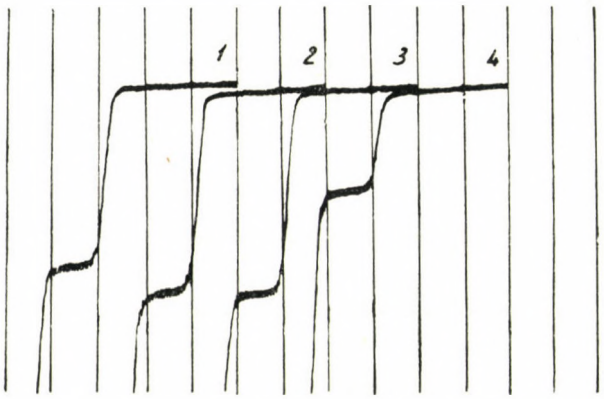


Abb. 8. Bestimmung der Ascorbinsäure in pharmazeutischen Präparaten. (1) 1 Tablette (50 mg) Cebion Merck in 250 ml Acetatpuffer aufgelöst, (2—4) 0,5 ml einer Injektionslösung in 250 ml Pufferlösung : (2) Chemovit C Spolchemie ; (3) Celaskon Spofa ; (4) Redoxon

	(1)	(2)	(3)	(4)
Gefunden	48 mg	10,1%	10,0%	4,9%
Angegeben	50 mg	10%	10%	—

Titrationsbestimmungen erfordert die Eliminierung der störenden Stoffe und der Verfärbungen weitere Behandlungen bei der Vorbereitung der Probe zur Titration. Dadurch wird nicht nur die zur Analyse benötigte Zeit verlängert, sondern auch die Gefahr der Oxydation vergrössert. Mit der Polarographie kann eine einzige Person 12 bis 14 Analysen (die Vorbereitung der Probe einbegriffen) in einer Stunde durchführen.

Die Genauigkeit der polarographischen Bestimmung ($\pm$ 3 bis 5%) ist für die Analyse von biologischen Materialen und pharmazeutischen Präparaten ausreichend, genügt jedoch nicht bei der Bestimmung der reinen Substanz.

Die Empfindlichkeit der polarographischen Methode ist — besonders im Hinblick auf die erschwerte Messbarkeit der Stufen bei niedrigen Konzentrationen — etwas niedriger als bei einigen kolorimetrischen Methoden. Dort, wo mit den letztgenannten Methoden jedoch Mengen von 0,5 bis 2 mg% bestimmt werden, ist ihre Spezifizität sehr fraglich.

Pharmazeutisches Material. Die Analyse der Tabletten ist nach der Auflösung in einem geeigneten Puffer, der Injektionslösungen nach Verdünnung mit der Pufferlösung durchführbar (Abb. 8). Bei der Bestimmung in Schokoladepräparaten wurde eine Extraktion der Probe mit Pufferlösung empfohlen, die Analyse kann jedoch durch die Anwesenheit von Glucoreduktonen gestört werden.

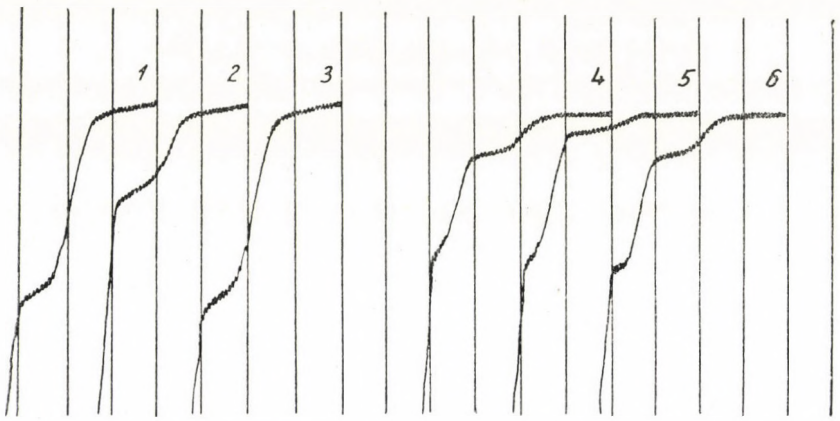


Abb. 9. Ascorbinsäure und Sulfhydrylstoffe in Tomaten. 2,5 ml Tomatensaft + 2,5 ml Acetatpuffer pH 4,7. Drei verschiedene Tomatensorten. Die Kurven links: (1) bis (3) Stufen der Sulfhydrylstoffe (Empf. 1 : 15); rechts (4 bis 6) Stufen der Ascorbinsäure (Empf. 1 : 70)

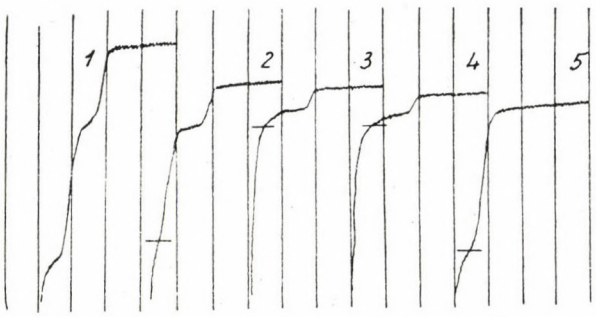


Abb. 10. Bestimmung von Juglon und Ascorbinsäure in Teilen des Nussbaums. Die Proben der Frucht- und Pflanzenteile wurden in einer CO_2-Atmosphäre mit 20 ml Acetatpuffer vom pH 4,7 und Quarzsand verrieben: (1) 1 g grüner Schalen (Mesocarp); (2) 2 g Blätter; (3) 2 g Stengeln; (4) 2 g junger Zweige; (5) 1 g Kerne. Kurven von 14. Drahtwindung zurück aufgenommen; anod.-kath. (Nullpunkt auf der 9. Drahtwindung), 200 mV/Absz., h = 50 cm, t = 2,7 s, m = 3,1 mg/s, Empf. 1 : 70. Galvanometernullpunkt bezeichnet

Pflanzenmaterial. Die grösste Aufmerksamkeit wurde der Bestimmung der freien Ascorbinsäure im Obst, Gemüse und in einigen anderen Früchten und Pflanzenteilen und zwar sowohl im frischen als auch im konservierten Material gewidmet (Abb. 9, 10).

Bei weichen Früchten genügt es, den Saft am besten durch Hydrophilgaze, oder grobes Leinen auszupressen. Das bekannte Saftvolumen vermischt man

hierauf mit dem gewählten Puffer. Bei festen Früchten, wo der ausgepresste Saft kein vollkommenes Bild über den gesamten Ascorbinsäuregehalt geben würde, wählt man eine Extraktion des homogenisierten Materials. Die Probe wird zunächst mit einem Messer aus rostfreiem Stahl in kleinere Stücke zerschnitten. Die Homogenisierung wird am besten 1 bis 3 Minuten in einem Homo-

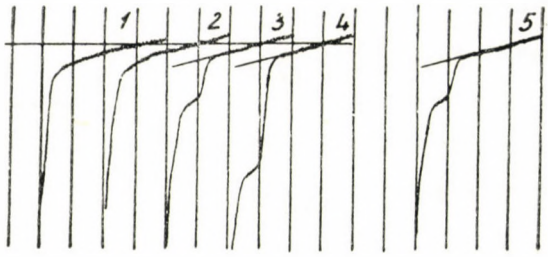


Abb. 11. Gebundene Ascorbinsäure in einem Konzentrat von Kohl
(1) 4 ml Acetatpuffer pH 4,7 ; (2) + 1 ml der Ascorbigenlösung aus dem Kohl (20 mg des Konzentrates in 10 ml der Lösung), vor der Hydrolyse; (3) dasselbe nach Hydrolyse mit 1% H_2SO_4; (4) zugegeben 0,1 ml 100 mg% Ascorbinsäurelösung ; (5) dasselbe nach ½ Stunde. Kurven von 14. Drahtwindung zurück aufgenommen, anod.-kath., 200 mV/Absz., h = 55 cm, Empf. 1 : 15

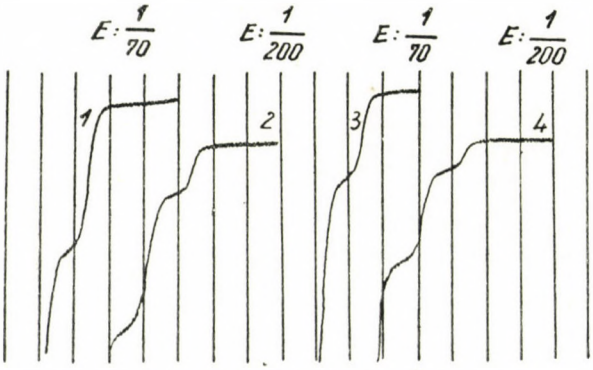


Abb. 12. Einfluss der Lagerung
1 g Mesocarp wurde mit 20 ml Acetatpuffer vom pH 4,7 verrieben : (1) und (2). Gleich grosse Proben von derselben Nuss nach zweitägiger Lagerung bei 4° : (3) und (4). Kurven von der 15. Drahtwindung zurück aufgenommen, anod.-kath., 150 mV/Absz., h = 50 cm. Empf. : (1) und (3) 1 : 70, (2) und (4) 1 : 200

genisator (Turmix, Waring Blendor) vollzogen, in den vor und während der Homogenisierung Kohlendioxyd eingeführt wird. Falls kein geeignetes Gerät zur Verfügung steht, zerreibt man das Pflanzenmaterial mit der Extraktionslösung und Quarzsand. Hierbei wird die Extraktionslösung vorher in der Reibschale vom Sauerstoff befreit und die Probe ebenfalls in einer inerten Gasatmosphäre zerrieben — z. B. in einer tiefen Schüssel, in die CO_2 eingeführt wird. Dem Zerreiben gibt man auch dann den Vorzug, wenn man gleichzeitig mit der

Ascorbinsäure einige andere Stoffe bestimmen will, die leichter der Oxydation durch den Sauerstoff unterliegen als die Ascorbinsäure selbst — z. B. Thiole oder Hydrochinone.

Als Extraktionsmittel wird am häufigsten 1 bis 3%-ige Metaphosphorsäure oder ihr Gemisch mit Essigsäure und Oxalsäure verwendet. Bei einer gleich-

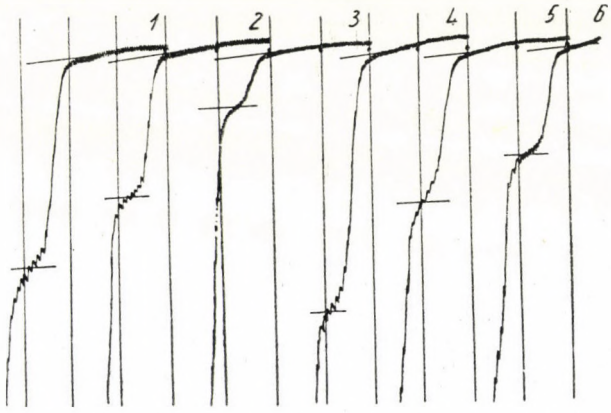


Abb. 13. Ascorbinsäure in Paprikaschoten während der Konservierung. 0,5 g Paprikaschoten, 5 ml Acetatpuffer pH 4,7. (1) Paprika ; (2) zerriebene Früchte ; (3) Saft vom Extraktor (4) im Vakuum konzentriert ; (5) Früchte in CO_2-Atmosphäre gedünstet; (6) Extrakt der gedünsteten Früchte

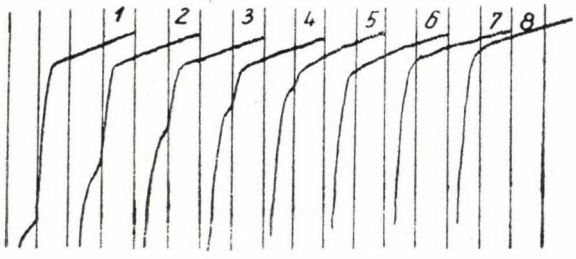


Abb. 14. Polarometrische Titration der Ascorbinsäure
4 ml Acetatpuffer pH 4,7, 1 ml Hydrolysat des Konzentrats von Kohl (20 mg Konzentrat in 10 ml Lösung). Zugegeben 0,025%ige 2,6-Dichlorphenolindophenollösung : (1) 0 ; (2) 1,0 ml ; (3) 2,0 ml ; (4) 3,0 ml ; (5) 4,0 ml ; (6) 5,0 ml ; (7) 6,0 ml ; (8) 7,0 ml. Kurven von der 14. Drahtwindung zurück aufgenommen, anod.-kath., Mercurosulfatelektrode, 200 mV/Absz., h = 55 cm, Empf. 1 : 15

zeitigen Bestimmung von Thiolen oder Hydrojuglon wählt man einen Acetatpuffer zur Extraktion.

Die Bestimmung nach Extraktion mit Methanol. Bei Stoffen, in denen — hauptsächlich wegen der Anwesenheit chinoider Stoffe — die Ascorbinsäure nicht direkt bestimmt werden kann — wie in der Kartoffel, Zuckerrübe und in Gewebeproben— wurde die Analyse nach Extraktion des trockenen biologischen Materials mit absolutem Methanol durchgeführt.

Die gebundene Ascorbinsäure kann durch Hydrolyse im sauren Medium in Freiheit gesetzt werden (Abb. 11). Auch mit Hilfe der Platinelektrode wurde eine Form der gebundenen Ascorbinsäure studiert.

Anwendungen. Der Ascorbinsäuregehalt verschiedener Früchte und Pflanzenteile wurde polarographisch bestimmt. Der Einfluss der klimatischen Bedingungen, der Abarten, des Reifens und der Probenahme wurde studiert (Abb. 12). Die Polarographie fand Anwendung bei der Lösung genetischer Probleme, sowie bei der Verfolgung des Verlaufes der Konservierung (Abb. 13).

Indirekte Bestimmungen. Ascorbinsäure kann polarometrisch auch durch Jodat sowie durch 2,6-Dichlorphenolindophenol bestimmt werden (Abb. 14).

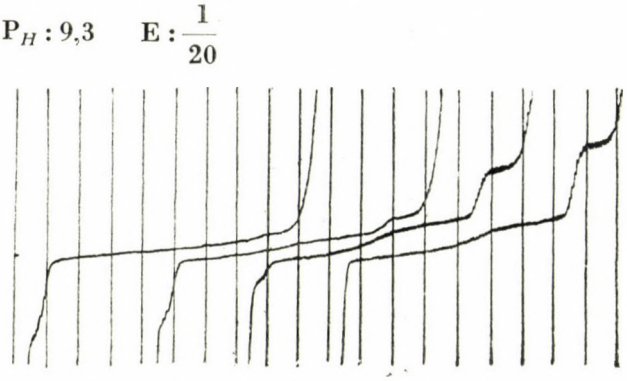


Abb. 15. Oxydation der Ascorbinsäure in Gegenwart von Ammoniak
$3 \cdot 10^{-4}$m Ascorbinsäure wurde durch Einleiten von Sauerstoff in 1,5m NH_3, 1,5m NH_4Cl oxydiert. Der Sauerstoff wurde (von links): 0; 7; 15 und 60 Sekunden in einem gelinden Strom eingeleitet. Die Kurven von 0,2 V, Mercurosulfatanode, 200 mV/Absz., h = 42 cm, Empf. 1 : 20

Eine andere indirekte Methode beruht auf der Kondensation der Ascorbinsäureoxydationsprodukte mit NH_3 (Abb. 15). Diese Methoden haben aber vor direkten Bestimmungen in den meisten Fällen keinen Vorteil.

Aus dem Beispiel der Ascorbinsäure kann man ersehen, welche praktische Möglichkeiten die polarographische Methode in der Vitaminanalyse besitzt und welche Vorteile sie im Vergleich zu den anderen Methoden bietet. Es ist zu hoffen, dass auch bei den anderen Vitaminen eine derartige Studie aller Bedingungen durchgeführt werden wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Mehrzahl der Vitamine kann polarographisch bestimmt werden. Von den üblichen Verbindungen, die zu den Vitaminen gezählt werden, sind nur die fettlöslichen Vitamine der Gruppe A und D polarographisch inaktiv. Es wird auf die Anwendungsmöglichkeiten der polarographischen Bestimmung der einzelnen Vitamine hingewiesen und dann am Beispiel der Ascorbinsäure gezeigt, welche Bedingungen und Einflüsse beachtet werden müssen, wenn eine einwandfreie Bestimmungsmethode ausgearbeitet werden soll.

LITERATUR

Eingehende Literaturhinweise auf die 126 Originalarbeiten, die den Fragen der Polarographie der Vitamine gewidmet sind, sind in dem Buche: M. BŘEZINA, P. ZUMAN: Polarographie in der Medizin, Pharmazie und Biochemie (AVG. Leipzig 1956) angegeben.

DISKUSSION

E. SÁNDI: In der Literatur ist beschrieben, dass Essigsäure, Acetat die Oxydation der Ascorbinsäure sehr beschleunigen. Die Autoxydation der Ascorbinsäure durch den Sauerstoff der Luft in Anwesenheit von Schwermetallen wird auch erleichtert. Ich möchte die Wichtigkeit solcher Lösungen betonen, welche die, die Oxydation der Ascorbinsäure katalysierenden Schwermetalle in komplexer Form binden, z. B. die Lösung der Metaphosphorsäure, oder der billigeren und bequemen Oxalsäure. Ich möchte fragen, ob Sie über die Bestimmung der Ascorbinsäure in pharmazeutischen Präparaten, die kombiniert sind und Eisen enthalten, Erfahrungen haben. Meine folgende Frage wäre: Haben Sie Erfahrungen über die Stabilisierung der Ascorbinsäure mit Komplexonen?

P. ZUMAN: Ich möchte die einzelnen Fragen nacheinander beantworten. In jedem solchen Falle, wo die Oxydation nicht schnell ist, also in jedem solchen Falle, in dem die Probe schnell verarbeitet werden kann, ist die Verwendung von Acetatpuffer erlaubt. Wird z. B. eine Tomate unmittelbar in ein KALOUSEKsches Gefäss, oder in irgendeine andere polarographische Zelle gequetscht, so müssen wir vor der Verwendung des Acetatpuffers keine Angst haben. In solchen Fällen, wo Extraktion notwendig ist, z. B. bei festen Früchten, ist die Extraktion zweckmässiger mit Metaphosphorsäure oder Oxalsäure. Ich persönlich hatte mit Metaphosphorsäure gute Erfolge erreicht. In der letzten Zeit habe ich über die warme Extraktion der Ascorbinsäure gehört bzw. gelesen, aber sie noch nicht ausprobiert. Das ist eine Arbeit russischer Autoren, die die Extraktion auf warmem Wege vervollkomneten. Ich habe vor der Oxydation der Ascorbinsäure über 25—30° Angst. Das wäre die erste Frage.

Auf die zweite Frage: In pharmazeutischen Präparaten, die Eisen enthalten, kann die Ascorbinsäure nicht bestimmt werden. Die Zahl der sich mit der Polarographie der Vitamine befassenden Arbeiten ist schon über 130, aber keine davon enthält Angaben zur Lösung dieses Problems. Nun zu der Frage der Komplexone: Ich kenne natürlich die Ergebnisse der hiesigen Schule über die stabilisierende Wirkung des Komplexons. In der Polarographie wurde es jedoch noch nicht verwendet. Komplexon bildet komplexe Quecksilbersalze und das bedeutet, besonders in biologischem Material, weitere Schwierigkeiten. Ich glaube, das ist der Grund, warum wir und andere nicht das Komplexon als Stabilisierungsmittel angewendet haben.

E. SÁNDI: In pharmazeutischen Präparaten wird die Ascorbinsäure mit Komplexon stabilisiert, es ist also immer zugegen.

P. ZUMAN: Komplexon verursacht nur bei höheren pH-Werten eine gut ausgebildete Stufe. Das Verhältnis des Komplexons und Ascorbinsäure ist hier massgebend. Die wichtige Frage ist, ob zwischen pH 4 und 6 die Bestimmung der Ascorbinsäure neben Komplexon möglich sei oder nicht.

K. LINDNER: Sind in der Tschechoslowakei gut bewährte Methoden für Anreicherung kleinerer Mengen Thiamin, Lactoflavin und anderer Vitamine bekannt? Diese Methoden sind auf unserem Gebiete in der Ernährungswissenschaft von grosser Bedeutung.

P. ZUMAN: Über die Erhöhung der Konzentration, über die Anreicherung schrieb unser Kollege ČERNÝ eine Arbeit. Leider ist die Arbeit wie ein Patent geschrieben, Arbeitsregeln sind daraus nicht zu entnehmen. Ich denke jedoch, dass auch hier wie bei der Papierchromatographie Eluierstoffe, wie z. B. Äthanol-Wasser-Gemisch die erwünschte Stofftrennung sichern. Die Kombinierung von Chromatographie und Polarographie verspricht viel Erfolg. Beide Methoden arbeiten mit kleinen Stoffmengen.

Frau dr. L. RÁCZ: Ich möchte fragen, ob es möglich sei Ascorbinsäure in Blut polarographisch zu bestimmen.

P. ZUMAN: Das ist eine schwere Sache! Die Ascorbinsäure wurde mehrmals in Blut untersucht, aber nie genaue Ergebnisse erzielt. Ich glaube, der Fehler liegt nicht in der Polarographie, vielmehr besteht das Problem darin, wie und wo sich im Blut die Ascorbinsäure befindet. Zu der Bestimmung in anderen biologischen Materialien wurde eine polarographische Methode entwickelt, die mit Hilfe der Extraktion arbeitet. Das vollkommen trockene Material — es wurde mit Natriumsulfat getrocknet — wird mit Methanol extrahiert. Ich persönlich arbeitete nicht mit dieser Methode, weiss also nicht, ob sie für die Bestimmungen im Blut geeignet sei. Wir begegnen jedoch bei den Bestimmungen in Harn den gleichen Schwierigkeiten. In diesem Falle wird die Ascorbinsäure oxydiert, dann mit Dinitrophenylhydrazin versetzt und nach der chromatographischen Trennung die Dinitrophenylhydrazone polarographisch bestimmt. Wieder eine Kombination der physikalischen und chemischen Methoden.

G. ANGYAL: Wie aus dem interessanten Vortrag hervorging, können die meisten Vitamine in biologischem Material zur Zeit polarograpisch noch nicht bestimmt werden. Leider fordert unsere Praxis, die Lebensmittelchemie, eben solche Methoden. Es handelt sich meistens um wärmebehandelte Stoffe. Bei diesen wird besonders die Bestimmung der Ascorbinsäure durch Reduktonen erschwert. In Zusammenhang damit war über die Rolle des Formaldehyds die Rede. In der Literatur der letzten Jahre beschreiben einige Autore, dass während der photometrischen Titrierbestimmungen das Formaldehyd bei einem entsprechendem pH-Wert zur Blockierung der Ascorbinsäure angewendet wird. Die Reduktone werden gemessen. Während dem eingehenden Studium des Prinzips der Formalinkondensation stellten ungarische Autoren fest, dass bei pH 5, unter gewissen Bedingungen auch ohne Zugabe von Formaldehyd die reduzierende Wirkung der Ascorbinsäure aufhört, das Kondensationsprinzip also falsch und die Zugabe von Formaldehyd überflüssig sei.

P. ZUMAN: Wie ich erwähnte, wendeten wir die Formaldehydreaktion nur im Falle des Glucosereduktons und Triosereduktons an. Es wäre jedoch sehr wichtig, diese Reaktion auch bei solchen Verbindungen wie Zucker und Aminosäuren zu studieren. Wenn ich mich richtig errinnere, war bei einem gegebenen pH die Reaktion mit Redukton die schnellste und mit Ascorbinsäure die langsamste. Die Reaktionskinetik dieser Stoffe und der Reduktone wurde von uns nicht untersucht. Solche Arbeiten sind jedoch vorhanden und sind für die Lebensmittelchemie bedeutend. Wenn sich in Ungarn Forscher mit diesen Fragen beschäftigen, so wäre es erfreulich, wenn diese auch die physikalisch-chemischen Beziehungen studieren würden. Diese Arbeiten werden auf dem Gebiete der Ascorbinsäurebestimmungen gewiss Hilfe bedeuten.

G. ANGYAL: Ich möchte meine Erfahrungen über die katalytische Stufe des B_1-Vitamins erwähnen. Ich trennte das Vitamin durch Papierelektrophorese von den störenden Stoffen und wollte die katalytische Stufe im Eluat

erhalten. Die Stufe wurde durch das Filterpapier gestört. Wie kann diese Schwierigkeit überwunden werden?

P. ZUMAN: Dieses Verhalten ist für jede katalytische Stufe gültig, da die Wasserstoffüberspannung auch durch kolloide Teilchen katalytisch beeinflusst wird. Bei der Bestimmung der Alkalimetalle kann z. B. nach der Filtrierung die Herabsetzung der Wasserstoffüberspannung beobachtet werden. Man sollte mit der katalytischen Welle in Anwesenheit von Kobalt eine Probe unternehmen. Übrigens kann zur Bestimmung von B_1-Vitamin auch seine — im alkalischen Bereich existierende — anodische Welle angewandt werden. Sie tritt z. B. in 0,1n Laugen auf. Ich möchte nochmals betonen, dass bei der Untersuchung komplizierter biologischer Materialien auch die Chromatographie, Elektrophorese und übrige physikalische Verfahren angewendet werden müssen.

THE POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF VITAMINS

P. Zuman

(Institute of Polarography, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

The majority of vitamins may readily be determined by polarography. Of the compounds considered in general as vitamins, only the liposoluble ones of the groups A and D proved to be inactive. The possibilities of application of the polarographic determination of certain vitamins are surveyed. As an example, the determination of ascorbic acid is described to show the conditions and effects to be taken into account when evolving a method for determinations of adequate reliability.

Dr. Peter ZUMAN Praha 3, Opletalova 25.

VERFAHREN ZUR ISOLIERUNG UND POLAROGRAPHISCHEN BESTIMMUNG DER IN DEN LEBENSMITTELN IN GERINGER KONZENTRATION VORHANDENEN BIOLOGISCH-AKTIVEN STOFFE

P. Spanyár, M. Kiszel und E. Kevei

(Forschungsinstitut für Konserven-, Fleisch- und Kälteindustrie, Budapest)

Die polarographische Bestimmung der in den Lebensmitteln in geringer Konzentration vorhandenen biologisch-aktiven Stoffe beansprucht mehrfache und verschiedene Vorbereitung. Diese Stoffe müssen nämlich erst von den anderen — oft ebenso reduzierbaren — Stoffen mit physikalischen und chemischen Methoden isoliert, die Lösungen bis zur Grenze der Empfindlichkeit der Bestimmung eingeengt werden und man muss dann eine Bestimmungsmethode auswählen, die bei einer maximalen Empfindlichkeit das zuverlässigste Ergebnis liefert. Alle diese Gesichtspunkte müssen mit den geeignetsten Umständen der Polarographie verbunden werden, d. h. diese Arbeitsvorgänge müssen in einem solchen Medium mit solchen Reagenzien durchgeführt werden, die die Empfindlichkeit und Genauigkeit der Bestimmung wenigstens nicht stören, womöglich aber sie fördern.

Da in den Lebensmitteln zahlreiche Stoffe verschiedener Natur und in verschiedener Menge und in verschiedenem Verhältnis vorhanden sein können und auch die Bindung dieser Stoffe zueinander mannigfaltig ist, kann man für die Bestimmung auch nur eines einzelnen Bestandteiles keine allgemeingültige Vorschrift geben. Verschiedenerweise müssen wir auch unsere Verfahren abändern, falls wir denselben Bestandteil in verschiedenen Lebensmitteln bestimmen wollen.

Um die einzelnen Bestandteile bestimmen zu können, ist es zweckmässig, diejenigen kleineren Operationen zu untersuchen, welche in verschiedener Gruppierung, d. h. in verschiedenen Variationen zu solchem Zwecke mit Erfolg angewendet werden können. Diese, an verschiedenen Gebieten der Analytik mehr oder weniger angewandten und bewährten Verfahren — abgeändert nach den Gesichtspunkten der Polarographie — können mit Recht bei der Bestimmung der in geringer Konzentration vorhandenen aktiven Stoffe der Lebensmittel eine Rolle erhalten. Auf diese Weise haben wir besonders bei der Bestimmung verschiedener Vitamine in Lebensmitteln gute Ergebnisse erhalten, es ist aber sicher, dass diese Verfahren auch an mehreren Gebieten — so zum Beispiel bei der quantitativen Bestimmung der Geschmack-, Riech- und Aromastoffe — gut anwendbar sein würden.

Durch einfaches Extrahieren ist der zu untersuchende Stoff aus den Lebensmitteln nur selten mit solcher Konzentration und so rein zu gewinnen, dass er ohne weitere Vorbereitungsverfahren zum Polarographieren geeignet wäre. Eben deshalb dürfen wir uns bei der Auswahl des zum Extrahieren gebrauchten Lösungsmittels von den Gesichtspunkten der Polarographie am meisten unabhängig machen. In dieser Hinsicht muss man in erster Reihe darauf achten, dass man je schneller einen möglichst konzentrierten — von der Gefahr der Zersetzung geschonten — Extrakt bekomme.

Bei der Auswahl des Lösungsmittels müssen wir aber auch auf die Umstände einer anderen Behandlung, nämlich auf das Freiwerden des zu bestimmenden Stoffes achten. Diese Stoffe sind oft eng mit anderen Stoffen gebunden, von denen sie nur durch enzymatische Wirkung befreit werden können. Das Lösungsmittel darf daher keine Enzymgifte enthalten und daneben soll es bei einer entsprechenden Umänderung ein solches Medium geben, das zur Wirkung des angewandten Enzyms die optimalen Bedingungen sichert.

Bei der weiteren Behandlung des Lebensmittelextraktes wird stets der lösliche Eiweissgehalt vollkommen entfernt. Gegen die Eiweissspuren sind die weiteren Vorbereitungsverfahren und das Polarographieren selbst äusserst empfindlich. Die vollkommene Eiweissentfernung ist im allgemeinen nicht leicht. Im Gegensatz zu den Literaturangaben ist es uns nicht gelungen mit Gerbsäure-Gelatine, Trichloressigsäure, Natriumwolframat, Phosphorwolframsäure, Sulfosalicylsäure für unsere Zwecke entsprechende Ergebnisse zu erreichen, obwohl wir die erwähnten Klärungsmittel mit den in der Literatur empfohlenen Methoden in verschiedenen Konzentrationen und auf verschiedene Weise geprüft haben. Eine vollkommene Klärung ergibt aber die basische Bleiacetatlösung. Der Überschuss dieser muss aber auch — um ungestört polarographieren zu können — vollkommen entfernt werden. Das gelingt zum Beispiel bei Riboflavin- und Thiaminbestimmung sicher und tadellos mittels Dinatriumhydrogenphosphatlösung und verursacht keinen Verlust in den Wirkstoffen.

Das Isolieren des zu untersuchenden Stoffes aus dem eiweissfreien Lebensmittelextrakt und das Konzentrieren kann oft mit demselben Arbeitsverfahren geschehen. Als sehr geeignet zeigte sich das von uns angewandte Verfahren: der Extrakt wird mit einem für den zu untersuchenden Stoff spezifischen Adsorptionsmittel zusammengebracht, das den Wirkstoff aus dem Extrakt adsorbiert. Nach der Entfernung des Extraktes wird das den Wirkstoff enthaltende Adsorptionsmittel mit einer eluierenden Lösung versetzt, die den Wirkstoff von dem Adsorbens eluiert. Die Adsorptionswirkung des Adsorbenten und die eluierende Wirkung des Eluiermittels muss spezifisch sein. Adsorptions- und Eluiermittel sollen so gewählt werden, dass nach dem Adsorbieren und Eluieren neben dem zu untersuchenden Stoff in der Lösung keine solchen Begleitstoffe zurückbleiben, die das Polarographieren stören würden.

Prinzipiell wäre es zweckmässig, als Adsorptionsmittel einen einheitlichen, chemisch gut definierten und inaktiven Stoff zu wählen. Unter den gut anwendbaren und spezifischen Adsorbenten sind aber solche Stoffe nur selten zu finden, deshalb müssen wir uns mit den Bleicherden verschiedener Qualität und Zusammensetzung und mit den aktiven Kohlenarten begnügen. Unter den Adsorbenten gibt es äusserst grosse Unterschiede und man findet solche, die entweder für einen oder für den anderen Stoff spezifisch sind, oder spezifisch gemacht werden können. Zum erwünschten Zwecke können nämlich die einzelnen Adsorbenten aktiviert und spezifisch gemacht werden. Dieses Verfahren ist beinahe in jedem Falle nötig, so wie auch die Überprüfung der spezifischen Adsorptionsfähigkeit der Adsorbenten mit Modellversuchen unerlässlich ist. Ein gutes Adsorptionsmittel adsorbiert den zu bestimmenden Stoff quantitativ und gibt ihn der eluierenden Lösung gleichfalls quantitativ ab. Als gut geeignetes Adsorbens haben wir bei der Riboflavinbestimmung die von der Firma »Terrakémia« hergestellte, mit Essigsäure und Kaliumchlorid aktivierte und mit heissem destilliertem Wasser gewaschene Bleicherde gefunden, die das Riboflavin aus salzsaurer Lösung adsorbiert [1]. Mit 80%igem warmem Aceton ist es wieder eluierbar. Im Notfall kann man aber auch ein solches Adsorbens anwenden, bei dem der Verlust des untersuchten Stoffes in Prozenten nach der Durchführung dieser Operationen immer der gleiche ist. So haben wir bei der Thiaminbestimmung — da kein besseres Adsorbens zu Verfügung stand — eine technische Aktivkohle »Polipag« bzw. Tierkohle angewendet [1]. Die Aktivkohle »Polipag« wurde, wie oben angeführt, aktiviert; die Tierkohle wurde dagegen ohne Aktivieren gebraucht. Das Thiamin wurde zwar von diesen Adsorbenten adsorbiert, von denen es mit 0,2n Salzsäure und mit 25%igem Äthanol eluierbar war, doch musste man immer — nach den Erfahrungen der Modellversuche — mit einem 10%igen Verlust rechnen.

Die Auswahl des Eluiermittels berührt ganz nahe das Polarographieren des zu untersuchenden Stoffes. Das Eluiermittel soll entweder ohne Zersetzung des Wirkstoffes leicht entfernbar sein, oder soll es ein geeignetes Medium für das Polarographieren geben, bzw. soll es leicht zu einem solchen überführbar sein. Im letzteren Falle muss man erstens an die Einstellbarkeit des pH-Wertes, ferner an das Vermeiden der Nebenwirkungen der eventuellen störenden Ionen denken.

Beim Polarographieren der aus den Lebensmitteln gewonnenen Lösungen wirkt oft der von JOSEPOVITS* empfohlene Emulgator: das butylnaphthylsulphonsaure Ammonium günstig, dessen Wirkung wir aber nicht erklären können.

Mit Hilfe der oben beschriebenen Vorbereitungsverfahren ist es uns gelungen aus verschiedenen Lebensmitteln, wie Spinat, Leber, Hefe usw. Riboflavin und Thiamin mit kathodischen Stromspannungskurven in den bis zur 4—20

* Persönliche Mitteilung.

γ/ml Konzentration eingeengten Lösungen zuverlässig zu bestimmen. Als Halbstufenpotenziale haben wir folgende Werte gefunden: [1].

bei Riboflavin $E_{1/2} = -0{,}57$ V
bei Thiamin $E_{1/2} = -1{,}34$ V.

Die Form und die Auswertbarkeit der Polarogramme stimmte mit der Form der von dem reinen Wirkstoff erhaltenen Polarogramme völlig überein. Das gelang bisher nur aus reinen Lösungen (zum Beispiel pharmazeutischen Erzeugnissen) [2], in manchen Fällen aus Hefe (in 0,1n Kaliumchloridlösung ohne Puffer), oder manchmal nur mit katalytischen Stromspannungskurven, deren Reproduzierbarkeit — wie allgemein bekannt — schlechter ist. Es gab bisher besonders bei der Thiaminbestimmung Schwierigkeiten.

Bei unseren Untersuchungen haben wir das Riboflavin in Gegenwart von einem Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 7,5 und Kaliumchlorid Leitsalz polarographiert, hingegen bei der polarographischen Bestimmung des Thiamins einen Natriumacetat-Essigsäure Puffer mit einem pH-Wert von 6,2 und ebenfalls Kaliumchlorid Leitsalz angewendet. Die Sauerstoffentfernung war in beiden Fällen nötig. Wir haben als Gesamtspannung 2,0 V gewählt und die Polarogramme beim Riboflavin zwischen $-0{,}2$——$0{,}7$ V, beim Thiamin zwischen $-0{,}9$——$1{,}6$ V Stromspannungsgrenzen aufgenommen.

Auch das Konzentrieren durch Adsorption und das Eluieren haben ihre Grenzen, und im allgemeinen kann man auf diese Weise konzentriertere Lösungen als die vorhererwähnten nicht immer erhalten. Bei solcher Konzentration gab — nach unseren Erfahrungen [3] — die bei dem Polarographieren bisher gebrauchte Formel des Additionsverfahrens

$$g = a \frac{h}{h_2 - h}$$

unzuverlässigere Resultate, wo

g = die Menge des gesuchten Stoffes
a = die Menge des zugegebenen Stoffes
h = die Stufenhöhe des Polarogrammes der zu untersuchenden Lösung
h_2 = die Stufenhöhe des Polarogrammes der den zugegebenen Stoff (a) und den zu untersuchenden Stoff enthaltenden Lösung.

Aus den mit zahlreichen Modellversuchen, sowie mit Lebensmitteln durchgeführten Untersuchungen stellte sich heraus, dass bei der Bestimmung der Riboflavin-, Thiamin- und Zinklösungen die Ergebnisse mit der folgenden Formel genauer auswertbar sind:

$$g = a \frac{h_2 - h_1}{h_1}$$

In dieser Formel bezeichnen g, a und h_2 dieselben Werte wie vorher, doch h_1 bedeutet die Stufenhöhe des Polarogrammes des zugegebenen Stoffes (a).

Das wesentliche in der neuen Methode ist, dass die Lösung, die den zu bestimmenden Stoff enthält, allein nicht polarographiert wird, sondern in unsere Formel — neben dem Stufenhöhewert jener Lösung, die die bekannte Menge des zugesetzten (additionierten) Stoffes und den zu bestimmenden Stoff gleichzeitig enthält — der Stufenhöhewert der bloss den zugesetzten Stoff enthaltenden sogenannten Additionslösung gesetzt wird. Auf diese Weise wird aus der Formel der kleinere (und deshalb nur mit grösserer Fehlermöglichkeit bestimmbare) Stufenhöhewert der zu bestimmenden Lösung eliminiert. Statt dessen kann man mit einem freiwillig gewählten und entsprechend grossen Wert arbeiten. Mit dieser Methode können wir solche Werte bestimmen, deren Auswertung sogar mit Hilfe der Eichkurve nicht möglich wäre.

Die Feststellung dessen, ob die von uns empfohlene Formel allgemein gültig sei oder nicht, oder bei welchen verschiedenen Stoffen sie anwendbar sei, würde weitere Forschungen beanspruchen. Die von uns in der Einführung aufgestellte Voraussetzung bezieht sich nämlich auch auf den Gebrauch dieser Formel. Wegen der Mannigfaltigkeit der Zusammensetzung der Lebensmittel hängen die Reihenfolge der anwendbaren Methoden, ihre Durchführungsweise und die Grenzen ihrer Brauchbarkeit erstens von dem zu untersuchenden Lebensmittel und zweitens von der Natur des Wirkstoffes ab. Die geeigneten Methoden und Arbeitsverfahren sind auf Grund der Betrachtung dieser beiden Faktoren auszuwählen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Methoden gefunden, die die Verfertigung polarographischen und organisch chemischen Ansprüchen entsprechender Extrakte, ihre Enteiweissung, ferner die Extraktion, Isolierung und das Konzentrieren der Wirkstoffe ermöglichen. Aus konzentrierten Extrakten wurden u. a. Riboflavin und Thiamin zuverlässig bestimmt. Zur Auswertung der polarographischen Stufen kleiner Stoffmengen wird eine neue Formel angewendet.

LITERATUR

1. E. Kevei, M. Kiszel und M. Simek : Acta Chim. Hung. **6**, 345 (1955).
2. J. J. Lingane und O. L. Davis : J. Biol. Chemistry. **37**, 567 (1941).
3. P. Spanyár, E. Kevei und M. Kiszel : Élelmezési Ipar (ungarisch) **9**, 326 (1955).

DISKUSSION

P. Szepesváry : Zwischen den alten und den neu vorgeschlagenen Formeln gibt es keinen prinzipiellen Unterschied. Es besteht nämlich ein linearer Zusammenhang zwischen dem gesuchten Stoffgehalt und der gemessenen Stufenhöhe, welcher sowohl im Falle einer Addition, wie ohne sie zur Geltung kommt. Die Frage lautet also : Was ist der Vorteil der neuen Formel?

E. Kevei : Die Genauigkeit ist sehr gering bei der Auswertung äusserst kleiner Stufenhöhen, nicht selten ist die Messung überhaupt nicht möglich.

Durch die von uns vorgeschlagene Addition wird die Stufenhöhe grösser und der verhältnismässige Auswertungsfehler kleiner. Deshalb kann man mittels der von uns empfohlenen Formel kleine Mengen genau bestimmen. Es können auch so kleine Mengen bestimmt werden, deren Messung mit den alten Methoden nicht möglich wäre.

A METHOD FOR THE SEPARATION AND POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF SUBSTANCES OF BIOLOGICAL ACTIVITY PRESENT IN FOODS IN MINUTE CONCENTRATIONS

P. Spanyár, M. Kiszel and *E. Kevei*

(Institute for Research of the Canning, Meat and Refrigeration Industries, Budapest)

Summary

Methods were evolved for the preparation of extracts of foods and of food products complying with all polarographic and organic chemical requirements, including the removal of proteins and the extraction, separation and concentration of various active ingredients. From the properly concentrated extracts, among other compounds, also riboflavin and thiamin may reliably be determined. A new formula was derived for the accurate evaluation of the polarographic waves of minute quantities of substances.

Pál Spanyár
Frau Dr. M. Kiszel,
Frau Dr. E. Kevei
Budapest, II. Herman Ottó út 15.

ERFAHRUNGEN ÜBER DIE POLAROGRAPHISCHE EIWEISSREAKTION

V. KALOUS

(Physikalisch-chemisches Institut der Karlsuniversität, Prag)

Nach Zugabe einer Lösung von Sulfosalicylsäure zum Blutserum und Filtration des entstandenen Niederschlages kann im Filtrat polarographisch durch die BRDIČKAsche Filtratreaktion [1, 2] chemisch, sowie nach entsprechender Vorbereitung des Filtrats (Aussalzung der Eiweisskörper mit Ammoniumsulfat) auch elektrophoretisch die Anwesenheit von Stoffen mit Eiweisscharakter nachgewiesen werden.

Nach den Experimenten von BRDIČKA [3] handelt es sich um hochmolekulare Stoffe mit Charakter der Albumosen oder höherer Polypeptide. Eine chemische Untersuchung der Filtrate wurde erstmals von WALDSCHMIDT-LEITZ [4] durchgeführt. Dieser fällte die Filtrate mit Alkohol und bestimmte den Stickstoff und Glucosamingehalt in den einzelnen Fraktionen. Seiner Meinung nach besitzt die polarographisch aktive Fraktion den Charakter eines Mucoids. Auch MAYER [5] gelangte zu ähnlichen Ergebnissen. WINZLER und BURK [6] analysierten Sulfosalicylsäurefiltrate von Rattenblut. Sie isolierten aus dem Filtrat einen Stoff, den sie seinen Eigenschaften gemäss als Proteose betrachteten. Mit einem eingehenderen chemischen und elektrophoretischen Studium der Filtrate von menschlichem Serum befassten sich WINZLER und Mitarbeiter [7]. Sie bestimmten im Filtrat die Menge des Proteins, Tyrosins, Glucosamins und der Zuckerkomponente. Durch Sättigung des Filtrats mit Ammoniumsulfat bei pH 4 erhielten sie einen Niederschlag mit Eiweisscharakter, der durch seinen Gehalt an Hexosamin und Zucker den Mucoproteinen entspricht. Eine eingehendere elektrophoretische Analyse dieser Filtrate wurde von MEHL und Mitarbeitern [8] vorgenommen. Diese arbeiteten in einem pH-Bereich von 2—8,4 und fanden drei Eiweisskomponenten, die sie als Mucoproteine betrachteten und mit MP-1, MP-2 und MP-3 bezeichneten. Am stärksten ist die Komponente MP-1 vertreten, welche in karzinomatösen Seren deutlich zunimmt. MEHL mit GOLDEN und WINZLER [9] fanden diese Komponente bei der elektrophoretischen Analyse des normalen und karzinomatösen Serums in Acetatpuffer pH 4,5. Nach den elektrophoretischen Untersuchungen, die von MEHL und GOLDEN [10] durchgeführt wurden, hat sich gezeigt, dass sich diese Komponente bei Krebs und anderen pathologischen Prozessen vermehrt.

Wir setzten diese Arbeiten fort und widmeten unsere Aufmerksamkeit [11] nicht nur den WINZLERschen sondern auch den BRDIČKAschen Filtraten.

Die elektrophoretische Analyse zeigte in den WINZLERschen Filtraten die drei von ihm beschriebenen Komponenten und in vielen Fällen auch die vierte Komponente, die als P-4 bezeichnet wurde (Abb. 1). Die Beweglich-

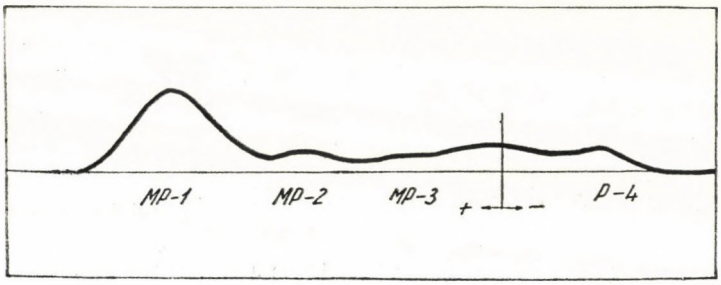


Abb. 1. Elektrophoretisches Diagramm der im Sulfosalicylsäurefiltrat nach WINZLER eines karzinomatösen Serums enthaltenen Komponenten im Acetatpuffer pH 4,62, $\mu = 0{,}1$

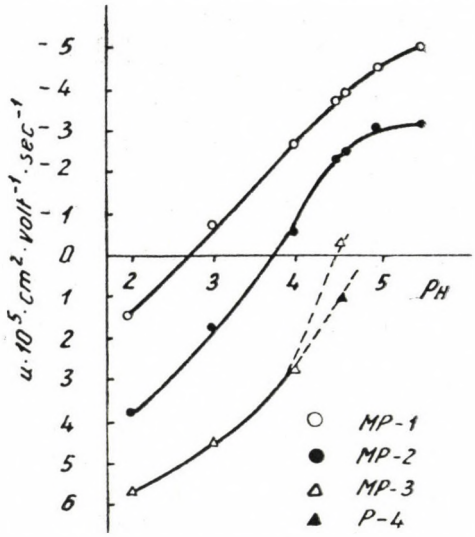


Abb. 2. Abhängigkeit der Beweglichkeiten der Komponenten aus dem Filtrat nach WINZLER vom pH-Wert

keiten und die isoelektrischen Punkte stehen mit den Ergebnissen von WINZLER im Einklang (Abb. 2). Bei der elektrophoretischen Analyse der in den Filtraten nach BRDIČKA anwesenden Stoffe wurden im pH-Bereich 2—5,3 drei Komponenten beobachtet (Abb. 3, 4), die den Komponenten MP-1, MP-2 und MP-3 entsprechen. Die isoelektrischen Punkte liegen bei pH 2,5, 3,9 und 4,3, also ungefähr bei denselben pH-Werten wie bei den Filtraten nach WINZLER. Ein deutlicherer Unterschied ist bei der pH-Funktion der Beweglichkeiten

für die Komponente MP-2 zu sehen, was durch die Lauge, die bei der Herstellung der Filtrate nach BRDIČKA verwendet wird, verursacht sein kann.

In der weiteren Arbeit haben wir elektrophoretische und polarographische Versuche vorgenommen, um die Natur der einzelnen Komponenten näher zu

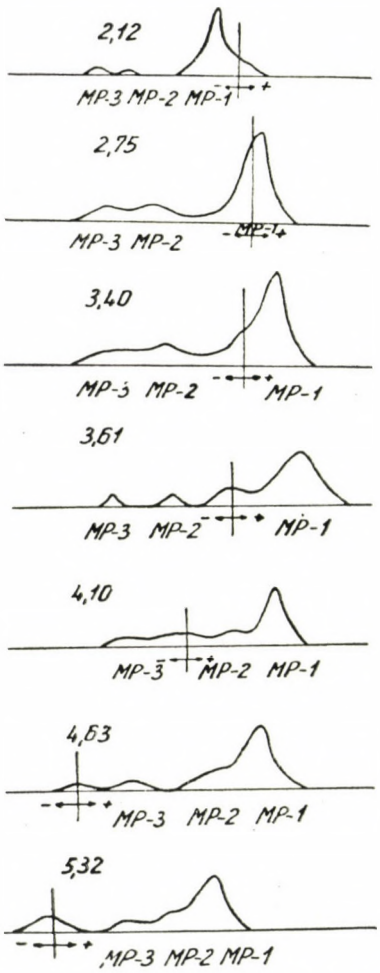


Abb. 3. Elektrophoretische Diagramme der in den Sulfosalicylsäurefiltraten nach BRDIČKA enthaltenen Stoffe bei verschiedenem pH in Citrat und Acetatpufferlösungen

erklären [12]. Aus dem Vergleich der Beweglichkeiten der Komponenten im nativen Serum (Abb. 5) und im Filtrat wurde die Identität der Komponente MP-1 mit dem Mucoprotein M-1 nachgewiesen. Der Vergleich wurde im pH-Bereich 4—5,8 durchgeführt (Abb. 6). Diese Identität ging schon früher aus den Experimenten von MEHL und WINZLER bei pH 4,5 hervor [8,9]. Die Komponente MP-2 ist nicht mit der Komponente M-2 (natives Serum) identisch.

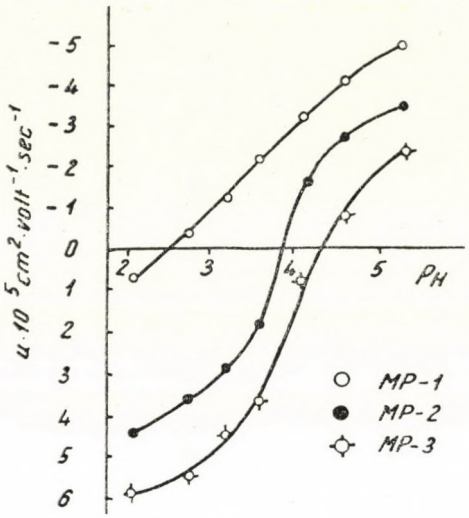


Abb. 4. Abhängigkeit der Beweglichkeiten der Komponenten des Filtrats nach BRDIČKA vom pH-Wert

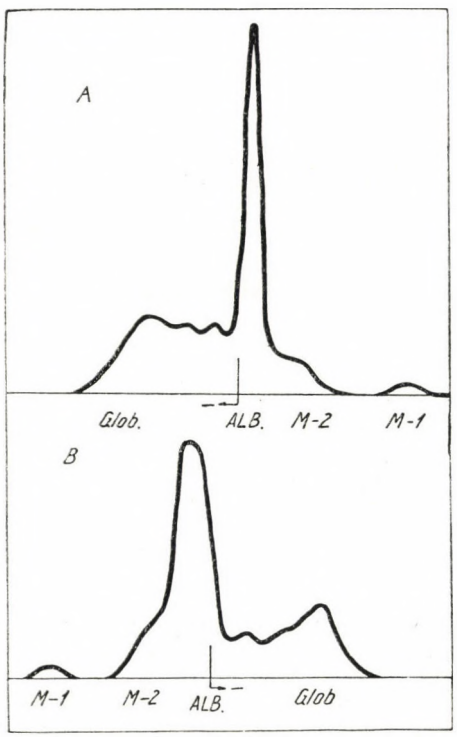


Abb. 5. Elektrophoretisches Diagramm eines karzinomatosen Serums im Acetatpuffer vom pH 4,62, $\mu = 0{,}1$. Verdünnung des Serums 1 : 2. a) ansteigende Grenzfläche für die Komponente M-1 und M-2, b) absteigende Grenzfläche

Die Komponente MP-3 hat bei pH 4,5 die Beweglichkeit des Albumins. Die flachen Maxima der Komponenten MP-2 und MP-3 weisen auf eine Inhomogenität hin, so dass es wahrscheinlich ist, dass diese Komponenten aus Gemischen von Proteinen mit gleichen Beweglichkeiten bestehen. Die Frage der Natur der Stoffe im Filtrat hängt mit der Löslichkeit der einzelnen Blutserumkomponenten und vor allem der Glycoproteine in der Sulfosalicylsäure zusammen. Wie schon früher erwähnt wurde, wird das Mucoprotein MP-1 (das nach neueren Angaben mit dem α_1-Glycoprotein [13] elektrophoretisch identisch ist) durch die Sulfosalicylsäure nicht gefällt. In das Filtrat gehen wahrscheinlich auch die bis jetzt nicht gut bekannten Polypeptide aus der Fraktion VIII (SCHMID

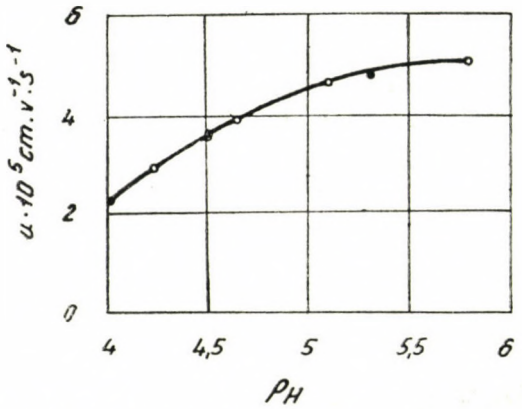


Abb. 6. Abhängigkeit der Beweglichkeiten der Komponente MP-1 und M-1 vom pH im Acetatpuffer, $\mu = 0{,}1$. ● M-1, ○ MP-1

[13]) über. Die Löslichkeit der in der letzten Zeit beschriebenen α_2-Glycoproteine (SCHMID [15, 16]) und des Glycoproteins aus der Fraktion III-O (BROWN und Mitarbeiter [17]), ist noch nicht bekannt.

Bei der Komponente MP-2, die im nativen Serum nicht nachgewiesen wurde, besteht noch die Möglichkeit, dass sie erst nach der Zugabe der Sulfosalicylsäure als ein Spaltprodukt der Bluteiweisskörper entsteht. Deshalb wurde eine Serie von Experimenten mit verschiedenen Sulfosalicylsäurekonzentrationen durchgeführt. Die elektrophoretische Analyse löste dieses Problem nicht klar, weil das Maximum der Komponente MP-2 bei den grossen Konzentrationen der Sulfosalicylsäure durch ein neues flaches Maximum deformiert wird (Abb. 7). Die polarographischen Parallelversuche zeigten, dass die Höhe der Welle von der Konzentration der Sulfosalicylsäure abhängt, und zwar, dass sie sowohl bei hohen als auch bei niedrigen Konzentrationen einen Maximalwert besitzt (Abb. 8). Die elektrophoretische Analyse der Filtrate mit niedriger Konzentration der Säure hat gezeigt, dass die Bluteiweisskörper nicht vollkommen ausgefällt sind (Abb. 7).

Die Komponenten MP-1 und MP-3 wurden in der aus zwei Teilküvetten zusammengesetzten elektrophoretischen Zelle gewonnen und polarographisch untersucht. Die beiden Komponenten sind polarographisch aktiv und geben eine Eiweissdoppelwelle. Weil bei der Konzentrationsabhängigkeit der Kom-

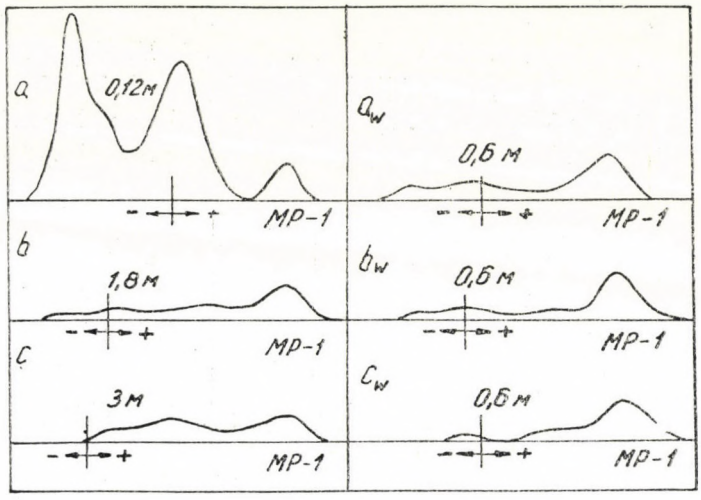


Abb. 7. Elektrophoretische Diagramme der Stoffe aus Sulfosalicylsäurefiltraten, die durch Fällung von drei verschiedenen Proben eines normalen Plasmas durch verschiedene Konzentrationen von Sulfosalicylsäure erhalten wurden. Zu Vergleichszwecken wurden auch die mit a_W, b_W, c_W bezeichneten Filtrate nach WINZLER hergestellt

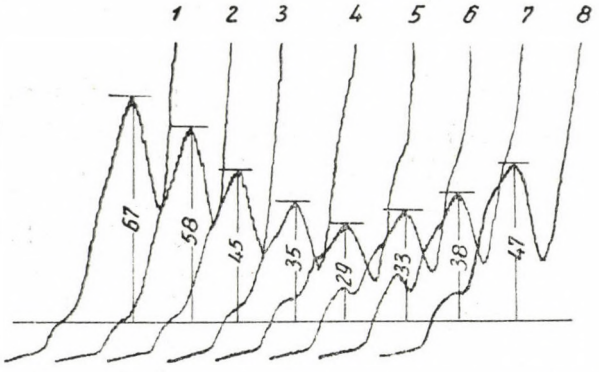


Abb. 8. Filtratwellen bei verschiedener Sulfosalicylsäurekonzentration (dieselbe Arbeitsmethode wie bei der BRDIČKAschen Filtratreaktion). Endkonzentration bei der Sulfosalicylsäure: (1) 1,79, (2) 1,46, (3) 1,15, (4) 0,79, (5) 0,46, (6) BRDIČKA Filtrat, (7) 0,04, (8) 0,02n

ponenten MP-1 und MP-3 und des Gemisches aller Komponenten das Gemisch den höchsten Grenzwert zeigte, ist es sehr wahrscheinlich, dass auch die Komponente MP-2 polarographisch aktiv ist. Die kleinere polarographische Aktivität der Komponente MP-1 steht wahrscheinlich mit dem niedrigen Gehalt von

Cystin im Zusammenhang (0,5% nach den Angaben von WEIMER und Mitarbeitern [14]).

Im Zusammenhang mit allen bisher beschriebenen Experimenten haben wir mit ŠTOKR [18] Versuche unternommen, die Menge der einzelnen Komponenten im Filtrat der individuellen Seren zu identifizieren. Wir versuchten hierzu die Aussalzungskurven zu benützen. Die Aussalzung der Proteine wurde mit Hilfe der polarographischen Reaktion verfolgt. Die Aussalzungskurven (Stufenhöhe gegen Sättigungsgrad der Lösung mit Ammoniumsulfat) zeigten

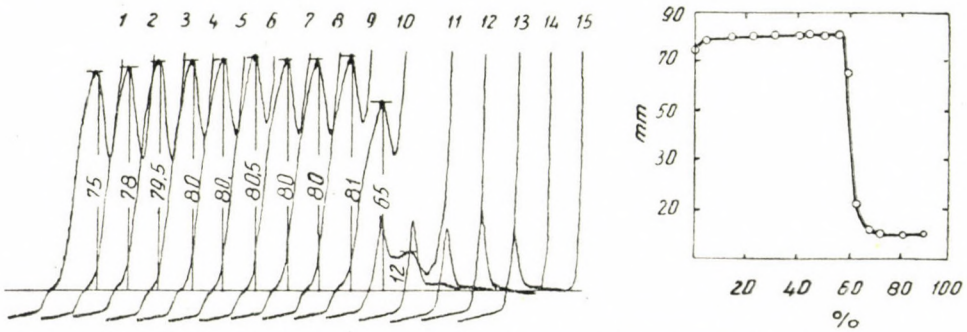


Abb. 9. Die Aussalzungskurve von menschlichem Serumalbumin

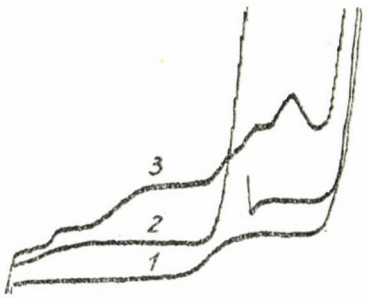


Abb. 10. Katalytische und Reduktionswelle des Cystins in Kobalt(III)-Lösung. (1) $1{,}2 \cdot 10^{-3}$m Cystin in 1m NH_3, (2) Kobalt(III)-Lösung: 0,001m $[Co(NH_3)_6]Cl_3$, 0,1m NH_4Cl, 1m NH_3, (3) $1{,}2 \cdot 10^{-3}$m Cystin in Kobalt(III)-Lösung

drei nicht gut ausgeprägte Stufen, und zwar sowohl bei normalen Seren, als auch bei Seren von Krebskranken. Die Erfahrungen haben wir zu einer fraktionierten Aussalzung des Filtrats mit Ammoniumsulfat benutzt. Leider haben wir, wie die Elektrophorese zeigte, Gemische von Komponenten erhalten. Die benutzte Methode haben wir weiter ausgearbeitet und an Serumalbumin nachgeprüft [19]. Den Lösungen von Albumin wurden Lösungen verschiedener Konzentration von Ammoniumsulfat zugefügt. Nach Filtrieren wurde das Eiweiss in der speziellen Lösung (0,001m $Co(NH_3)_6Cl_3$, 0,05m NH_4Cl, 1m NH_3, 0,3m $(NH_4)_2SO_4$) polarographisch bestimmt (Abb. 9).

Ausserdem haben wir unter Mitarbeit von JIRSA [20] das Verhalten von Cystin in Kobalt(III)-Lösungen studiert. Wir stellten fest, dass bei hohen Konzentrationen von Cystin (0,001m) auch in den Kobalt(III)-Lösungen eine katalytische Welle erscheint (Abb. 10). Bei diesen Experimenten wurde eine neue Welle beobachtet, die wahrscheinlich dem Komplex des Kobalts mit Cystin entspricht. Diese Welle findet man ebenfalls bei hohen Cystinkonzentrationen auch in Kobalt(II)-Lösungen, was von MÜLLER [21] schon früher bemerkt wurde.

In der letzten Zeit studierten wir die Eiweissreaktion in den kobalthaltigen Glycinpuffern in Abwesenheit von Ammoniak [22]. Als Eiweiss diente bei diesen Experimenten kristallisiertes Insulin. Bei höheren Konzentrationen von Glycin wurde nur ein katalytisches Maximum, bei niedrigen Konzentrationen eine ähnliche Doppelwelle wie in den ammoniakalischen Puffern erhalten. Es wurde die Abhängigkeit der katalytischen Welle von der Konzentration des Insulins und Kobalts, von der Pufferkapazität und vom pH studiert. Der katalytische Effekt ist bei ähnlichen Bedingungen in Glycinpuffern ungefähr dreimal niedriger als in den ammoniakalischen Puffern.

In der Zukunft wollen wir die Parallelität (die in den vorläufigen Experimenten nachgewiesen wurde) zwischen dem Gehalt der Komponente M-1 (natives Serum) und der Höhe der Eiweisswelle (BRDIČKAsche Filtratreaktion) studieren. Ausserdem wollen wir die Arbeit, die sich mit der Anreicherung der Komponente M-2 (natives Serum) und mit der Bestimmung ihres isoelektrischen Punktes befasst, abschliessen. Vor allem möchten wir uns den theoretischen Fragen, die mit der katalytischen Reaktion an der tropfenden Elektrode im Zusammenhang stehen, widmen.

ZUSAMMENFASSUNG

Der katalytische Effekt der Eiweisskörper wurde von BRDIČKA zum Studium der Sulfosalicylsäurefiltrate der Blutsera (BRDIČKA's Filtratreaktion) eingeführt. Die Stoffe, die diese Reaktion verursachen, wurden polarographisch und elektrophoretisch untersucht. Alle drei elektrophoretisch nachweisbaren Komponenten sind polarographisch aktiv. Zur Erklärung der Komponente MP-2 wurden Versuche mit verschiedenen Konzentrationen der Sulfosalicylsäure durchgeführt. Zum Studium der Filtrate wurde eine neue Methode der Aussalzungskurven eingeführt.

Im Zusammenhang mit der katalytischen Reaktion wurde das Verhalten von Cystin in Co(III)-Testlösung und des Insulins in Glycinpuffern studiert.

LITERATUR

1. R. BRDIČKA: Acta Union Internat. contre Cancer Louvain, Belgique **3**, 13 (1938).
2. R. BRDIČKA, F. V. NOVÁK und J. KLUMPAR: Acta radiol. et. cancerol. Bohemiae et Moraviae **2**, 27 (1939).
   M. BŘEZINA und P. ZUMAN: Polarografie v lékařstvi biochemii a farmacii, (Zdravotnické nakladatelstvi, Praha) 1952.
3. R. BRDIČKA: Klin. Wschr. **18**, 305 (1939).
4. E. WALDSCHMIDT-LEITZ: Angew. Chem. **51**, 324 (1938).

5. K. MAYER : Hoppe—Seyler's Z. physiol. Chem. **275**, 16 (1942).
6. R. J. WINZLER und D. M. BURK : J. Nat. Cancer Inst. **4**, 417 (1944).
7. R. J. WINZLER, A. W. DEVOR, J. W. MEHL und I. M. SMYTH : J. Clin. Invest. **27**, 609 (1949).
8. J. W. MEHL, J. HUMPHREY und R. J. WINZLER : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **72**, 106 (1949).
9. J. W. MEHL, F. GOLDEN und R. J. WINZLER : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **72**, 110 (1949).
10. J. W. MEHL und F. GOLDEN : J. Clin. Invest. **29**, 1214 (1950).
11. V. KALOUS : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 1039 (1954); Chem. Listy **48**, 747 (1954).
12. V. KALOUS : Chem. Listy **49**, 171 (1955).
13. K. SCHMID : J. Amer. Chem. Soc. **75**, 2532 (1953).
14. H. E. WEIMER, J. W. MEHL und R. J. WINZLER : J. Biol. Chemistry **185**, 561 (1950).
15. K. SCHMID : J. Amer. Chem. Soc. **76**, 2532 (1953).
16. K. SCHMID : J. Amer. Chem. Soc. **77**, 742 (1955).
17. R. BROWN, W. BAKER, A. PETERKOFSKY und D. KAUFMANN : J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4244 (1954).
18. J. ŠTOKR : Diplomarbeit, Karlsuniversität Prag, **1953**.
19. V. KALOUS und J. ŠTOKER : Chem. Listy **49**, 567 (1955).
20. M. JIRSA und V. KALOUS : Chem. Listy **48**, 775 (1954).
21. O. H. MÜLLER : Federation Proc. **8**, 115 (1949).
22. V. KALOUS : Chem. Listy; Collection Czechoslov. Chem. Communs. **21**, 1227(1956).

DISKUSSION

I. BOZSAI : Im Institut von Prof. GRÓH führten wir in den Jahren 1941—43 Untersuchungen über Blutgruppenbestimmung durch. Die mikrogravimetrischen Analysen zeigten einen verschiedenen Cystingehalt des Hämoglobineiweisses im Blute von Individuen verschiedener Blutgruppen. Auf Grund der Mikroschwefelbestimmungen wurde bei der O-Blutgruppe ein Cystingehalt von 1,19% gefunden, bei den übrigen durchschnittlich 1,35. Parallel mit den Mikroverbrennungen wurden polarographische Studien auch zur Bestimmung des Cystingehaltes des Globins durchgeführt. Dem Globinhydrolysat wurde Cystin in bekannter Menge zugegeben, und die Erhöhung der Cystinwelle beobachtet. An der Cystinwelle traten Maxima zweiter Art auf. Diese Maxima wurden dem Hystidin zugeschrieben. Die erste Annahme war, dass die bei 1,72 Volt auftretenden Stufenexaltationen durch den Kobaltkomplex des Hystidins hervorgerufen werden. Nach unseren Versuchen mit reinem Hystidin und mit Hystidin enthaltenden Hydrolysaten war jedoch diese Frage nicht genau beantwortet. Meine Frage ist daher, ob Sie solches beobachtet haben, und ob Sie es versuchten, Hystidin und Cystin polarographisch zu unterscheiden.

V. KALOUS: Die polarographische Bestimmung des Cystins hat sich bei Eiweiss- körpern mit hohem Cystingehalt bewährt. Die Anwesenheit grösserer Mengen anderer Aminosäuren kann stören. So beseitigt Histidin das Maximum des Cystins und ersetzt es durch sein spitziges Maximum (Sládek und Lipschütz). Das polarographische Verhalten der Aminosäuren in Anwesenheit von Kobalt sollte man einer Revision unterwerfen, weil der katalytische Effekt nicht ausführlich untersucht wurde und weil heute besser definierte Präparate zur Verfügung stehen als vor 20 Jahren, zu welcher Zeit sich Brdička und andere Autoren mit diesen Untersuchungen befassten.

G. LAMM : Ich möchte Sie fragen, konnten Sie neben quantitativen Veränderungen auch eine qualitative Änderung der Aminosäurezusammensetzung der einzelnen Fraktionen feststellen? Meine zweite Frage wäre, ob die elektrophoretischen Untersuchungen mit den Sera normaler oder kranker Individuen durchgeführt wurden. In der englischen Literatur wurde auf die Rolle der

lipoid *Clearing-factor* hingewiesen. In Ungarn wurde bei den elektrophoretischen Untersuchungen eine Albuminvorstufe gefunden. Welche Erfahrungen haben Sie über diese Störwirkung der Lipoide?

V. KALOUS: Die einzelnen Fraktionen haben wir nicht hinsichtlich ihres Gehalts an Aminosäuren analysiert. Dieses Problem ist aber sehr interessant, weil seine Lösung die Aufdeckung der feinen Abweichungen in der Zusammensetzung der Fraktion bringen könnte. Was die zweite Frage betrifft, haben wir uns mit den Seren normaler und kranker Personen (meist Krebskranker) befasst. Unsere elektrophoretische Analyse wurde hauptsächlich im Acetatpuffer durchgeführt und deshalb haben wir keine Erfahrungen über die Albuminvorstufe, die im Veronalpuffer beobachtet wurde, gewonnen. Meinem Wissen nach macht sich die Störwirkung der Lipoide an der Grenzfläche des β-Globulins geltend, wo die sog. „β-disturbance" diesen Stoffen zugeschrieben wurde.

EXPERIENCES WITH THE USE OF THE POLAROGRAPHIC PROTEIN REACTION

V. Kalous

(Institute of Physical Chemistry, Karl University, Prague)

Summary

The catalytic action of proteins was applied by BRDIČKA in studies on the sulphosalicylic acid filtrates of sera (BRDIČKA filtrate test). Substances showing this reaction were investigated both by polarography and by electrophoresis. All three components which can be detected by electrophoresis proved to be active in polarography. In order to clear up the nature of component MP-2 experiments were carried out with various concentrations of sulphosalicylic acid. In the course of studies into the nature of filtrates a new method was evolved for deriving salting-out curves.

In connection with the catalytic reaction, the behaviour of cystin was studied in a cobalt-(III) test solution, and that of insulin on glycine buffers.

Dr. Vítěz KALOUS Praha II., Albertov 2030.

POLAROGRAPHISCHE EIWEISS-UNTERSUCHUNGEN VON SERUM UND LEBER BEI LEBERSCHÄDIGUNGEN

GY. LAMM

(Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaft, Budapest)

Bekannterweise ist die Leber die Hauptstelle des intermediären Eiweiss-Stoffwechsels und das wichtigste Organ der Serumeiweiss-Synthese. Wir dürfen daher annehmen, dass die Änderung der BRDIČKA-Reaktion in den Seren der Krebs- und chronischen Infektionskranken wahrscheinlich mit einer Funktionsänderung der Leber verbunden ist. Bewährt sich diese Hypothese, so darf man weiter fragen, ob sich der gestörte Eiweissmetabolismus der Leber in der Änderung der BRDIČKA-Reaktion wirklich regelmässig widerspiegelt. Da die schwefelhaltigen Aminosäuren, auf die sich diese Reaktion unseres heutigen Wissens gründet, in dem Pathomechanismus der verschiedenen Leberschädigungen eine wichtige Rolle spielen, schienen uns diese Probleme auch vom pathophysiologischen Gesichtspunkte aus interessant. BERMAN [1] und MELKA [2] beobachteten eine erniedrigte Filtratwelle bei parenchymatösen Lebererkrankungen, sowie in *Hepatitis epidemica*, als auch bei Cyrrhose. Bei Entzündung der Gallenwege dagegen war die Filtratwelle erhöht, so dass BERMAN die polarographische Serumeiweissuntersuchung als differentialdiagnostische Methode empfiehlt.

MÜLLER [3] führte die Bestimmung des polarographischen Protein-Indexes ein, der den Zusammenhang der Filtratwelle mit der denaturierten Welle ausdrückt. Seiner Meinung nach ist der Wert dieses Indexes eine kennzeichnende Konstante des normalen Eiweissmetabolismus des Serums. Der Normalwert dieses Indexes ist bei einer gegebenen Person ziemlich beständig und die Streuungsbreite ist bei gesunden Personen auch verhältnismässig gut bestimmbar. Er bestätigte ferner, dass der absolute Wert des Indexes von den äusseren Bedingungen der Untersuchung (Temperatur, Tropfzeit usw.) nicht zu sehr beeinflusst wird. Trotzdem, dass wir in letzterwähnter Hinsicht die Ergebnisse von MÜLLER nicht bestätigen konnten, wählten wir als Methode die Bestimmung des polarographischen Protein-Indexes (P. I.).

Mit FRANK und GARTA [4] untersuchten wir die Sera von 77 Leberkranken und 82 Lebergesunden. Wir benützten immer Nüchternblut und die polarographische Untersuchung der Seren geschah nach den Vorschriften von MÜLLER. Nach unseren eigenen Beobachtungen zeigte der Indexwert gewisse

Schwankungen auch bei Normalpersonen während der wiederholten Untersuchungen, höchstwahrscheinlich in Abhängigkeit von der äusseren Temperatur. Um unsere Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, haben wir bei jeder Gelegenheit gleichzeitig auch Sera von Normalpersonen untersucht und drückten unsere Befunde bei Leberkranken immer im Verhältnis zu diesen Normalwerten, als prozentuale Differenz aus.

In 32 Fällen von akuter viraler Hepatitis fanden wir eine rund 25%-ige Erniedrigung des Index-Wertes gegenüber der Kontrolle, die sich statistisch als signifikant erwies. In subakuten Fällen betrug die Erniedrigung 14%. Die wiederholte Untersuchung der Seren während der Genesung zeigte eine allmähliche Erhöhung des Indexes, die aber im Laufe der Krankenhausverpflegung die Kontroll-Werte nicht erreichte. Bei 16 Cyrrhose-Kranken fanden wir einen um rund 50% erhöhten Index (Tabelle I).

Tabelle I

Polarographische P. I.-Werte bei Lebererkrankungen

Diagnose	(1) Nummer der Fälle	(2) Höhe der Filtrat-Welle mm	(3) Höhe der denaturierten Welle mm	(4) Protein-Index (P. I.) (2)/(3)×15	(5) Abweichung von der jeweiligen Kontrolle %
Hepatitis acuta	32	13,4	57,9	3,5	— 24
Hepatitis subacuta	25	16,0	60,3	3,9	— 14
Geheilte Hepatitis	16	16,5	63,5	4,1	— 10
Normal-Fälle	82	18,7	62,7	4,6	—
Chronische Hepatitis	4	12,0	60,9	3,1	— 32
Cyrrhose	18	17,9	44,7	6,6	+ 45

Die Ergebnisse schienen uns überraschend aus zwei Gründen: erstens wurde in der Literatur bisher, unseres Wissens nach, noch keine Beobachtung über einen erniedrigten Protein-Index mitgeteilt; MÜLLER und seine Schüler berichteten nur über erhöhte Index-Werte, so bei Krebskranken, wie auch bei chronischen Infektionen. Andererseits fanden wir eine statistisch hochsignifikante und vom Normalwert in entgegengesetzter Richtung verschobene Differenz zwischen den Werten bei *Hepatitis epidemica* und bei Cyrrhose, was vom diagnostischen Standpunkt aus sehr bemerkenswert sein kann. Diese einander entgegengesetzte Verschiebung der Indexwerte vom Normalen schien uns interessant genug um dieser Frage auch tierexperimentell nachzuforschen.

Nach einmaligen mässigen (0,1—0,2 ml/100 g) CCl_4-Dosen entsteht in der Rattenleber nach HIMSWORTH [5] eine zentrilobuläre Nekrose, die dem anatomischen Bilde der menschlichen viralen Hepatitis weitgehend ähnlich ist. Mit chronischer CCl_4-Verabreichung dagegen kann in Ratten in einigen Wochen eine Leberfibrose hervorgerufen werden, die histologisch der der menschlichen

Cyrrhose entspricht. Mit Hilfe dieser tierexperimentellen Leberschädigung wollten wir die bei Menschen beobachteten Ergebnisse überprüfen und den Übergang des niedrigen Indexes bei akuter Hepatitis in den erhöhten bei Cyrrhose näher beobachten. Bei akuter, wie auch bei chronischer CCl_4-Vergiftung fanden wir aber im Rattenserum immer nur einen erhöhten Index. Ob dieses verschiedene Verhalten der Rattenseren durch die Differenz im Mechanismus der viralen Hepatitis gegenüber der CCl_4-Vergiftung, oder durch die verschiedene Reaktionsfähigkeit der Menschen bzw. Ratten bedingt ist, können wir heute noch nicht beurteilen. Um dieser Frage näher zu treten, versuchten wir anstatt CCl_4-Vergiftung in einer anderen Weise Leberschädigung hervorzurufen. Mit KORPÁCZY und SZALAY haben wir in weissen Ratten verschiedene diätetische Leberschädigungen hervorgerufen und untersuchten die Verschiebung des Protein-Indexes im Zusammenhange mit den histologischen und Serumeiweissfraktions-Veränderungen. Bei einer Rattengruppe wurde durch Fütterung von eiweissfreier Kost eine schwere Fettinfiltration der Leber verursacht. Die zweite Gruppe erhielt eine Kost, in der getrocknete Bierhefe als einzige Eiweissquelle diente, welche zu 20% in das Futter gemischt wurde. Aus der Literatur ist es bekannt, dass mit solcher Nahrung gefütterte Ratten in 50 bis 100 Tagen der akuten massiven Lebernekrose erliegen. In beiden Gruppen wurde ein stark erhöhter Indexwert im Serum beobachtet. Bei Ratten, bei denen nach der Methode von Sós eine durch Methioninmangel erzeugte Leberschädigung verursacht wurde, konnte keine ausgeprägte Abweichung des Indexes von den Kontrollwerten beobachtet werden (Tabelle II).

Tabelle II

Polarographische P. I.-Werte in Tierexperimenten

Art der Leberschädigung	Nummer der Ratten	Abweichung des P. I. von der Kontrolle	
		Serum %	Leber %
Schwere Fettinfiltration und Degeneration.	10	+ 50	+ 150
Massive Lebernekrose	20	+ 28	+ 144
Methionin-Mangelerscheinungen	15	+ 17	+ 13
Leberfibrose durch CCl_4-Vergiftung	15	+ 43	—
Chronische Leberparenchemydegeneration ..	30	+ 14	— 43

In der Auffassung, dass das Serum die Eiweiss-Stoffwechselstörungen der Leber widerspiegelt, wurde in dieser Experimentserie der Protein-Index auch selbst in dem Leberhomogenisat bestimmt. Nach Ausblutung wurde die Leber herausgeschnitten, in Wasser gewaschen und gewogen. Nach Zugabe eines dreifachen Volumens von bisdestilliertem Wasser wurde in einem Waring Blendor ähnlichem Homogenisator homogenisiert und die erhaltene zellfreie

Suspension 20 Minuten lang zentrifugiert. Zur Untersuchung wurde immer von dem klaren und hellen Supernatant abpipettiert. Aus Tabelle II ist ersichtlich, dass der Protein-Index in dem Leberhomogenisat ähnliches Verhalten zeigt, wie im Serum, d. h. in den zwei erstgenannten Gruppen ist er signifikant erhöht, während in der dritten Gruppe kein Unterschied von der Kontrolle aufzuweisen ist. Ein erniedrigter Protein-Index im Serum konnte also in unseren Tierexperimenten nicht hervorgerufen werden. In einer anderen Experimentserie, wo wir unseren Ratten eine 16% getrocknete Bierhefe enthaltende Nahrung verabreichten und dadurch eine chronische Leberparenchymdegeneration hervorriefen, waren die Index-Werte im Leberhomogenisat, gegenüber der Kontrolle, stark erniedrigt. Es ist uns also gelungen, wenn auch nicht im Serum, so doch in der Leber selbst eine von der Art und Intensität der Leberparenchymschädigung abhängende, einander entgegengesetzte Verschiebung des Index-Wertes von der Kontrolle zu produzieren.

In den letzten Jahren gelang es WINZLER zu beweisen, dass die Filtratreaktion von BRDIČKA eine strenge Parallelität mit dem Mucoproteingehalt des Serums aufweist [6]. Diese von ihm M. P.-I genannte Mucoproteinfraktion vermehrt sich im Serum von Krebs- und Infektionskranken, also in den Fällen, in welchen bekanntlich die Filtratwelle erhöht ist. Nach den Untersuchungen von WINZLER, ferner von KALOUS und TIMÁR [7, 8] ist die isolierte M. P.-I-Fraktion polarographisch aktiv. Bei Hepatitis und Cyrrhose hat BERMAN, wie schon erwähnt, eine erniedrigte Filtratwelle beschrieben und fünf Jahre später beobachteten GREENSPAN und DREILING [9] die Verminderung des Serum-Mucoproteingehaltes bei parenchymatösen Leberschädigungen, d. h. bei Hepatitis und Cyrrhose, wogegen bei hepatischen und besonders bei extrahepatischen Entzündungsprozessen der Mucoproteingehalt steil zunimmt. Diese Ergebnisse sind in Einklang mit der WINZLERschen Auffassung über die polarographische Eiweissreaktion, die übrigens heute schon allgemein angenommen ist.

In unseren Fällen von menschlicher Hepatitis gründen sich die niedrigen Indexwerte hauptsächlich auch auf die Erniedrigung der Filtratwelle, ein Befund, der mit dem obenerwähnten im Einklang ist. Bei Cyrrhose aber bleibt die Filtratwelle meistens im Bereich des Normalen und die Erhöhung des Indexes wird von der Erniedrigung der denaturierten Welle verursacht. Den grössten Teil des Gesamt-SH-Gehaltes des Serums enthält die Albumin-Fraktion. MÜLLER bewies durch die polarographischen Untersuchungen der verschiedenen Eiweissfraktionen, dass der grösste Teil der polarographischen Aktivität des Serums wirklich an Albumin gebunden ist. Es liegt daher auf der Hand, die durch die niedrige denaturierte Welle bedingte Indexerhöhung bei Cyrrhose mit der wohlbekannten Albuminverminderung bei dieser Krankheit zu erklären. In unseren Tierexperimenten konnte dagegen mit Hilfe der parallel durchgeführten Papierelektrophorese kein direkter Zusammenhang zwischen

Albumingehalt und Höhe der denaturierten Welle, bzw. dem Indexwert festgestellt werden.

Wir müssen aber bedenken, dass die Verminderung der denaturierten Welle nicht nur durch eine absolute Albuminverminderung, sondern auch durch eine qualitative Veränderung des Albuminmoleküls bedingt werden kann. SCHOENBACH und ARMISTEAD [10] haben tatsächlich mit der Methode der amperometrischen SH-Titration festgestellt, dass im Falle einer Leberparenchymschädigung neben der bekannten Albuminverminderung ein verändertes Albumin im Serum erscheint, dessen SH-Gehalt unter dem Normalen liegt.

Es wäre auch ziemlich schwer die Ergebnisse unserer Tierexperimente allein durch die Änderungen des Serum-Mucoproteingehaltes erklären zu wollen. Bei Leberparenchymschädigungen, wie schon erwähnt, sinkt der Mucoproteingehalt im Serum und damit auch die Höhe der Filtratwelle, während bei unseren Ratten, unabhängig von der Art der Induzierung der Leberschädigung (toxisch oder diätetisch) immer nur ein erhöhter Index und dabei meistens auch eine erhöhte Filtratwelle vorhanden war.

In der letzten Zeit konnten CUMMINGS und FLYNN und auch andere Autoren [11] mit Hilfe der quantitativen Papierchromatographie keine ausgeprägte Differenz in der Aminosäurezusammensetzung der verschiedenen Serumeiweiss-Fraktionen von Gesunden und Leberkranken beobachten. Dieser Befund beweist aber keineswegs, dass der strukturelle Aufbau der Serumeiweissmoleküle der Leberkranken mit demjenigen der Gesunden identisch ist. In einem neuen Experiment wurde die Blockierbarkeit der SH-Gruppen im Serum von leberschädigten Ratten durch Zugabe von p-Chlormercuribenzoat *in vitro* untersucht. Die Experimente sind noch im Gange und hier kann nur so viel gesagt werden, dass die ersten Resultate darauf zu deuten scheinen, dass bei leberschädigten Ratten die Serumeiweisskörper eine verstärkte Blockierbarkeit ihrer SH-Gruppen gegenüber der Kontrolle aufweisen. Wir sind daher der Meinung, die wir allerdings mit weiteren Experimenten zu beweisen beabsichtigen, dass die Verschiebung des Protein-Indexes bei Leberkrankheiten einen qualitativ veränderten Serumeiweiss-, bzw. SH-Metabolismus widerspiegelt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass mit der Bestimmung des MÜLLERschen Protein-Indexes eine ausgeprägte Differenz im Verhalten von Seren der Hepatitis- bzw. Cyrrhose-Kranken festgestellt wurde. In Tierexperimenten konnte die bei menschlicher viraler Hepatitis beobachtete Verminderung des Indexes nicht reproduziert, sondern immer nur eine Erhöhung des Indexes im Serum registriert wurden. Im Leberhomogenisat dagegen war der Protein-Index im Falle von chronischer Parenchymdegeneration stark vermindert. Die Verschiebungen des Indexwertes vom Normalen hängen nicht nur von dem Ausmass der histologischen Veränderungen, sondern auch von der Art der Induzierung der Leberschädigung ab. Bei Methioninmangel z. B.

waren die Indexwerte, sowohl im Serum, als auch im Leberhomogenisat, trotz ausgeprägter anatomischer Veränderungen im Bereich des Normalen.

An Hand der erwähnten Literaturangaben und eigenen Beobachtungen deuten wir unsere Resultate als Zeichen für einen qualitativ veränderten Eiweiss-Metabolismus bei Leberschädigung.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Wert des MÜLLER-Indexes:

$$\frac{\text{Filtrat-Welle (mm)}}{\text{Denaturierte Welle (mm)}} \cdot 15$$

bei verschiedenen Leberkranken untersucht. Bei *Hepatitis epidemica* zeigte sich eine signifikante Erniedrigung des Indexes, bei Lebercyrrhose erhöhte er sich. Bei der Untersuchung von mit CCl_4 vergifteten Ratten-Sera konnten nach akuten und auch nach chronischen Vergiftungen immer nur erhöhte Index- und Filtrat-Wellen-Werte beobachtet werden.

Bei diätetischen Leberschädigungen (wie z. B. bei durch Methioninmangel hervorgerufener Parenchymschädigung) wird der Indexwert im Serum oder Leberhomogenisat entweder erhöht, oder es zeigt sich gar keine Abweichung. Bei Leberparenchymdegeneration anderen Ursprungs wurde dagegen eine signifikante Verminderung des Indexwertes in dem Leberhomogenisat mit einer parallelen Erhöhung des Indexes im Serum festgestellt.

LITERATUR

1. J. BERMAN: Časopis lékařů českých **87**, 226 (1948).
2. J. MELKA: Časopis lékařů českých **87**, 467 (1948).
3. O. H. MÜLLER und J. S. DAVIS JR.: J. Biol. Chemistry **159**, 667 (1945).
4. M. FRANK, J. GARTA und G. LAMM: Acta Med. Hung. 279 (1956).
5. H. P. HIMSWORTH: Diseases of the liver (Oxford Press London) 1951.
6. R. J. WINZLER, H. E. WEIMER und J. W. MEHL: J. Biol. Chemistry **185**, 501 (1950).
7. V. KALOUS: Acta Chim. Hung. **9**, 301 (1956).
8. M. TIMÁR und L. S. SÁSDI: Acta Chim. Hung. **9**, 451 (1956).
9. E. M. GREENSPAN und D. A. DREILING: A. M. A. Arch. intern. Med. **91**, 474 (1953).
10. E. B. SCHOENBACH, E. B. ARMISTEAD und N. WEISMAN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **73**, 44 (1950).
11. A. J. CUMMINGS and F. V. FLYNN: J. Clin. Path. **8**, 153 (1955).

DISKUSSION

B. KELENTEY: Ich möchte den Vortragenden fragen, ob er während der Tierversuche irgendeine Berechnung über den Mittelwert, über den mittleren Fehler durchführte? Mit wieviel Tieren wurden die Versuche durchgeführt? Ich möchte weiterhin fragen, ob der Eiweissindex mit den Ergebnissen anderer Versuchsmethoden verglichen wurde?

G. LAMM: Die Versuche wurden statistisch meistens nicht ausgewertet, da die Effekte alle significant waren. Übrigens sind hier nur jene Ergebnisse gezeigt, die auch ohne statistische Auswertung überzeugend sind. Tierversuche, die mit Polarographie kombiniert sind, sind ziemlich langwierig. Das Versuchs- und Kontrolltier muss an dem gleichen Tage untersucht werden. Jedes Tier bedeutet 4 polarographische Aufnahmen. Man müsste bis in die Nacht arbeiten

um so viel Angaben zu bekommen, die die statistische Auswertung ermöglichen. Die Versuche wurden an mehr als 100 Ratten unternommen, in einer Gruppe befanden sich durchschnittlich 20, aber mindestens 10 Tiere.

Der Eiweissgehalt wurde mit Ergebnissen anderer Methoden verglichen. Elektrophoretische Untersuchungen wurden auch durchgeführt und die Ergebnisse stimmen mit denen der Literatur überein. In einigen Fällen wurde eine funktionelle Untersuchung unternommen (Bromsulpholein-Retention). Auch hier stimmten die Ergebnisse.

POLAROGRAPHIC INVESTIGATIONS OF PROTEINS OF THE SERUM AND OF THE LIVER IN LIVER LESIONS

Gy. Lamm

Summary

(Institute of Food and Nutrition Science, Budapest)

The value of the Müller index $\frac{\text{filtrate-wave (mm)}}{\text{denaturated wave (mm)}} \cdot 15$ was established in persons suffering from different liver diseases. In *hepatitis epidemica* a significant decrease of this index was observed whereas in liver cyrrhosis the value rose. In experiments with rats intoxicated with carbon tetrachloride, rat sera showed after acute and chronic intoxications appreciably increased index values and filtrate-waves.

In the case of liver lesions due to dietary deficiencies (as in a parenchymal lesion caused by methionine deficiency) the index value of the serum or the liver homogenisate was either increased or quite normal. However, in the case of degenerations of the liver parenchym due to other causes, the index values in the liver homogenisate showed a significant reduction, parallel with a corresponding rise in the index values of the serum.

Dr. György Lamm Budapest, IX., Gyáli út 3.

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG DER MUSKELPROTEINE

M. BAUMANN und B. JÁMBOR, Mitarbeiterin Frau E. BAÁN

(Elektronmikroskopisches Laboratorium der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest)

In der Muskeltätigkeit spielen das Aktin und Myosin — wie bekannt — eine wichtige Rolle. Mit Zusammenwirkung eines energiereichen Phosphatesters, des Adenosintriphosphates (ATP) gehen die zwei Proteine in eine Reaktionskette, worin unter mächtigem Energieverkehr globulare-fibrillare Umwandlungen und Dissoziationen — Assoziationen stattfinden. Die infolge dieser Prozesse entstehenden Veränderungen oder vielleicht besser gesagt: für diese Prozesse verantwortlichen Veränderungen sind hauptsächlich von physikalisch-chemischer, kolloidischer Natur. Mit chemischen Verfahren sind sie nur schwer nachzuweisen. Es war aber zu erwarten, dass man mit elektrochemischen Methoden — und zwar mit Polarographie — manche, vielleicht anwendbare Angaben liefern kann.

Wir wollten uns diesen Problemen mit der Untersuchung der drei bekannten katalytischen Proteinwellen nähern.

Methode und Materialien

1. Aktin. Das zu unseren Experimenten verwandte Aktin wurde nach STRAUB [1, 12] aus Kaninchenmuskeln extrahiert.

a) Die mit der Methode von STRAUB hergestellten trockenen Muskeln wurden mit destilliertem Wasser 20 Minuten lang bei Zimmertemperatur extrahiert, sodann filtriert. So wurde eine von STRAUB beschriebene Aktin-Lösung in einer Konzentration von ungefähr 1,0—0,3% erhalten.

b) Herstellung des α und β Aktins. Die trockenen Muskeln wurden mit destilliertem Wasser 15 Minuten lang extrahiert, dann abfiltriert. Die so erhaltene Lösung enthielt 0,1—0,5% α-Aktin. Der trockene Muskel wurde auf dem Filter 15 Minuten lang mit langsamer Durchsaugung von destilliertem Wasser gewaschen. Nach vollendetem Waschen wurde wieder destilliertes Wasser auf die Muskelfasern gegossen, 1½ Stunden lang stehen gelassen, sodann abgesaugt. Die so gewonnene β-Aktin-Lösung war ebenfalls von einer Konzentration von 0,1 bis 0,6%. Die so erhaltene Proteinlösungen enthielten beide Eiweissstoffe praktisch rein [12]. Neben anderen Reaktionen waren sie auch elektrophoretisch homogen.

c) Durch eine 2 Minuten lange Extraktion des trockenen Muskels nach PRÁGAY wurde ATP-freies Aktin erhalten. Nach der Filtrierung desselben wurde wieder destilliertes Wasser auf die Muskeln geschüttet und nach 20 Minuten — gerechnet von dem Beginn der ersten Auslösung — wieder filtriert. Die erste der so gewonnenen zwei Fraktionen enthielt ATP-freies reines α-Aktin, die zweite, ATP-enthaltende Fraktion nahm schon auch etwas β-Aktin mit. Dieser war also von chemischem Standpunkt aus kein homogener Eiweissstoff. Trotzdem wurde die Methode von PRÁGAY — um Vergleich willen mit anderen Verfahren und

damit diese auch die polarographische Untersuchung der ATP-Wirkung nicht störte — unverändert angewandt. Beide Fraktionen enthielten 0,1—0,3% Aktin.

2. Myosin. Hergestellt ebenfalls aus Kaninchenmuskeln mit der Methode von GUBA und STRAUB [7].

3. Die Eiweissstoffkonzentrationen wurden mit ZEISS-ABBE-Refraktometer oder mit der quantitativen Biuret-Reaktion bestimmt. Beide Verfahren wurden mit KJELDAHL-Stickstoffbestimmung kalibriert.

4. Phosphat-Puffer. Aus 1/15m KH_2PO_4 und 1/15m Na_2HPO_4 Lösung nach SÖRENSEN wurde die geeignete (pH 6,8) Pufferlösung hergestellt.

5. BRDIČKA-Lösung. Die ammoniakalische Lösung des Cobalt-hexammin-Komplexes wurde nach der Vorschrift von BRDIČKA, aber in 10-facher Konzentration hergestellt.

6. Adenosintriphosphat (ATP). Aus ATP-Na (Richter, Budapest) wurde eine Stammlösung in destilliertem Wasser von einer Konzentration 2 mg/ml prepariert.

7. Polarograph. HEYROVSKÝ (Zbrojovka Brno V 301).

8. Die Polarogramme wurden in offenen Gefässen durchgeführt. Als Gegenelektrode diente Bodenquecksilber.

9. Polymerisierendes Salz. 0,1 m KCl, 0,001 m $MgCl_2$.

10. Verdünnungsreihen

a) Mit BRDIČKA-*Lösung.* Zu 0,9 ml einer nach 1*a* hergestellten Aktin-Lösung wurde 0,1 ml 10fach konzentrierte BRDIČKA-Lösung gegeben. Die Aktin-Lösung wurde, wenn nötig, mit destilliertem Wasser zu einer geeigneten Konzentration verdünnt. Ein jedes Mitglied der Reihe wurde durch Verdünnung des vorangehenden zu dem doppelten Volum mit BRDIČKA-Lösung in gewöhnlicher Konzentration hergestellt. Zu diesen Reihen gab man ausser der BRDIČKA-Lösung keine andere Lösung.

b) Mit Phosphat-Puffer. Zur Gewinnung der Pränatriumwellen wurden auch diese Reihen hergestellt. Ähnlich dem vorigen Punkte wurde die Aktin-Lösung mit oder ohne Verdünnung mit destilliertem Wasser als erstes Glied benützt. Zu 0,5 ml dieser Lösung wurde 0,8 ml 1/15m Phosphatpuffer gegeben. Die zweiten Glieder gewann man durch eine zweifache Verdünnung des vorangehenden mit 1/30m Phosphatpuffer.

Ausser Phosphatpuffer enthielten diese Reihen keine andere Grundlösung.

11. Die Polarogramme mit BRDIČKA-Lösung wurden von —0,8 V bei einer Galvanometerempfindlichkeit von 1/150, diejenigen mit Phosphatpuffer von —1,4 V bei einer Galvanometerempfindlichkeit von 1/500 aufgenommen. Alle Aktinpolarogramme waren mit derselben Kapillare aufgenommen, die Myosinpolarogramme dagegen mit einer anderen.

Ergebnisse

1. Aktin und Myosin präpariert nach STRAUB. Verdünnungsreihen von beiden Eiweissstoffen wurden mit BRDIČKA-Lösung hergestellt. Auffallend war es, dass die katalytischen Wellenhöhen des Aktins bzw. des Myosins — scharf abweichend von denen anderer Proteine — sich mit der Verdünnung nicht der Adsorptionsisotherme gemäss änderten, sondern mit zunehmender Konzentration abnahmen. Am schärfsten ist das bei dem Myosin zu sehen (Abb. 1). Wie es auf Abb. 2 zu sehen ist, gibt das Aktin ähnliche Kurvenreihen.

Diese Erscheinung wurde von TROPP [14] bei Fibrinogen, aber nicht so scharf beobachtet. Auch MILLAR [10] fand Maxima im Falle zweier Proteine: des Rindblutalbumins und des Chymotrypsinogens. Die Maxima waren aber auch hier ziemlich unklar und lagen bei einer höheren Konzentration als bei der der Muskelproteine: ungefähr bei 0,17%.

Eine andere Charakteristik der katalytischen Wellen des Aktins und Myosins ist, dass deren Höhe nur ein Bruchteil derjenigen von anderen Eiweissstoffen (z. B. Eialbumins) in gleicher Konzentration ist.

Es war zu erwarten, dass die Verminderung der Wellen in höheren Konzentrationen von der gewachsenen Viskosität verursacht wird. Trotzdem konnte diese Wirkung durch Zugabe von viskositäterhöhenden Stoffen (Zucker, Gelatine, Methylzellulose) nicht erreicht werden.

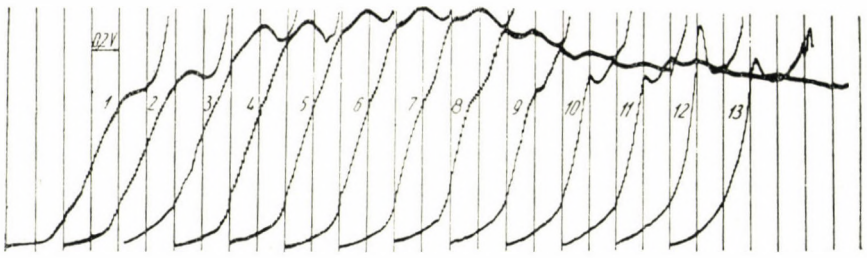


Abb. 1. Reines Myosin. Verdünnungsreihe in BRDIČKA-Lösung. Empf. 1/70 ; Anfangspotential : —0,8 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	10,0	2,0	8.	0,080	25,0
2.	5,0	10,0	9.	0,040	16,0
3.	2,5	28,0	10.	0,020	12,0
4.	1,25	31,0	11.	0,010	11,0
5.	0,62	36,0	12.	0,005	7,0
6.	0,31	38,0	13.	0,0025	5,0
7.	0,16	37,0			

Die charakteristischeste Reaktion des Aktins ist seine reversible Polymerisation von der Form G (globulare) in die Form F (fibrillare). Dieser Reaktion kann man mit Viskosimeter gut verfolgen. Die Zeit des Ablaufes beträgt in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren etwa 30 Minuten. Die Polarogramme des F und G Aktins sind auf Abb. 2, 3, 4, 5 dargestellt. Die Polymerisation wird von den Ionen der Alkali-, Erdalkali [13] und Eisengruppemetallen [2], sogar auch von Wasserstoffionen hervorgerufen.

Wie aus den Abbildungen ersichtlich, gibt das F Aktin bei gleichen Konzentrationen niedrigere Wellen als das G Aktin. Die Polarogramme der Form F und G desselben Aktins wiesen in jedem Falle eine Differenz auf, ausserdem waren weder die Wellenhöhen der gleichen Konzentration, noch die Konzentration der höchsten Welle in den Polarogrammen von bei verschiedenen Zeitpunkten präparierten Aktinen gleich. Die letzte variierte zwischen 0,05 und 0,02 %.

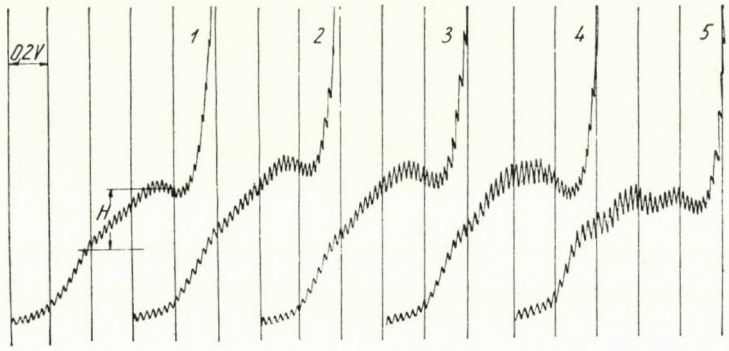


Abb. 2. Globulares alfa Aktin. Verdünnungsreihe in BRDIČKA-Lösung. Empf. 1/150 ; Anfansgpotential : —0,8 V

N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	2,0	15,5
2.	1,0	18,0
3.	0,5	18,5
4.	0,25	17,5
5.	0,125	10,0

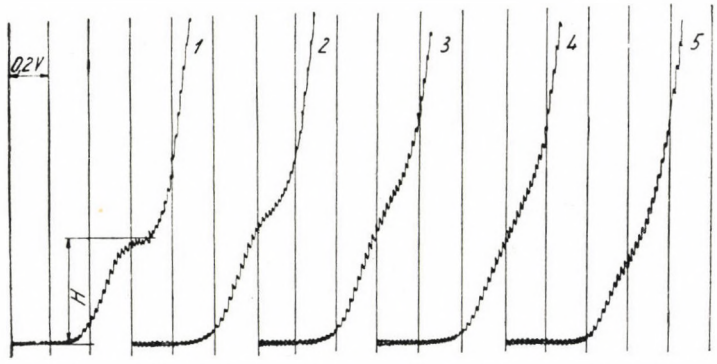


Abb. 3. Globulares (G) Aktin. Verdünnungsreihe in Phosphatpuffer. Empf. 1/500 ; Anfangspotential : —1,4 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	2,0	28,5	4.	0,250	39,5
2.	1,0	37,0	5.	0,125	33,0
3.	0,5	43,5			

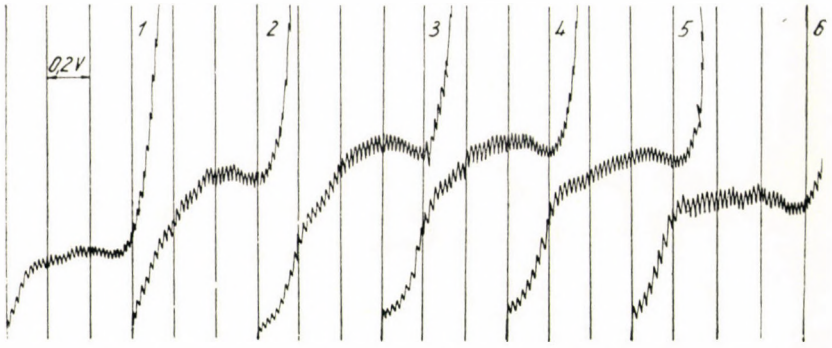


Abb. 4. Fibrillares (F) Aktin. Verdünnungsreihe in BRDIČKA-Lösung. Empf. 1/100 ; Anfangspotential : —1,0 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	2,0	5,0	4.	0,25	15,0
2.	1,0	16,0	5.	0,125	12,5
3.	0,5	20,5	6.	0,062	4,5

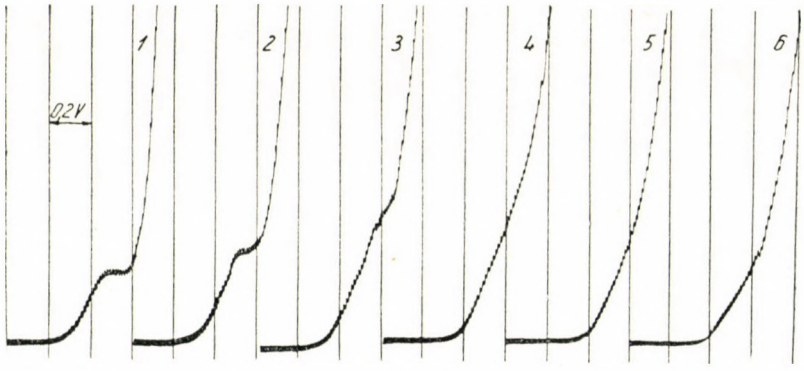


Abb. 5. Fibrillares (F) Aktin. Verdünnungsreihe in Phosphatpuffer. Empf. 1/500 ; Anfangspotential —1,4 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	2,0	18,5	4.	0,25	29,0
2.	1,0	23,5	5.	0,125	26,5
3.	0,5	33,5	6.	0,062	22,5

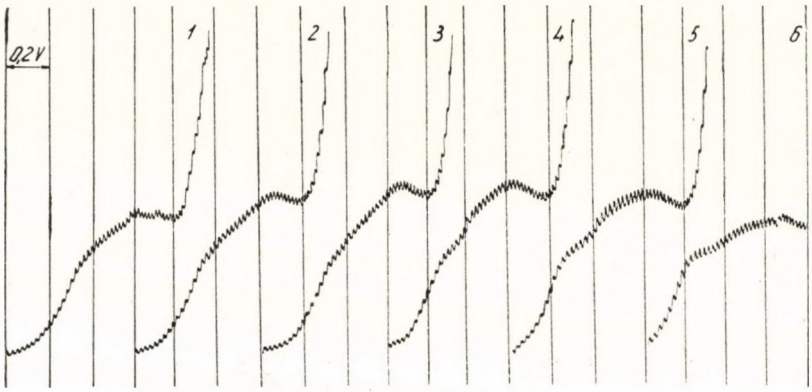


Abb. 6. β-Aktin. Verdünnungsreihe in BRDIČKA-Lösung. Empf. 1/150; Anfangspotential: —0,8 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	1,6	12,0	4.	0,20	18,5
2.	0,8	15,0	5.	0,10	15,5
3.	0,4	19,5	6.	0,05	9,0

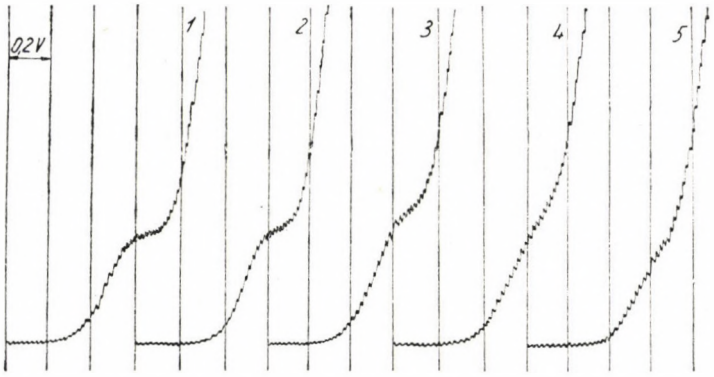


Abb. 7. β-Aktin. Verdünnungsreihe in Phosphatpuffer. Empf. 1/500; Anfangspotential: —1,4 V

N°	Konz. mg/ml	H mm	N°	Konz. mg/ml	H mm
1.	1,6	28,5	4.	0,2	35,0
2.	0,8	31,0	5.	0,1	29,0
3.	0,4	36,0			

Diese Probleme wurden gelöst, als es gelang nachzuweisen, dass das Aktin aus zwei Komponenten : α und β-Aktin besteht [2].

2. α und β Aktin. Die zwei Eiweisskörper weisen, wie in anderen Reaktionen, auch polarographisch ein verschiedenartiges Verhalten auf.

Die Änderungen der Wellenhöhen sind oft nicht gross. Trotzdem sind sie nicht vernachlässigbar, weil bei einer 3—5maligen Wiederholung die Ergebnisse immer genau die gleichen waren.

Obwohl beide Verdünnungsreihen Maxima gaben, waren die Konzentrationen der Maxima verschieden, indem die des α-Aktins bei 0,06% und die des

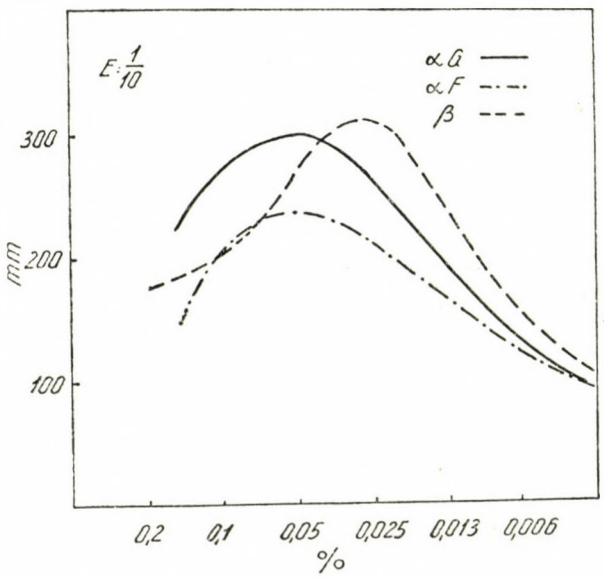


Abb. 8. Globulares α-fibrillares α-Aktin und β-Aktin. Graphikon von Polarogrammen der in BRDIČKA-Lösung durchgeführten Verdünnungsreihen

β-Aktins bei 0,03% lag (S. Abb. 8, 9). Das α-Aktin ist polymerisierbar, das β dagegen nicht.

Nach der Trennung der zwei Proteine gaben die Polymerisationsversuche der verschiedenen α-Präparate gleiche Ergebnisse. So ist eine genauere Untersuchung der Reaktion möglich geworden.

Der Prozess gab — bei Messung mit Viskosimeter — in der Funktion der Zeit eine Kurve von dem bekannten Typ. Es wurde versucht, der Reaktion mit gleichzeitigen viskosimetrischen und polarographischen Messungen nachzufolgen.

Für diesen Zweck wurden mehrere Lösungen ausprobiert :

a) Ein Teil unserer Aktinlösung wurde in einen Viskosimeter gegeben und die Ausflusszeit bestimmt, der andere Teil wurde in Anwesenheit von BRDIČKA-Lösung polarographiert. Nachher wurde zu beiden Lösungen in der gleichen Zeit polymerisierendes Salz gegeben, dann alle 5 Minuten

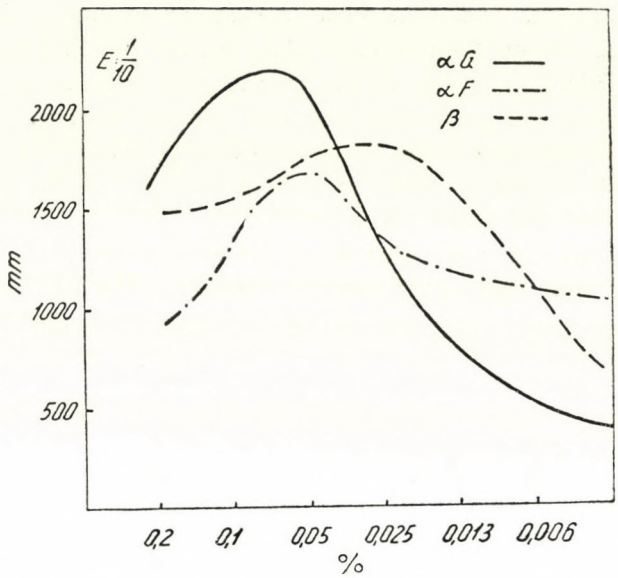


Abb. 9. Globulares α-, fibrillares α-Aktin und β-Aktin. Graphikon von Polarogrammen der in Phosphatpuffer durchgeführten Verdünnungsreihen

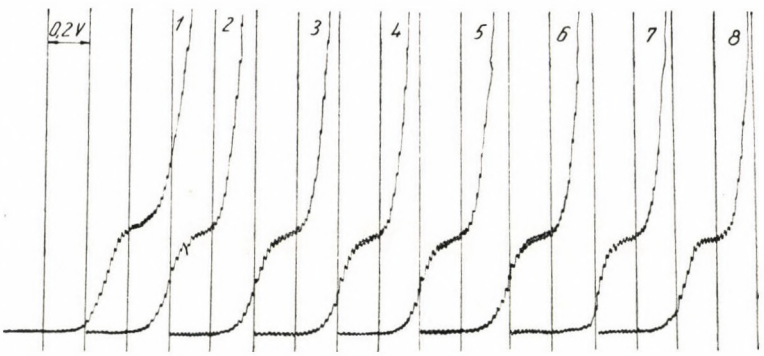


Abb. 10. α-Aktin. Höhenveränderung der in Phosphatpuffer aufgenommenen Pränatriumwelle während der Polymerisation als Funktion der Zeit. Empf. 1/500; Anfangspotential: —1,4 V. Anfangskonzentration: 5 mg/ml

N°	Zeit Minute	H mm	N°	Zeit Minute	H mm
1.	+	34,0	5.	15	25,0
2.	1	28,0	6.	20	25,5
3.	6	27,0	7.	30	26,0
4.	10	26,5	8.	45	27,0

0 Minute: die Zeit der Zugabe des polymerisierenden Salzes.
+ Minute: Vor der Zugabe des polymerisierenden Salzes.

die Ausflusszeit gemessen, und je ein Polarogramm aufgenommen. Die Doppelwelle war schon am ersten Polarogramm nach Zugabe des polymerisierenden Salzes messbar niedriger geworden, als am Anfangspolarogramm. Die Viskosität änderte sich darunter fast gar nicht. Auf den weiteren Polarogrammen verminderte sich die Wellenhöhe nicht, sondern erhielt die gleiche Höhe, wie am ersten Polarogramm. Dagegen erhöhte sich die Viskosität ständig, bis sie ihren maximalen Wert erreichte (Abb. 11).

Nachher wurden die viskosimetrischen Untersuchungen der Polymerisation mit Zugabe von BRDIČKA-Lösung wiederholt. Die BRDIČKA-Lösung

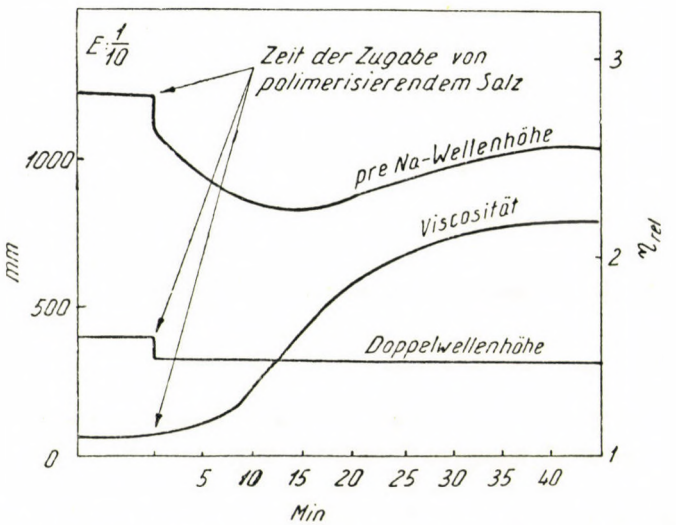


Abb. 11. α-Aktin. Veränderung der Viskosität und der Höhe der in Phosphatpuffer aufgenommenen Pränatriumwelle während der Polymerisation

wurde in derselben Konzentration zugegeben, wie zu den polarographierten Mustern.

Wurde die BRDIČKA-Lösung noch vor der Zugabe des polymerisierenden Salzes dem Aktin zugegeben, so fand die Polymerisation gar nicht statt. Wenn aber die BRDIČKA-Lösung nur nach Beendigung der Polymerisation zugegeben wurde, fiel die Viskosität ungefähr auf die Hälfte, erreichte aber nicht den Wert des G Aktins.

Bei den vorliegenden Messungen wurden die infolge der Zugabe von BRDIČKA-Lösung, oder von den bei den weiteren Experimenten benützten anderen Lösungen verursachten Konzentrationsänderungen ausser Acht gelassen. Deshalb wurden die reduzierten Werte (A/c) in Fällen benutzt, wo die aktuelle Konzentrationsveränderung im gemessenen Parameter messbare Änderung verursachte. (A : der in der Messung erhaltene Wert ; c : Konzentration.)

b) Auf Grund vorangehender Erfahrungen wurden die folgenden Experimente durchgeführt : Der erste Teil einer Aktin-Lösung wurde in das Viskosimeter, der zweite Teil in eine Eprouvette neben das Viskosimeter ins gleiche Wasserbad gestellt. Ähnlich dem vorigen Experiment nahmen wir die sogenannten 0 Werte, d. h. die Werte vor Beginn der Polymerisation, ebenso mit Viskosimeter, wie auch mit Polarograph auf. Die BRDIČKA-Lösung wurde weder in das Viskosimeter, noch in die Eprouvette zur Aktinlösung, sondern nur später ins Polarographgefäss gegeben. Nachher wurde die Polymerisation sowohl im Viskosimeter, als auch in der Eprouvette gleichzeitig in Gang gesetzt.

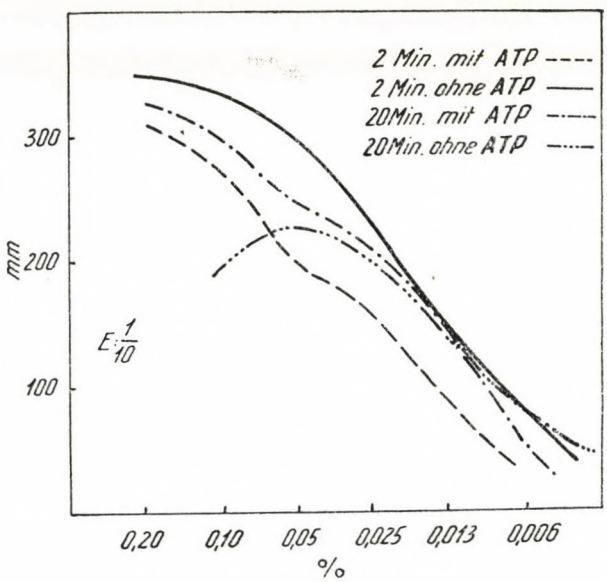


Abb. 12. Mit ATP und ohne ATP, 2 bzw. 20 Minuten lang ausgelöste Aktine. Das Graphikon der Polarogramme von Verdünnungsreihen

Alle 5 Minuten wurden aus der Eprouvette Musterproben herausgenommen und nach Zufügung von BRDIČKA-Lösung polarographiert. Zu gleicher Zeit wurden auch die Ausflusszeiten im Viskosimeter gemessen.

Wir hofften durch die Untersuchungen der herausgenommenen Proben des ungestört polymerisierenden Aktins neben der störenden Wirkung der eben zugegebenen BRDIČKA-Lösung noch gut messbare Änderungen in den Wellenhöhen — als Funktion der Polymerisation — erhalten zu können. Schon auf dem ersten Polarogramm wurde dagegen eine gut messbare Verminderung der Wellenhöhe — im Vergleich mit der des Null-Polarogramms — beobachtet. Die Abweichungen von diesem Wert sind auf den weiteren Polarogrammen kaum jenseits der Fehlergrenzen und man kann aus ihnen keine eindeutige Konsequenz ziehen.

Es wurde festgestellt, dass in Anwesenheit der BRDIČKA-Lösung die Polymerisation mit Polarograph nicht verfolgbar sei. Der Störungseffekt ist dem Ammoniakgehalt der Lösung zuzuschreiben, denn anderen Experimenten gemäss [2] stört Cobalt nicht.

c) Sodann wurde versucht der Polymerisation in einem Phosphatpuffer mit Hilfe der Änderung der Pränatriumwelle näher zu kommen. Im Phosphatpuffer (1/30m, pH 6,8) läuft die Polymerisation glatt ab. Nachdem das Bodenquecksilber keine Störung verursacht, war es möglich die einfachste Arbeitsweise zu wählen : ein Teil unserer Aktinlösung wurde ins Viskosimeter, der andere in das Polarographgefäss gegeben. Beide Muster waren in einem Phosphatpuffer von gleicher Konzentration und pH. Die Nullwerte wurden üblicherweise aufgenommen, danach die Polymerisation in Gang gesetzt. Von Zeit zu Zeit wurden Polarogramme aufgenommen und die Ausflusszeiten bestimmt. Die Messungspaare waren gleichzeitig durchgeführt.

Die Ergebnisse der Experimente sind auf Abb. 10 und 11 dargestellt. Aus Abb. 11 ist zu sehen, dass die zwei Prozesse (die Viskositätsänderung und der Elektrodprozess) an der tropfenden Quecksilberelektrode während der Polymerisation nicht parallel laufen. Die Viskosität erreicht nach etwa 30 Minuten ihren höchsten Wert und bleibt dann unverändert. Die Wellenhöhe zeigt dagegen nach 15 Minuten ein Minimum, sodann nimmt sie beinahe bis auf ihren Anfangswert zu.

Die Verminderungen bzw. die Erhöhung der Wellen sind auf der Abb. 10 sehr gering. Es wurde vorausgesetzt, dass diese nur Experimentsfehler sein können, es wurden daher die Experimente dreimal wiederholt. In jedem Falle ergaben sich die gleichen Ergebnisse, d. h. ein Minimum um die 15. Minute.

3. Die Rolle des ATP wurde nachher untersucht. Diese Verbindung allein gab unter den vorliegenden Versuchsverhältnissen keine Welle bzw. Stufe.

PRÁGAY [11] hat nachgewiesen, dass man durch eine zwei Minuten lange Extraktion des zur Aktin-Herstellung benützten trockenen Muskels ein ATP-freies Aktin gewinnt. Das später in Lösung gehende Aktin enthält immer ATP. So wurden zwei Fraktionen hergestellt, wie es im Punkt 1/c des methodischen Teils beschrieben ist. Die so gewonnenen Proteinlösungen wurden polarographiert (S. Abb. 12).

Eine 2 Minuten dauernde Extraktion gab Kurvenreihen ohne Maximum mit abnehmenden Wellenhöhen. Eine 20 Min. dauernde Extraktion ergab dagegen bei der gewöhnten Konzentration ein Maximum.

Werden die 2 und 20 Min. dauernden Extraktionen mit ATP-enthaltendem Wasser durchgeführt, erhält man Verdünnungsreihen mit einer Inflexion. Die Inflexion zeigt sich bei derselben Konzentration (0,06%), wo übrigens das Maximum zu finden ist.

Besprechung

Die Eiweissstoffe geben, wie bekannt [3, 8], drei katalytische Wellen. Der Mechanismus ihrer Entstehung ist eine noch offene Frage. Nach allgemeiner Auffassung ist die Höhe der in BRDIČKA-Lösung entstehenden Doppelwellen eine Funktion der Zahl der aktiven SH, bzw. S-S Gruppen [3, 4, 5, 6, 13, 15]. Aus diesem Grund liegt die Erklärung für die Wellenhöhenverminderung des Aktins und Myosins über einer gewissen Konzentration nahe, dass in grösseren Konzentrationen ein Teil der aktiven SH-Gruppen maskiert wird. Diese Voraussetzung ist in Einklang mit der heute allgemeinen Ansicht über die Stereokonfiguration der Proteine.

Die dritte, sogenannte Pränatriumwelle ist keine Funktion der aktiven SH-Gruppen [10]. Wie aus unseren Experimenten zu sehen ist, nimmt bei höheren Konzentrationen die Höhe der Pränatriumwelle ähnlich der Doppelwellen ab. Es kann daher vorausgesetzt werden, dass in sondern auch das ganze Molekül unter solche Umstände gerät, dass übrige, gleichfalls katalytisch wirkende teils inaktiviert werden.

Es gibt Resultate, die darauf hinweisen, dass die SH-Gruppen in der Polymerisation des Aktins eine grundsätzliche Rolle spielen.

Die zwei Hypothesen zusammenfassend, sind die katalytischen Doppelwellen und die Polymerisation des Aktins Funktionen der SH-Gruppen. Ist diese Auffassung richtig, so sollte die Polymerisation mit Polarograph nachweisbar sein, d. h. die Höhe der Doppelwellen mit der Veränderung der Zahl der aktiven SH-Gruppen während der Polymerisation zusammenhängen. Das polymerisierte Aktin gibt wirklich niedrigere Wellen als das globulare Aktin von gleicher Konzentration, wie es auf Abb. 2 und 3 zu sehen ist, d. h., die Polymerisation läuft mit Blockierung der SH-Gruppen ab.

Es wurde schon erwähnt, dass die Pränatriumwelle nicht von den SH-Gruppen hervorgerufen wird. Während der Polymerisation fand, ähnlich den Doppelwellen, eine Verminderung der Pränatriumwellen statt. Damit ist es erklärt, dass in der Polymerisation neben den SH-Radikalen auch andere Radikale teilnehmen.

Bei den viskosimetrischen Messungen wurde es bestätigt, dass das β-Aktin mit Alkalisalzen nicht polymerisierbar ist. Die Höhe der katalytischen Wellen bleibt ebenso unverändert. Diese Beobachtung erklärt die Streuung in den Wellenhöhen der verschiedenen fibrillaren Aktine, die schon vor Erkennung und Isolierung des β-Aktins bemerkt wurde.

Die Änderungen der Viskosität und der Wellenhöhe während der Polymerisation laufen nicht parallel. Mit dem Viskosimeter kann man eine Änderung nur einige Minuten nach Zugabe des polymerisierenden Salzes beobachten. Dagegen nimmt die Höhe der Pränatrium- und Doppelwellen nach der Zugabe des Salzes plötzlich ab. Die in der BRDIČKA-Lösung erhaltene Wellenhöhe

bleibt in den weiteren unverändert, wogegen die Höhe der Pränatriumwelle sich verändert. Der nach Zugabe des Salzes beginnende Prozess muss auf Grund der Analyse der Abb. 11 in zwei Teile geteilt werden : In eine momentane Reaktion, die nur die Höhe der katalytischen Wellen und nicht die Viskosität verändert, und in eine Reaktion, die sowohl mit dem Viskosimeter als auch mit Polarograph nachzuweisen ist, d. h. die eigentliche Polymerisation.

Der Nachweis mit diesen zwei Methoden gibt aber während der Polymerisation keine parallelen Ergebnisse. Die Viskosität erreicht — wie schon erwähnt — ihren höchsten Wert nach 30 Minuten und bleibt dann konstant. Die Wellenhöhe dagegen zeigt in der 15ten Minute, d. h. bei dem Inflexionspunkt der Viskositätskurve ein Minimum. Der Elektrodprozess benimmt sich als wenn er ein Differentialprozess der Viskositätsänderung wäre.

Die erste momentane Reaktion ist wahrscheinlich ein Mitläufer, vielleicht eine Vorbedingung, aber keinesfalls eine genügende Ursache der Polymerisation, weil sie an dem höheren pH Wert der BRDIČKA-Lösung, wo die Polymerisation schon nicht verläuft, noch vor sich geht.

Auf Grund unserer bisherigen Experimente scheint es wahrscheinlich zu sein, dass bei der Verdünnung des α- bzw. des β-Aktins zwei Prozesse ablaufen : eine Dissoziation, die auch bei anderen Eiweisskörpern schon bekannt ist, und eine eigentliche Verdünnung. Während einer Verdünnung bis zur Konzentration des polarographischen Maximums ist die Zunahme der Zahl pro Volum der aktiven Gruppen infolge der Dissoziation grösser als die Abnahme derjenigen infolge der Verdünnung. Dieser Prozess ergibt den steigenden Teil der Kurve. An dem Maximum erreichen die zwei Reaktionen ein Gleichgewicht, bzw. die Dissoziation wird vielleicht beendet. Von hier an wird nur der Verdünnungsprozess ersichtlich.

Nach einer anderen Ansicht können diese Erscheinungen auch infolge Änderungen von Wasserstoffbrücken verursacht werden. In höheren Konzentrationen sind Wasserstoffbrücken vermutlich anwesend. Diese Bindungen mit kleiner Bindungsenergie werden mit der Verdünnung stufenweise gespaltet und die so frei gewordenen Radikale können eine Steigerung der katalytischen Wasserstoffabspaltung hervorrufen. Nach vollkommener Spaltung der Wasserstoffbrücken, d. h. bei dem polarographischen Maximum wird die Wellenhöhe nur von der Verdünnung, ähnlich der vorangehenden Voraussetzung, beeinflusst.

In unseren Experimenten wurde festgestellt, dass das ATP eben am steigenden Teil der Kurve eine Änderung hervorruft. Vermutlich ist die vorausgesetzte Dissoziation, bzw. Wasserstoff-Brücke-Änderung auch als eine Funktion der ATP anzusehen.

Diese Reaktion findet statt, wenn das Aktin verschiedenerweise : z. B. durch Kochen, durch längeres Stehenlassen (steril) in wässriger Lösung, durch Verlaugung, usw. denaturiert wird.

Denaturierungen dieser Art führen zu Änderungen der Kurven, lassen dagegen die Maxima der Verdünnungsreihen ungestört.

Das ATP-freie Aktin gibt Verdünnungsreihen ohne Maximum mit abnehmender Wellenhöhe (S. Abb. 12). PRÁGAY [11] zeigte, dass ATP auch in dieser Lösung und zwar recht schnell bei Zimmertemperatur in etwa 20 Minuten gebildet wird. Das so stehengelassene eigentlich ATP-freie Aktin gibt nach einer halben Stunde eine Maximum enthaltende Verdünnungsreihe.

Wird aber die 2 Min. dauernde Extraktion mit ATP-enthaltendem Wasser durchgeführt, so ergibt sich keine ähnliche Reaktion, ferner liefert auch die ATP-enthaltende 20 Min. lange Extraktion eine Verdünnungsreihe von vermindernden Wellenhöhen und Inflexionspunkt.

Von der Analyse der polarographischen Kurven lässt sich vermuten, dass die eigenen ATP-Moleküle des Aktins die katalytische H-spaltende Wirkung auf andere Weise beeinflussen als das zugegebene ATP. Das würde ja bedeuten, dass das ATP mindestens in zwei verschiedenen Weisen zum Aktin-Molekül gebunden werden kann.

Es gelang also ein schwer zugängliches Problemkoplex mit dem Polarograph zu lösen. Obwohl die Rolle des ATP noch nicht vollkommen erklärt wurde, wird es hoffentlich bei unseren weiteren Experimenten gelingen auch dieses Problem zu lösen und in der Frage der Polymerisation des Aktins weitergehen zu können.

Es sind weitere Versuche im Gang, um die Reaktion zwischen Aktin und Myosin zu untersuchen. Diese sind aber nur in einer kobaltfreien Lösung durchführbar, weil das Aktomyosin durch Cobalt momentan gespaltet wird.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Höhe der drei polarographischen katalytischen Wellen, der sogenannten Doppelwellen und der Pränatriumwelle nimmt mit der Verdünnung bei beinahe allen bisher untersuchten Proteinen ab. Die Wellenhöhe des Aktins und Myosins nimmt dagegen mit der Verdünnung bis 0,03 bzw. 0,06%iger Konzentration zu. Diese Konzentrationen ergeben die maximalen Wellenhöhen. Mit weiterer Verdünnung werden die Wellen vermindert.

2. Das Aktin ist in zwei Modifikationen: in globularer (G) und fibrillarer (F) bekannt. Für die Polymerisation des G Aktins in die Form F sind die Alkalimetallionen verantwortlich. Die katalytischen Wellen der Form F sind niedriger als diejenige der Form G von gleicher Konzentration. Diese Tatsache unterstützt die Voraussetzung, dass die SH-Gruppen bei der Umsetzung eine wichtige Rolle spielen. Die Veränderung der Pränatriumwelle während der Polymerisation weist zwar darauf hin, dass es sich hier nicht nur um die Wirkung der SH-Gruppen handelt.

Die zu den maximalen Wellen gehörenden Konzentrationen ergaben sich nicht immer als die gleichen. Dies war dadurch verursacht, dass die Aktin-Extrakte, in Abhängigkeit von der Weise der Extraktion, ein Gemisch von wenigstens zwei Proteinen in wechselndem Verhältnis enthalten. Nach der Isolierung des neuen, bisher unbekannten Proteins (β-Aktin) ergab sich, dass das α-Aktin in der Konzentration 0,06% und das β-Aktin in 0,03% die höchste Welle zeigt. Das β-Aktin ist unpolymerisierbar. Die Wellenhöhe des auch β-Aktin enthaltenden F Aktins ist von derjenigen der reinen α-Aktins verschieden.

3. Die G-F Untersuchung des α-Aktins wurde mit Polarograph und Viskosimeter gleichzeitig durchgeführt und es wurde dadurch ermittelt, dass nach der Zugabe von Alkalisalzen zwei nicht unbedingt zusammenhängende Prozesse ablaufen.

4. Das ATP beeinflusst grundsätzlich die polarographischen Eigenschaften des Aktins. ATP-freies Aktin gibt Verdünnungsreihen ohne Maximum.

5. Die anomale Wellenhöheveränderung des Aktins in Verdünnungsreihen kann entweder mit der Spaltung der Wasserstoffbrücke oder mit der Dissoziation des Moleküls erklärt werden. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind beide Prozesse mit dem zum Aktin-Molekül gebundenen ATP in Zusammenhang.

LITERATUR

1. K. Balenovic und F. B. Straub : Studies on muscle **2**, 17 (1942).
2. M. Baumann, T. Blickle und F. Guba : Acta Physiol. Hung. **6**, Suppl. 70 (1954).
3. R. Brdička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **5**, 112 (1933).
4. R. Brdička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **5**, 148 (1933).
5. R. Brdička : Biochem. Z. **272**, 104 (1934).
6. R. Brdička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 614 (1939).
7. F. Guba und F. B. Straub : Studies on muscle **3**, 46 (1943).
8. J. Heyrovskỳ und J. Babička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **2**, 370 (1930).
9. E. Jurka : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 243 (1939).
10. G. J. Millar : Biochem. J. **53**, 3, 385 (1953).
11. D. Prágay : Persönliche Mitteilung.
12. F. B. Straub : Studies on muscle **2**, 3 (1942).
13. A. Szent-Györgyi : Studies on muscle. Seite 27 ; Szeged, 1944.
14. C. Tropp und L. Jühling : Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **262**, 225 (1939).
15. C. Tropp : Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **262**, 199 (1939).

POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF MUSCLE PROTEINS

M. Baumann and *B. Jámbor*

(Electron Microscope Laboratory, Hungarian Academy of Sciences, Budapest)

Summary

1. The height of all three polarographic catalytic waves (of the so-called double wave and of the pre-sodium wave) is reduced by decreasing the concentration of the solution of nearly all proteins investigated so far. In contrast to that, the wave heights of actin and myosin rose when the concentration of the solution was decreased to 0,03 and 0,06%, respectively, at which values the peaks were observed. Any further dilution yielded lower waves.

2. Actin is known to have two modifications : globulary (G) and fibrillary (F) ones. For the polymerisation of G actin into F actin, alkali metal ions are responsible. The catalytic waves of F actin are lower than those of G actin of identical concentration. This observation confirms the presumption that SH groups play an important role at the conversion. The change of the pre-sodium wave during polymerisation seems, however, to indicate that the action of SH groups is not the sole factor in the process.

The concentrations pertaining to the wave peaks proved to be not always identical. This is due to the fact that extracts of actin, depending on the methods of extraction applied, contain at least two types of proteins in different proportions. Subsequent to the isolation of the new protein (β-actin) unknown so far, α-actin presents its highest wave in a concentration of 0,06%, against that of β-actin appearing in a concentration of 0,03%. β-actin was resistent to polymerisation. The wave height of F actin containing also β-actin proved to differ from that of pure α-actin.

3. The G-F investigation of α-actin was carried out simultaneously both with polarograph and viscosimeter. This way, it was established that on the addition of alkali salts two processes start which do not correlate by necessity.

4. ATP seems to affect, in principle, the polarographic properties of actin. Actin preparations free of ATP gave dilutions showing no peaks.

5. The anomalous behaviour of actin in dilution series, showing anomalous changes of wave height, may be explained by one of two probable presumptions : cleavage of the hydrogen bridge or dissociation of the molecule. Possibly both processes are in connection with ATP bound to the actin molecule.

Miklós BAUMANN Budapest, VIII., Puskin u. 9.
Dozent Dr. Béla JÁMBOR Budapest, VIII., Múzeum körút 4/a.

EINE NEUE AUSWERTUNGSMETHODE DER KATALYTISCHEN PROTEINWELLE

ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER POLAROGRAPHISCHEN SULFHYDRYL-AKTIVITÄT DES BLUTSERUMS UND DER RÖNTGENSTRAHLENEMPFINDLICHKEIT

E. Cságoly

Es ist bekannt, dass Proteine in einer Brdička-Lösung (0,1n NH_4Cl + + 0,001n $CoCl_2$ + 0,1n NH_3) katalytische Wasserstoffwellen aufweisen und zwar bei — 1,30, bzw. — 1,45 V eine Doppelwelle und bei — 1,8 V eine dritte, die erst in grosser Verdünnung erscheinende sogenannte »Pränatriumwelle«. Diese durch Proteine verursachte, katalytische Wirkung wird von Brdička und Klumpar grösstenteils den in Seitenketten befindlichen »nicht maskierten« SH- und —S—S-Gruppen zugeschrieben [1]. Brdička und Jurka [2, 3] untersuchten auf Grund der Langmuirschen Adsorptionsisotherme den Zusammenhang zwischen Wellenhöhe und Proteinkonzentration. Die aussergewöhnliche Komplexität der auf der Tropfenoberfläche sich abspielenden Vorgänge wurde festgestellt. Die komplizierten Hydratations- und Polymerisationsvorgänge innerhalb des Eiweissmoleküls rufen an der Tropfenoberfläche Veränderungen hervor, denenzufolge die Kalibrationskurven nur innerhalb eines engen Konzentrationsbereiches der Isothermenfunktion gehorchen und die Totalkurve sich in vielen Fällen nicht einem Grenzwert nähert, sondern ein Maximum durchläuft.

Den Ausgangspunkt für meine in der vorliegenden Arbeit beschriebenen polarographischen Experimente bilden die Versuche von Tropp, Jühling und Geiger [4]. Diese Autoren nahmen an, dass auf dem Polarogramm als Resultat komplizierter biochemischer und physikochemischer Vorgänge das charakteristische Bild des Proteins erscheint. Ihre Versuche wurden mit Bluteiweissen und zwar mit Albumin, Globulin, Fibrinogen angestellt. Mit Hilfe von Plasma und Serum konnten sie Konzentrations-Kalibrationskurven aufnehmen und feststellen, dass der Verlauf der den zwei Wellen entsprechenden Kurven bei den einzelnen Eiweisstypen verschieden ist. Sie fanden den sogenannten »Kreuzungseffekt«-Wert — es wurde darunter die zu derselben Höhe der zwei Wellen gehörende Konzentration verstanden — für charakteristisch. Durch die Bestimmung des »Kreuzungseffekt«-Wertes für die einzelnen Eiweisstypen konnte die Methode derart verfeinert werden, dass sie zur Durchführung von Untersuchungen qualitativer Natur geeignet wurde. Ähnliche Versuche wurden in Ungarn von Jámbor durchgeführt.

Bei einem solchen Stand der Forschung konnte die auf der Messung der totalen Wellenhöhe beruhende Auswertungsmethode keine verlässlichen Angaben über die einzelnen Proteine liefern. Im Falle nativer Eiweisse wurden daher eher Differenzen von Wellenhöhen gemessen. Neue Auswertungsmethoden wurden von TROPP eingeführt. Er untersuchte die Konzentrationsabhängigkeit des h_2/h_1 Verhältnisses (h_2 bedeutete hier die Höhe der zweiten, h_1 die Höhe der ersten Welle) und führte die Auswertung der Konzentrations-Kalibrationskurven auf Grund von »Winkeldiagrammen« durch. In diesen Diagrammen wird derjenige Winkel gemessen, den die an die zwei Wellenmaxima gelegte Tangente mit der Horizontalen einschliesst.

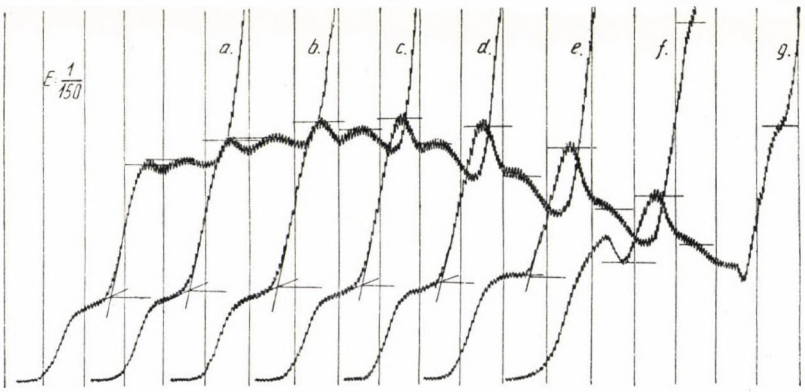


Abb. 1. Hasenserum: Verdünnungsreihe. Co^{2+}: 0,002n Verdünnung des Serums von »a« bis »g«: 25-, 50-, 100-, 200-, 400-, 800-, 1600fach. Kreuzungseffekt: zwischen 50—100-facher Verdünnung

Am Anfang meiner Versuche nahm ich serienweise Konzentrations-Kalibrationskurven menschlicher und verschiedener tierischer Seren auf. Es wurde festgestellt — und auf Grund von TROPPS Versuchen war es auch nicht anders zu erwarten —, dass die »Kreuzungseffekt«-Werte nicht nur bei den einzelnen Eiweissfraktionen, sondern auch bei den Seren verschiedenen Ursprungs in verschiedenen Verdünnungsbereichen zu finden sind (Abb. 1—2).

Zur Untersuchung der zwischen den verschiedenen Seren bestehenden Abweichungen schien der 200- bis 400fache Verdünnungsbereich am geeignetsten zu sein, da die Wellenmaxima sich hier am besten abzeichnen (dies bezieht sich hauptsächlich auf die zweite Welle), und die Differenz der Wellenhöhen der einzelnen Seren hier am meisten ausgeprägt ist. Meine vergleichenden Serienuntersuchungen wurden daher in 325facher Verdünnung durchgeführt und zwar in solcher Weise, dass nach Zugabe von 0,2 ml Serum zu 5 ml destilliertem Wasser, 0,4 ml dieser Verdünnung in 5 ml BRDIČKA-Lösung (die auf Co 0,002n war) polarographiert wurde.

Ein interessanter Zusammenhang konnte zwischen dem Verhältnis der zwei Wellenhöhen des nativen Serumproteins in 325facher Verdünnung und der Empfindlichkeit des Versuchstieres gegenüber Röntgenstrahlen beobachtet werden. Bei Tierarten, die sich in grösserem Masse gegen Strahlen empfindlich erwiesen, war die zweite Welle beträchtlich höher als die erste. Bei weniger empfindlichen Tierarten war es umgekehrt, die erste Welle höher als die zweite. Es wurde in Vorversuchen festgestellt, dass die Strahlenempfindlichkeit nur mit dem Verhältnis der Wellenhöhen, nicht aber mit ihren Absolutwerten im Zusammenhang steht.

Die Strahlenempfindlichkeit wird in Röntgeneinheiten angegeben. Die experimentell bestimmten DL_{100}- bzw. DL_{50}-Werte bedeuten diejenigen »r«-

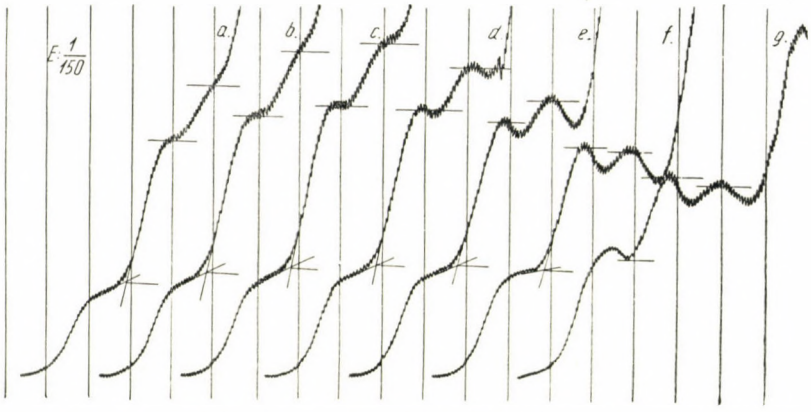


Abb. 2. Menschenserum : Verdünnungsreihe. Co^{2+} : 0,002n. Verdünnung des Serums von »a« bis »g« : 25-, 50-, 100-, 200-, 400-, 800-, 1600fach. Kreuzungseffekt: zwischen 400—800-facher Verdünnung

Mengen, deren einmalige Aufnahme durch die totale Körperoberfläche bei 100, bzw. 50% der Versuchstiere binnen gegebener Zeitdauer zum Tode führt. Diesbezügliche statistische Zusammenfassungen sind in ausländischen Zeitschriften zu finden. Obzwar die in diesen Versuchen angewandten Strahlungsenergien und r/min.-Werte verschieden sind und ihre Umrechnung hinsichtlich ihrer biologischen Wirkung sozusagen unmöglich ist, weist das Streuungsbild darauf hin, dass die Strahlenempfindlichkeiten der verschiedenen Tierarten beträchtlich voneinander abweichen. Auf Grund der DL_{50}-Werte beträgt zum Beispiel die Strahlenempfindlichkeit von Hasen 1200—1500 r, von Pferd, Katze, Huhn 600—1100 r, von Mäusen und Ratten 350—700 r, von Meerschweinchen und Schweinen 270—500 r. Bezüglich des Menschen sind selbstverständlich keine Angaben vorhanden, aber auf Grund röntgentherapeutischer Beobachtungen, sowie der traurigen Erfahrungen in Hirosima kann der umgerechnete DL_{50}-Wert schätzungsweise in der Grössenordnung von 600 r angenommen werden.

Bei der Auswertung der katalytischen Serumproteinwellen auf Grund der oben angeführten Betrachtungen konnte hier die Methode von TROPP nicht angewandt werden. Das Verhältnis h_2/h_1 ergab nämlich unbrauchbare Zahlenwerte wegen den auch bei identischen Strahlenempfindlichkeiten verschiedenen absoluten Wellenhöhen. Im Falle der Messung von h_2-h_1 war die Einführung negativer Werte unvermeidlich, wodurch die Ergebnisse von Gruppenversuchen weniger übersichtlich wurden. Darum wurde — ausschliesslich in diesen Versuchen — eine neuartige Auswertungsmethode eingeführt. Diese neue Methode beruht anstatt der Höhemessung auf der Messung vom »Wellenwinkel«. Der Winkel wird in der Weise gebildet, dass an die Maxima der ersten bzw. zweiten Welle (durch die Mitte der Zacken) eine Gerade, dann

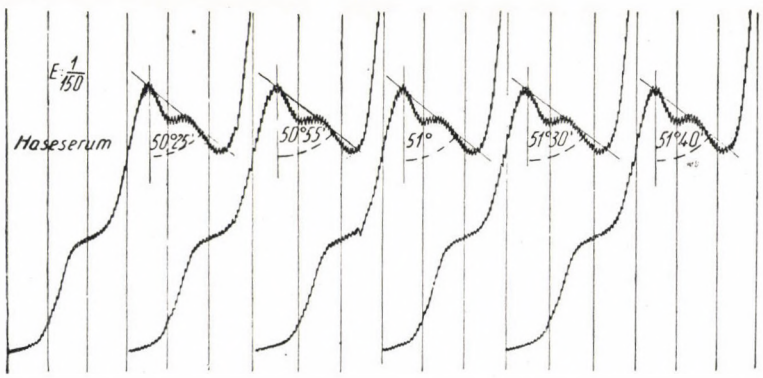


Abb. 3. Hasenserum bei 325facher Verdünnung. Co^{2+}: 0,002n. Spannungsmarkenabstand : 0,15 V. Anfang von —0,75 V. Aus derselben Lösung in einem Zeitintervall von 5 Minuten wiederholte Polarogramme

durch das Maximum der ersten Welle eine Vertikale gelegt wird. Der durch diese zwei Geraden eingeschlossene Winkel ist für das Protein charakteristisch (Abb. 3). Mit Hilfe dieser Methode können die Wellenverhältnisse gut veranschaulicht und sehr genau ausgewertet werden. Wie es aus Abb. 3 ersichtlich ist, kann selbst die sehr geringe Denaturierung, die in der BRDIČKA-Lösung während des Stehens entsteht, durch das Anwachsen des Wellenwinkels verfolgt werden.

Gleichzeitig mit der Anwendung dieser »Winkelmethode« wurde versucht, einen zahlenmässigen Zusammenhang zwischen den Wellenwinkeln und der Strahlenempfindlichkeit zu finden. Zu diesem Zweck war es nötig, geeignete Ausgangspunkte, d. h. Seren von bekannter Strahlenempfindlichkeit zu wählen. Diese waren das Serum eines Hasenstammes von gemessener Strahlenempfindlichkeit ($DL_{50} = 1500$ r) und ein menschliches Serum mit einem willkürlich angenommenen DL_{50}-Wert von 600 r (Abb. 4).

Das zwischen den Strahlenempfindlichkeiten bestehende 2,5fache Verhältnis entspricht dem Reziprokwert des Verhältnisses der Wellenwinkel. Auf

Grund von Abb. 4 kann eine provisorische Formel zur Berechnung der Strahlenempfindlichkeit aufgestellt werden:

$$r = 2100 - 13{,}7\,\alpha^\circ\,;\ \text{wo}$$

r = der gesuchte DL_{50}-Wert
α° = der gemessene Wellenwinkel ist.

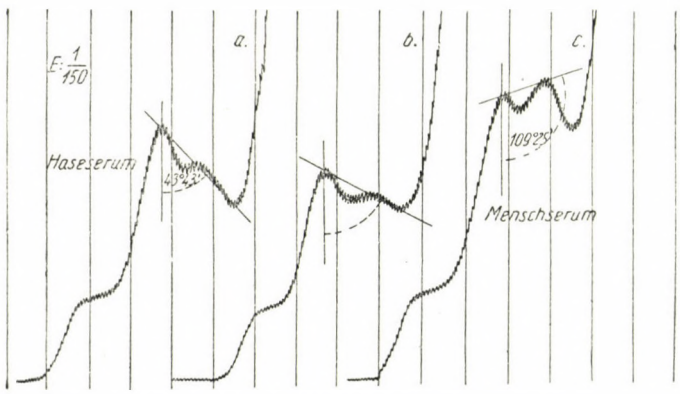


Abb. 4. Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und Wellenwinkel. »a«: Hasenserum, »c«: Menschenserum. Verdünnung: 325fach. Tropfzeit: 2 min/Tropfen, Tropfenoberfläche: 4,41 mm^2, t = 20°, Co^{2+}: 0,002n. Spannungsmarkenabstand: 0,15 V

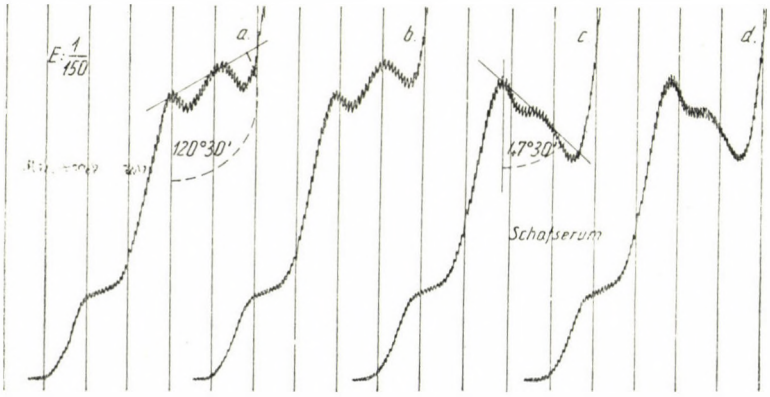


Abb. 5. Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und Wellenwinkel. »a—b«: Meerschweinchenserum, »c—d«: Schafserum. DL_{50}: 441 bzw. 1447 r

Unter identischen Versuchsbedingungen wurden Seren von Hund, Katze, Pferd, Schwein, Maus, Ratte, Meerschweinchen, Schaf und Huhn (Abb. 5, 6, 7) untersucht.

Die in obigen Versuchen polarographisch ermittelten und die in der Literatur angegebenen DL_{50}-Werte sind in Tabelle I zusammengestellt.

In Verbindung mit Tab. I ist zu bemerken, dass innerhalb ein und derselben Tierart die Strahlenempfindlichkeit eine Streuung in der Grössenordnung von 150—250 r aufweisen kann. In kontrollierten Serienuntersuchungen einiger Hasenseren habe ich mich von dieser Tatsache selbst überzeugt. Im Falle von reinen gezüchteten Stämmen kann sich diese Streuung auf ±50—80r

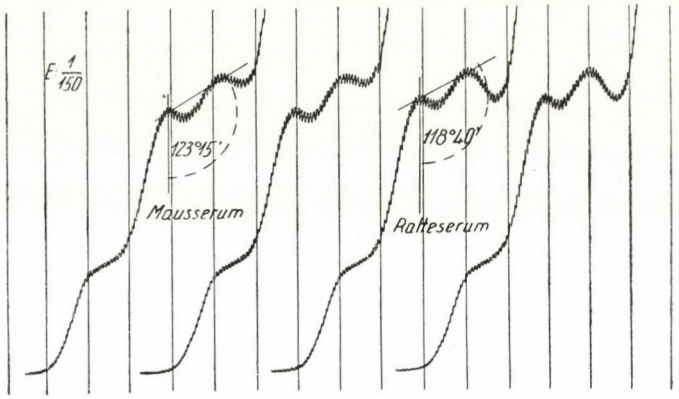


Abb. 6. Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und Wellenwinkel »a—b« Mausserum, »c—d« Rattenserum. DL_{50}: 401 bzw. 465 r

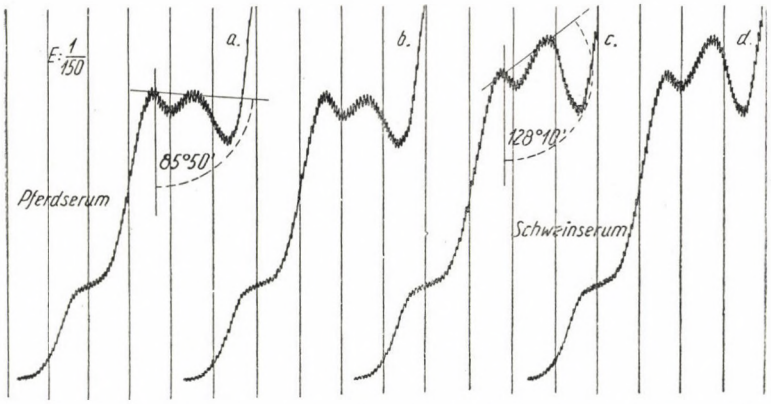


Abb. 7. Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und Wellenwinkel »a—b«: Pferdeserum, »c—d«: Schweineserum. DL_{50}: 916 bzw. 338 r

vermindern. Die Genauigkeit der polarographischen Methode — unter konstant gehaltenen Versuchsbedingungen — wurde innerhalb von ±2° gefunden, d. h., die Bestimmungen können mit einer Genauigkeit von ±30 r durchgeführt werden, wodurch die Methode, nach zweckmässiger Verfeinerung, auch zur Untersuchung von individuellen Strahlenempfindlichkeiten geeignet wird. Um dies zu erreichen und um weitere Anhaltspunkte zur Aufstellung einer endgültigen Formel zu gewinnen, wurden diejenigen Versuche von MÜLLER

Tabelle I

Tierart	Polarographisch bestimmte DL_{50}-Werte	Literaturangaben für DL_{50} Werte	Literaturangaben für DL_{100} Werte	Mitgeteilte Strahlungsangaben	Literatur
Hase	1500 r 1467 r	1500 r			LANDMANN, J. Kansas Med. Soc. 1951.
Schaf	1447 r				
Katze	1050 r	840 r			QUIMBY, Paper J. P. Clinton Laboratory New York (1948)
Pferd	916 r		820 r		(auf Maultier) RUST: Acta Hämatologica **12**, 327 (1954)
Huhn	737 r	< 900 r		200 kV, 15 mA, 0,5 mm Cu + 3 mm Bakelit, Dosierungsgeschwindigkeit 43 r/Min. Abstand 46 cm, binnen 14 Tagen	STEARRER: Am. J. Roentgenol. **65**, 265 (1951)
Hund	655 r 774 r				
Ratte	465 r	520—700 r		200 kV, 15 mA, 0,5 mm Cu + 3 mm Bakelit. Halbwertschicht 1,2 mm Cu, Dosierungsgeschwindigkeit 17—18 r/Min. Abstand 71 cm, binnen 30 Tagen	JENNINGS: Radiology, **55**, 799 (1950)
Maus	401 r	380 r		200 kV, 15 mA, 0,5 mm Cu + 1 mm Al, Halbwertschicht 1,5 mm Cu, Dosierungsgeschwindigkeit 64 r/Min. Abstand 50 cm	MOLOMUT: Am. J. Roentgenol. **66**, 245 (1951)
		393 r		200 kV, 15 mA, 0,5 mm Cu + 3 mm Bakelit, Dosierungsgeschwindigkeit 20 r/Min. Abstand 68 cm	MILLER: Radiology, **59**, 159 (1952)
Meerschweinchen	441 r	350 r		200 kV, 20 mA, 25 mm Cu + + 0,51 mm Al. Abstand 75 cm	SMITH: Radiology, **60**, 159 (1953)
		400 r		binnen 30 Tagen	LORENZ: Radiology, **58**, 863 (1952)

Tierart	Polarographisch bestimmte DL_{50}-Werte	Literaturangaben für Werte DL_{50}	Literaturangaben für Werte DL_{100}	Mitgeteilte Strahlungsangaben	Literatur
Schwein	338 r 417 r	275 r	600 r	1000 kV, 3 mA bilateralisch, Dosierungsgeschwindigkeit 27—33 r/Min. Abstand 1 m, binnen 30 Tagen	TULLIS: Radiology, **52**, 396 (1949)
		510 r		1000 kV, binnen 30 Tagen	TULLIS: Radiology, **62**, 409 (1954)
		350—400 r		2000 kV, binnen 30 Tagen	TULLIS: Radiology, **62**, 409 (1954)
		350—400 r		1000 kV, 3 mA, Abstand 1 m	TULLIS et al.: Am. J. Roentgenol. **67**, 620 (1952)
			550 r	2000 kV, 1,5 mA, 6,3 mm Fe, Halbwertschicht 4,3 mm Pb, Abstand 2 m	TULLIS et al.: Am. J. Roentgenol. **67**, 620 (1952)

und DAVIS [5], die sich auf die verschiedenen, die Proteinwelle beeinflussenden Faktoren beziehen, wiederholt, wobei zur Auswertung die neue Wellenwinkelmethode angewandt wurde. Die Einwirkung der Konzentration des Eiweisses und des Cobaltchlorids, der Tropfzeit, der Trommelspannung, der Galvanometerempfindlichkeit, der Temperatur und der Tropfenoberfläche wurde untersucht.

Abhängigkeit der Wellenwinkel von der Konzentration des Proteins

Der Proteingehalt von Seren verschiedener Tierarten schwankt zwischen 4,5 und 8,0%, vom Menschenserum zwischen 6,0—9,5%. Wenn der prozentuelle Eiweissgehalt des Ausgangsserums unbeachtet bleibt, so kann eine Winkeldifferenz entstehen, die einer 25%igen Konzentrationsstreuung entspricht. Solche Konzentrationsdifferenzen können — nach vorliegenden Untersuchungen — eine Wellenwinkeldifferenz von 5 bis 10° verursachen. Dieser Fehler kann am zweckmässigsten in solcher Weise eliminiert werden, dass ein jedes Serum mit destilliertem Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung auf denselben Eiweissgehalt verdünnt wird. (Die physiologische Kochsalzlösung beeinflusst die Wellen nicht.) Die Einstellung der Konzentration kann dann am besten mit Hilfe eines Refraktometers erfolgen.

Wenn der Eiweissgehalt der Ausgangsseren 5% beträgt und wenn man den Eiweissgehalt der Lösungen, die polarographisch untersucht werden, in demselben Masse vergrössert, so ist das Verhältnis der Wellenwinkel von der

Tierart unabhängig und identisch (Abb. 8). Dieser Zusammenhang wurde in einem einer 325fachen Verdünnung entsprechenden Konzentrationsbereich beobachtet, wobei der Eiweissgehalt der untersuchten Lösung höchstens um 50% erhöht wurde.

Da zwischen Strahlenempfindlichkeit und Grösse des Wellenwinkels ein einfacher Zusammenhang besteht, kann auf Grund der soeben beschriebenen Beobachtung in unseren auf die Strahlenempfindlichkeit bezüglichen Unter-

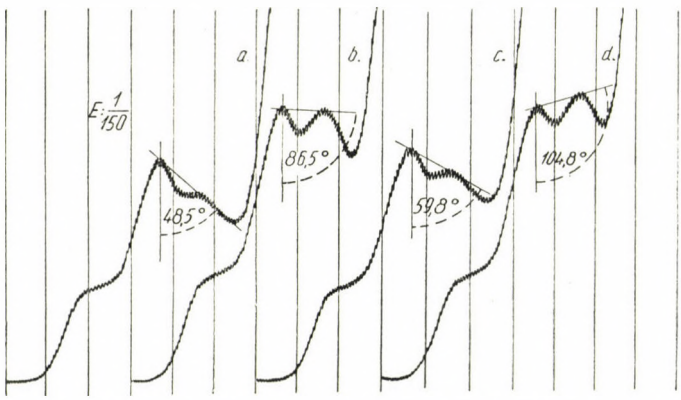


Abb. 8. Serum mit einem Proteingehalt von 5%. »a—c«: Hasenserum, »b—d«: Menschenserum. Aus derselben Verdünnung (0,2 ml Serum + 5 ml Wasser) enthalten in 5 ml BRDIČKA-Lösung »a—b«: 0,4—0,4, »c—d«: 0,6—0,6 ml. Co^{2+}: 0,002n

suchungen die Genauigkeit der Bestimmung noch weiter erhöht werden, angenommen, dass die Konzentration des Proteins konstant gehalten wird.

Einfluss der Konzentration des $CoCl_2$

Mit der Änderung der Konzentration des Cobaltchlorids nehmen prinzipiell beide Wellen zu, die zweite in grösserem Masse als die erste. Es zeigen sich jedoch bei den Seren verschiedener Tierarten Unterschiede. Im Falle des Hasenserums nimmt der Wellenwinkel mit der Vergrösserung der Konzentration des $CoCl_2$ nur geringfügig zu, die zweite Welle wird dagegen ausgeprägter (Abb. 9). Beim Menschenserum ist das Anwachsen des Winkels noch entschiedener (Abb. 10). In diesen Versuchen wurde der Eiweissgehalt der Seren auf 5% eingestellt. Aus dem Vergleich der zu identischen Co^{2+}-Konzentrationen gehörenden Winkelwerte ist es ersichtlich, dass während die Differenz der Wellenwinkel bei einer $CoCl_2$-Konzentration von 0,001n nur 8,2° beträgt, sie bei 0,0026n zu 32° ansteigt.

Es kann nun angenommen werden, dass zwischen der Empfindlichkeit der Wellenwinkel gegenüber der Konzentration des Cobaltchlorids und der

Strahlenempfindlichkeit des Serums, bzw. der Tierart ein Zusammenhang besteht. Diese Annahme ermöglicht, dass bei der Untersuchung von Seren bekannter und womöglich grossen Unterschied in der Strahlenempfindlichkeit aufweisender Tierstämme die Konzentration des Cobaltchlorids in solcher Weise eingestellt wird, dass die Winkel grosse Differenzen aufweisen und dass dasselbe

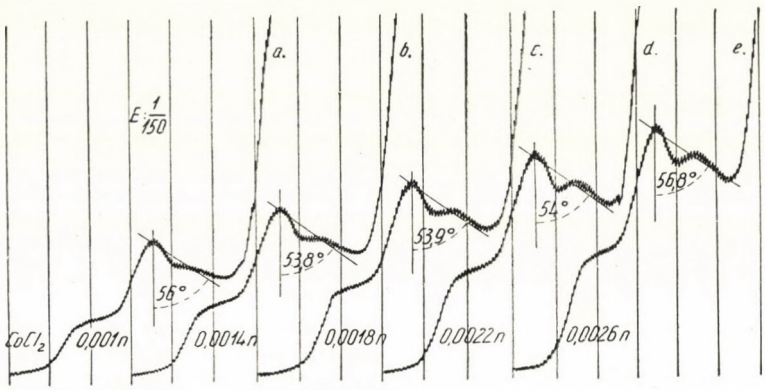


Abb. 9. Hasenserum: Abhängigkeit der Wellenwinkel von der Konzentration des $CoCl_2$

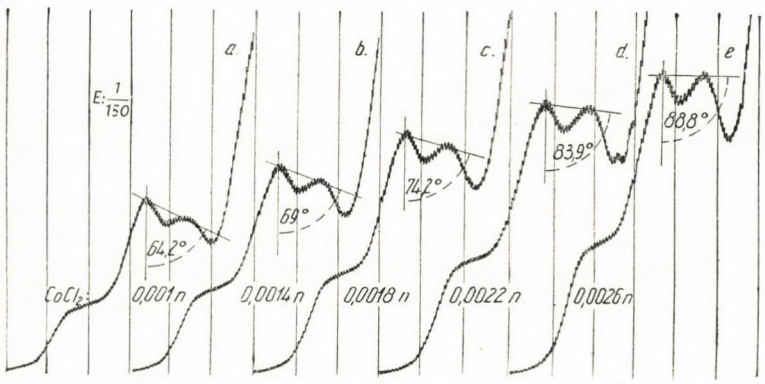


Abb. 10. Menschenserum: Abhängigkeit der Wellenwinkel von der Konzentration des $CoCl_2$

Verhältnis, wenn möglich, zwischen den Wellenwinkeln einerseits und den Reziproken der Strahlenempfindlichkeiten andererseits bestehe.

Es muss erwähnt werden, dass die Erhöhung der Konzentration des Cobaltchlorids nicht immer günstig ist. Oberhalb einer Konzentration von 0,003n kann $Co(OH)_2$ aus der Lösung ausfallen. Es muss ausserdem beachtet werden, dass identischen aber geringen Vergrösserungen der zweiten Welle das Anwachsen des Wellenwinkels nicht linear folgt. Im Falle einer identischen Zusammensetzung der Lösungen und einer nicht zu sehr verschiedenen Sulfhydrylaktivität sind nämlich die zu den Maxima gehörenden Potentiale kon-

stant. Demnach ist auch die aus dem Maximum der zweiten Welle gebildete Projektion auf die durch das Maximum der ersten Welle gelegte Horizontale konstant. Identischen Veränderungen der zweiten Welle entsprechen Veränderungen der Tangenten-, bzw. Cotangentenfunktion der Winkel (Abb. 11, 12).

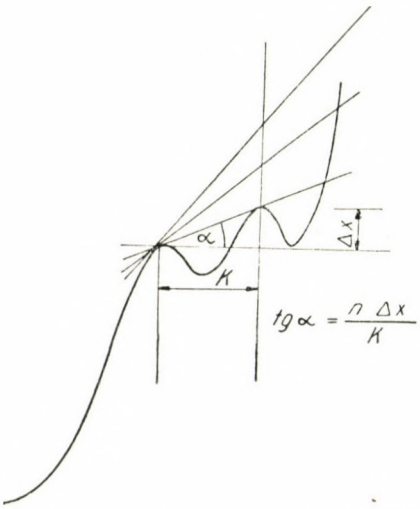


Abb. 11. Zusammenhang zwischen der Erhöhung der zweiten Welle und der Veränderung des Wellenwinkels m Fall von Winkeln grösser als 90°

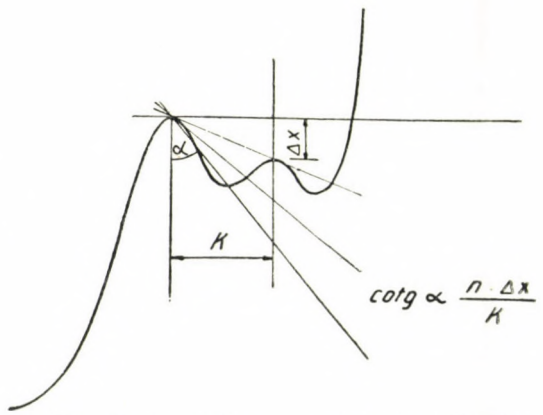


Abb. 12. Zusammenhang zwischen der Erhöhung der zweiten Welle und der Veränderung des Wellenwinkels im Fall von Winkeln kleiner als 90°

Mit der gleichmässigen Zunahme der zweiten Welle vermindert sich stufenweise das Anwachsen der Winkel; praktisch übersteigt die Deviation vom Linearen oberhalb 120° die Fehlergrenzen der Messung.

Bei meinen auf die Strahlenempfindlichkeit gerichteten Untersuchungen waren die gemessenen extremen Winkelwerte 43°, bzw. 130°. Die Frage ist nun, ob die Empfindlichkeit sich mit der Höhe der zweiten Welle, oder ob sie sich mit dem Wellenwinkel linear ändert. Auf Grund der bisher beschriebenen Tatsachen (Abb. 4) könnte wohl die letztere Annahme möglich sein. Diese Frage kann jedoch noch nicht als endgültig gelöst betrachtet werden.

Nun können wir auf Grund der vorgeführten Erkenntnisse derart vorgehen, dass wir zu unseren Versuchen zwei Konzentrationen des Cobaltchlorids wählen, und zwar eine niedrigere (0,001—0,002n) für Seren, die eine Strahlenempfindlichkeit von 250—700 r aufweisen — und eine höhere (0,002—0,003n) für Seren, deren Strahlenempfindlichkeit 600—1500 r beträgt. Natürlich muss unsere Formel in beiden Fällen mit Seren von bekannter Strahlenempfindlichkeit eingestellt werden.

Zusammenhang des Wellenwinkels mit der Tropfzeit

Bei kleineren Tropfzeiten nimmt die Höhe der Wellen zu, die Wellenwinkel bleiben dagegen praktisch unverändert. Mit dem Anwachsen der Tropfzeit wachsen auch die Zacken : die Ausbildung des Adsorptionsgleichgewichtes ist besser (Abb. 13).

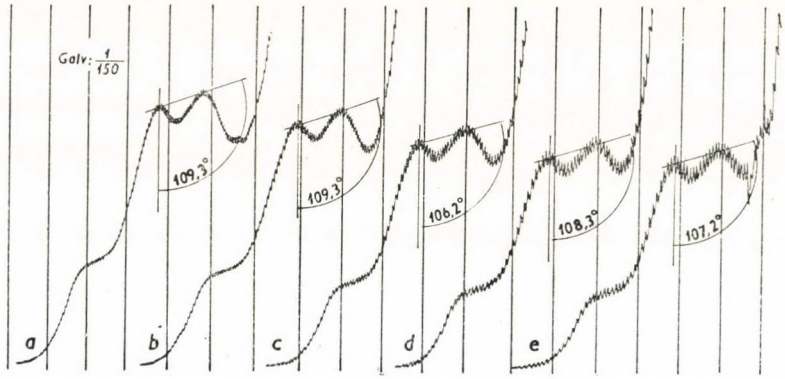


Abb. 13. Der Einfluss der Tropfzeit. Aufnahmen mit einer Tropfzeit vom 1,7 bis 3 Minuten

Einfluss der Trommelspannung und der Galvanometerempfindlichkeit

Mit der Änderung der Trommelspannung ändert sich auch der Abstand der Maxima, d. h. die Grösse der schon besprochenen Projektion. Bei Wellenwinkeln, die grösser als 90° sind, ändert sich mit der Winkelveränderung die Cotangentenfunktion, bei Winkeln, die kleiner als 90° sind, die Tangentenfunktion. Ein Spannungsmarkenabstand von 0,15 V erwies sich hinsichtlich der Abzeichnung der Wellen als optimal. Sämtliche hier vorgeführten Polarogramme wurden mit Hilfe dieses Markenabstandes aufgenommen.

Eine Galvanometerempfindlichkeit von 1/150 erwies sich als optimal ; in diesem Falle können nämlich beide Proteinwellen und auch die CoII/Co Stufe mit aufgenommen werden und die Abzeichnung der Wellen ist gut. Bei einer anderen Empfindlichkeit, wenn der Winkel grösser als 90° ist, kann auf Grund der folgenden Formel auf 1/150 Empfindlichkeit umgerechnet werden :

$$\alpha_{\frac{1}{150}} = \text{arc}\left[\text{tg}\,(\alpha - 90°)\frac{1}{150\ \text{Galv.empf.}}\right] + 90°.$$

Im Falle eines Winkels, der kleiner als 90° ist, können wir folgende Formel benützen :

$$\alpha_{\frac{1}{150}} = \text{arc}\left[\text{cotg}\,\alpha\frac{1}{150\ \text{Galv. empf.}}\right].$$

Abhängigkeit der Wellenwinkel von der Temperatur

Bei frischem Serum kann man im Temperaturbereich von 20 bis 27°C im Durchschnitt mit einer Winkelvergrösserung von 1° pro Temperaturgrad rechnen. Bei abgestandenen Seren ist diese Vergrösserung beträchtlicher. Bei der Untersuchung der CoIII/II Stufe konnte festgestellt werden, dass man in einer BRDIČKA-Lösung während einer halben Stunde selbst bei 40° mit einer Oxydation des Cobalts nicht zu rechnen braucht. Ein wichtiger Faktor ist aber der Gehalt der BRDIČKA-Lösung an Ammoniak, der die Proteine oberhalb 30° schon bedeutend denaturiert.

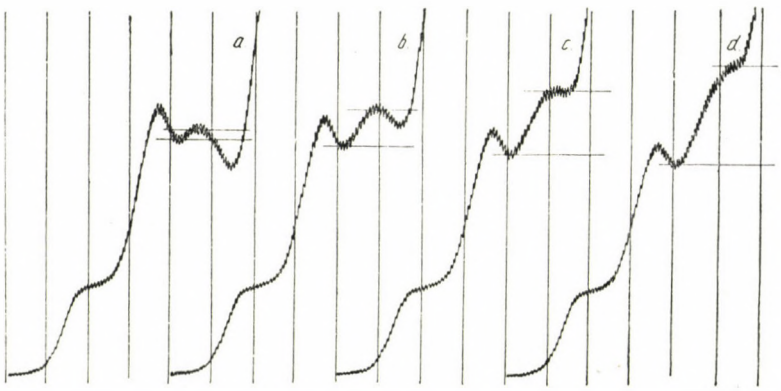


Abb. 14. Polarogramme von Serumeiweiss + Cystein. »a«: Serum; »b—d«: Serum nach einer Zugabe von 6 μg Cystein. Die Cysteinwelle ist der zweiten Proteinwelle superponiert

Abhängigkeit der Wellenwinkel von der Grösse der Tropfenoberfläche

Bei identischen Tropfzeiten nehmen die Wellen der Tropfenoberfläche proportional zu. Statt der erwarteten konstanten Wellenwinkel konnten Abweichungen, die etwas oberhalb der Fehlergrenze waren, beobachtet werden. Die Aufklärung dieser Frage beansprucht weitere Versuche.

*

Endlich soll noch über Untersuchungen berichtet werden, die sich auf die Entstehung der Proteindoppelwelle beziehen. Auf Grund der Versuche von TROPP kann die erste Stufe mit den Säureamidgruppen des Proteins in Zusammenhang gebracht werden. Die Katalyse der zweiten Stufe wird von den, in den Seitenketten befindlichen nicht abgeschirmten —SH, bzw. —S—S-Gruppen verrichtet. Um diese letztere Annahme zu beweisen, wurden Seren Cystein-Cystin in bekannter Konzentration zugefügt und die gemeinsamen Polarogramme aufgenommen (Abb. 14). Es wurde beobachtet, dass Cystein immer die zweite Proteinwelle erhöht und dass die so verschmolzenen Wellen selbst bei höherer Cysteinkonzentration nicht in zwei Wellen zerlegt werden.

Das Ziel dieses Studiums war auf eine neue Anwendungsmöglichkeit des Polarographen auf einem — heutzutage vielleicht nicht uninteressanten — Gebiet hinzuweisen. In einer Zeit, wo zahlreiche Forscher sich sowohl mit den verschiedenen schwefelhaltigen Aminosäuren als auch mit der für die Strahlenempfindlichkeit günstigen Wirkung des Cobaltchlorids befassen, muss eine immer wachsende Aufmerksamkeit auf die Anwendungsmöglichkeiten des Polarographen auf dem Forschungsgebiete der Strahlenbiologie gelenkt werden.

Ich möchte meinen besten Dank Kollegen V. CIELESZKY für seine wertvollen Ratschläge und Hilfe, die er mir während meiner Versuche zuteilwerden liess, aussprechen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine neuartige Auswertungsmethode bei der Untersuchung katalytischer Proteinwellen vorgeschlagen. Der Winkel zwischen der durch das Maximum der ersten Welle gezogenen Vertikale und der Gerade, die den Höhepunkt der ersten und zweiten Welle verbindet, wird gemessen. Es zeigte sich ein neuartiger Zusammenhang zwischen der Grösse des so gebildeten »Wellenwinkels« und der Röntgenstrahlenempfindlichkeit verschiedener Tierarten. Es wird zur Berechnung des Letzteren eine provisorische Gleichung angegeben. Das polarographische Verhalten des Wellenwinkels wird geprüft.

LITERATUR

1. R. BRDIČKA und I. KLUMPAR: Časopis českoslov. Lékárnictva **17**, 234 (1937).
2. E. JURKA: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 243 (1939).
3. R. BRDIČKA: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 614 (1939).
4. C. TROPP und Mitarbeiter: Hoppe—Seyler's Z. physiol. Chem., **262**, 199, 210, 225 (1939).
5. O. H. MÜLLER und J. S. DAVIS Jr.: J. biol. Chemistry **159**, 667 (1945).
6. G. J. MILLAR: Biochem. J. **53**, 385 (1953).
7. B. JÁMBOR: Magyar Kémikusok Lapja **7**, 214 (1954).

DISKUSSION

P. ZUMAN: Erlauben Sie mir zwei Bemerkungen. Es wurde hier konstatiert, dass eine der Stufen, die in der BRDIČKA-Lösung, in Anwesenheit von Kobalt beobachtet werden, mit der Sulfhydryl-Gruppe, die zweite mit dem Säureamid-Gehalt der Eiweisse in Zusammenhang steht. Leider muss ich behaupten, dass die Sache nicht nur nach meiner, sondern nach Professor BRDIČKA's Meinung nicht so einfach ist. Prof. BRDIČKA meint zur Zeit, dass wir die Ursache der in Anwesenheit von Eiweiss entstehenden Doppelstufe nicht kennen. Ich möchte erwähnen, dass — wie es japanische Autoren zeigten — auch bei solchen Verbindungen, die keine Sulfhydrylgruppe enthalten, unter gewissen Umständen die katalytische Doppelwelle zu beobachten ist.

Leider dürfen wir also nicht erklären, dass wir die Ursache der Doppelstufe der BRDIČKA-Reaktion kennen. Es ist bestimmt, dass wenigstens eine der Stufen mit dem Schwefelgehalt in Zusammenhang steht, aber die Frage, in welcher Verbindung es gebunden ist und wie kompliziert der Zusammenhang sei, kann heute noch nicht beantwortet werden. Die Tatsache, dass das Potential der zweiten katalytischen Welle mit dem Potential der katalytischen Abscheidung des Cysteins übereinstimmt, ist als ein unbewiesener Zufall aufzufassen.

Meine zweite Frage : in der Polarographie werden zur Auswertung der Kurven gewöhnlich die Ströme gemessen. Hier wird eine Messmethode angegeben, die mit der Messung eines Winkels arbeitet, mit einer Quantität also, die keinen physikalischen Inhalt besitzt. Er ist eine empirische Grösse und entspricht eigentlich dem Verhältnis der Höhen der zwei Stufen. Das haben schon andere Autoren, z. B. TROPP gemessen und haben festgestellt, dass es eine Funktion der Konzentration, Denaturierung und Eiweissart ist. TROPP nannte die Erscheinung »Grösseneffekt«. Es ist zweifellos, dass zwischen den polarographischen Wellen und der Strahlenempfindlichkeit ein interessanter Zusammenhang besteht, aber es ist bestimmt, dass diese übrigens interessanten Ergebnisse auch durch die Messung des Verhältnisses der Stufenhöhen erzielt werden könnten, und in diesem Falle wäre der Stufenquotient keine Funktion der Behälterhöhe, der Konzentration, der Galvanometer-Empfindlichkeit, usw.

E. CSÁGOLY : Die Vorgänge an der Tropfenoberfläche sind in Anwesenheit von Eiweissen tatsächlich sehr verwickelt. Da organische Verbindungen gefunden worden sind, deren mittelmässig stabile Wasserstoffatome auch katalytische Wellen hervorrufen, müssen jene Versuche, wonach eine Eiweiss-Stufe der aktiven Cystein-Cystin Gruppen den Seitenketten zugeschrieben werden, noch nicht verworfen werden. Ich glaube, dass das unsere gemeinsame Meinung ist. Mein vorgetragener experimenteller Stoff weist darauf hin, dass der Zusammenhang bei der II. Stufe zu suchen ist. Die genaue Übereinstimmung der Maximumpotentiale kann ich nicht als Zufall auffassen. Bei serienmässig durchgeführten Cystein-Cystin Untersuchungen beobachtete ich einen unteren Potentialwert der beiden Aminosäuren, der zum eben wahrnehmbaren Maximum der Stufe gehört. Bei steigender Konzentration verschiebt sich dieser Maximumpotentialwert zu negativerem Spannungsbereich. Bei der Polarographie von Eiweiss und Cystein nebeneinander — bei nicht zu grosser Cystein-Konzentration— beobachtete ich, dass Cystein immer die II. Welle des Einweisses beeinflusst. Die gemeinsame Blockreaktion von Cystein und Serumeiweiss unterstützt die Annahme von der II. Stufe. Solche Blockreaktion führte ich mit Natriumnitroprussiat aus.

Der Säureamid-Charakter der I. Stufe ist schon eine schwierigere Frage. Die proteolysierenden Versuche durch Trypsin von TROPP reichen nicht zur Gestaltung des endgültigen Standpunktes aus. Ich selbst probierte der Frage durch die Kupfer-Biuret-Komplexe näherzukommen. Diese Komplexe rufen nämlich in der BRDIČKA-Lösung die Doppelstufe hervor. Die Höhe der I. Stufe ist niedriger als die gewöhnte und ist eine Funktion des Kupfergehaltes. Ich versuchte den Vorgang mit Hilfe der Theorie von RISING zu erklären. Danach soll der Wasserstoff der Imino-Gruppe des Peptids labil sein, es kann eine tautomere Umsetzung erfolgen, als der Imino-Wasserstoff zum benachbarten Carbonyl-Sauerstoff übergeht und eine C=N Doppelbindung entsteht. Wird Kupfer zu Carbonyl gebunden, so wird dieser Wasserstoff abgerissen. Auf Grund der Abnahme der I. Stufe, halte ich den Imino-Wasserstoff für die Katalyse der I. Stufe verantwortlich.

Was die Auswertung betrifft : meine Auswertung weicht tatsächlich von der gewöhnten ab. Zur Zeit weiss ich noch nicht sicher, wie sich diese Auswertungsmethode zur Messung von bekannten Höhendifferenzen verhält. Es kann entschieden werden, wenn bekannt wird, ob die Strahlenempfindlichkeit mit der Zunahme der II. Stufe linear oder tangentiell zusammenhängt. Es ist jedoch zweifellos, dass die Messung der Stufenquotienten unzweckmässig

sei. Bei den Seren von Mensch, Affe, Hund und Huhn beobachtete ich nämlich, dass die Wellenwinkel kaum abweichen, die Strahlenempfindlichkeit ist — gemäss der Literatur — nahezu die gleiche, die absoluten Höhen zeigen jedoch grosse Abweichungen, so weisen auch die h_2/h_1 Werte Schwankungen auf und können praktisch nicht gebraucht werden.

G. LAMM (im Namen von Prof. KOSCHTOJANZ) : Es wurde beobachtet, dass nur 2% der Sulfhydrylgruppen des Eiweisses für das biologische Verhalten verantwortlich sind. Es interessiert mich, ob die polarographischen Untersuchungen auch in diese Richtung erweitert werden, da angenommen werden kann, dass nicht alle Sulfhydryl-Gruppen an der Serumreaktion teilnehmen, sondern nur jene, die sich an der Oberfläche befinden, also biologisch aktiv sind. Diese Untersuchungen hätten von der biologischen Seite grosse Wichtigkeit.

E. CSÁGOLY : Zur zahlenmässigen Bestimmung der SH-Gruppen an der Seitenkette des nativen Eiweisses dienen gute amperometrische Methoden, die von KOLTHOFF, HARRIS und BENESCH entwickelt worden sind. Die Untersuchungen zeigten, dass wir beim Menschenserum mit 50μ Mol/100 ml Serum freien SH-Gruppen rechnen dürfen. Diesbezügliche Arbeiten werde auch ich durchführen, um so mehr, weil ich — auf Grund meiner Versuche — annehme, dass das Studium des Zusammenhanges zwischen Strahlenempfindlichkeit und SH-Niveau interessante Ergebnisse geben wird.

G. BARTA : Vortragender hob hervor, dass bei diesen Doppelwellen für die Entstehung der ersten Welle die Zahl der Säureamidgruppen der Polypeptidketten, für die zweite Welle die Verhältnisszahl von Disulfidbindungen zu den Sulfhydrylgruppen verantwortlich ist. Bekanntlich ist das Mass der fortschreitenden Denaturation in linearem Verhältnis zur Zahl der freiwerdenden, bzw. aktivisierten SH-Gruppen. Mit dem Erschliessen des Mechanismus der Eiweissdenaturierung hat sich eindringlich Prof. HAUROWITZ beschäftigt. Nach ihm lockern sich bei der Denaturierung die die Peptidketten zusammenhaltenden intramolekularen Wasserstoffbindungen, die Ketten entfalten sich *(unfolded)* und schliessen sich wieder *(folded)* bei der eventuellen Rückverwandlung in den nativen Zustand. Im zusammengefaltenen Zustand der Polypeptidketten sind die internen — also der grösste Teil der — Sulfhydrylgruppen für Reagenzien nicht zugänglich, also wird bei der Entfaltung der Ketten (Denaturierungsprozess) die Aktivisierung der Mehrzahl der SH-Gruppen jetzt verständlich. Wenn es richtig ist, dass bei diesen katalytischen Doppelwellen die zweite Welle die Zahl der aktiven Sulfhydryle indiziert, so müsste sich diese Welle mit zunehmender Denaturierung auch proportional erhöhen. — Meiner Ansicht nach müsste man im allgemeinen — bevor es überhaupt zur Polarographie eines nativen Eiweisses kommt — sich über den Denaturierungszustand des zu untersuchenden Eiweisses erst genau orientieren. Wir wissen ja, dass die empfindlicheren Eiweisse schon während der Vorbereitung zum Polarographieren mehr oder weniger denaturiert werden.

E. CSÁGOLY : Die Denaturierung kann mit dem Polarographen gut verfolgt werden. Seit BRDIČKA befassen sich viele mit dem Problem und die Zahl der erschienenen Arbeiten ist hoch. Während der Denaturierung nehmen die Stufenhöhen — gemäss der theoretischen Erwartung — zu und zwar die zweite stärker. Auf diesem Gebiete ist der Polarograph zur Erforschung feiner strukturellen Änderungen besonders geeignet.

G. BARTA : Noch eine kurze Bemerkung zu den polarographischen Auswertungsmöglichkeiten der Grösse der Denaturation. Es gibt 1—2 Enzyme —

zum Beispiel das Trypsin oder Pepsin —, die sich unter gewissen Umständen (pH, Einwirkungszeit) bei der Erhitzung bis zur Denaturierungstemperatur nicht irreversibel denaturieren, sondern, wenn abgekühlt, sich allmählich wieder in den nativen Zustand zurückwandeln können (Enzymreaktivierung). Ich glaube, vom Standpunkt der Aufklärung der Denaturationsprozesse wäre es gar nicht uninteressant einmal nachzuprüfen, wie sich diese polarographischen Doppelwellen bei der Rückverwandlung des denaturierten Pepsins oder Trypsins in den nativen Zustand benehmen. Man müsste also den Vorgang zurück in den nativen Zustand polarographisch verfolgen. Würden bei diesem rückgängigen Prozess die beiden Wellen in demselben Masse so proportional sinken, wie sie sich bei dem Denaturationsprozess erhöht haben — oder aber würden sich die beiden Wellen voneinander ganz unabhängig, ganz verschiedentlich verhalten?

A NEW METHOD OF EVALUATION OF CATALYTIC PROTEIN WAVES

The correlation of the polarographic sulphhydryl activity of serum and of the sensitivity against X-rays

E. Cságoly

Summary

A new method of evaluation is proposed for the investigation of catalytic protein waves. The angle between the vertical line drawn through the peak of the first wave and another line connecting the first and the second peaks is measured. The "wave angle" obtained this way proved to show a remarkable correlation with the sensitivity of different types of animals to X-rays. For the calculation of the latter value a preliminary equation was derived. The polarographic behaviour of the wave angle was studied.

Endre Cságoly Budapest, II., Szilágyi E. fasor 6—8.

POLAROGRAPHISCHE BEURTEILUNG DES BIOLOGISCHEN WERTES DER EIWEISSSTOFFE

K. LINDNER

(Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaft, Budapest)

Der biologische Wert der Proteine wird hauptsächlich durch ihre Aminosäurezusammensetzung bestimmt, deren Kenntnis sowohl zur Berechnung des biologischen Wertes, als auch zur Bewertung der tierexperimentellen Ergebnisse heute als notwendig anerkannt wird. Die exakte Bestimmung der 18 bis 20 Aminosäuren, die in den Proteinen der Nahrung vorhanden sind, oder auch nur der 10 für unentbehrlich gehaltenen Aminosäuren, ist selbst nach einer in entsprechender Weise durchgeführten Hydrolyse eine recht schwierige Aufgabe. Von den klassischen präparativen bis zu den modernen mikrobiologischen Methoden der Aminosäurebestimmung führt ein langer Weg der Entwicklung ; trotzdem stossen wir bei der Durchführung einer solchen Bestimmung auf erhebliche Schwierigkeiten. Nachstehend werden die Kombinationen zweier sich in der Lösung dieses schweren Problems gut bewährter und die chemische Analyse in den letzten Jahrzehnten umwälzender Methoden besprochen. Eine dieser Methoden ist die zuerst von CONSDEN, GORDON und MARTIN [1] angewandte Papierchromatographie, mit deren Hilfe komplizierte, unlängst noch für untrennbar gehaltene Gemische von Substanzen, wie z. B. Aminosäuregemische von Eiweisshydrolysaten äusserst einfach und vollkommen getrennt werden können. Die zweite dieser analytischen Methoden ist die von HEYROVSKÝ [2] erfundene und heute in weitem Gebiet verbreitete Polarographie, mit deren Hilfe die durch die erste Methode trennbaren und in sehr geringer Menge vorhandenen Substanzen sehr genau bestimmt werden können, angenommen, dass sie der Reduktion an der tropfenden Quecksilberelektrode fähig sind. Auf diese Weise kann z. B. die Kupferkonzentration von Lösungen der Aminosäurekupferkomplexe polarographisch ermittelt werden, wie dies von MARTIN und MITTELMANN [3] und von JONES [4] bereits im Jahre 1948 mitgeteilt wurde. Die polarographische Mikrobestimmung von Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan wurde von RUSCONI, MONNIER, WENGER und BESSO [5, 6, 7] ausgearbeitet. NORTON und FURMAN [8] veröffentlichten eine neue Methode, die auf der allgemeinen Eigenschaft der Aminosäuren beruht, dass sie nämlich ihrer Konzentration proportional die polarographische Stufe des Phthalaldehyd vermindern. Diese Methode ist aber für die Bestimmung der 5 bis 100 μg Amino-

säuremengen, mit denen man in der Papierchromatographie zu rechnen hat, ungeeignet.

Die Polarographie der Kupferaminosäureverbindungen beruht wesentlich auf der sozusagen klassischen Methode von POPE und STEVENS [9]. Im Laufe dieser Methode setzen sich die Aminosäuren in Borax-Phosphatpuffer bei einem pH von 9,0—9,1 mit unlöslichem Kupferphosphat um. Theoretisch entstehen in diesem Falle Aminosäurekupferkomplexe von der Zusammensetzung CuA_2. Das Verhältnis α-Aminostickstoff : Kupfer beträgt also 0,44. Aus den Arbeiten von WOIWOD [10] und SPIER und PASCHER [11] geht hervor, dass dieses Verhältnis meistens von 0,44 verschieden ist, wegen des eigenartigen Komplexbildungsvermögens der Aminosäure einerseits und wegen anderer Eigenschaften des Systems, wie z. B. pH, Ionenmilieu usw. andererseits.

Zur endgültigen Ausarbeitung der polarographischen Mikrobestimmung der Aminosäuren war die eingehende Untersuchung der Rolle des pH-s nötig, da wir das Aminosäuregemisch nach MCFARREN [12] mit Hilfe eines gepufferten papierchromatographischen Systems getrennt haben, über dessen Verwendbarkeit zur quantitativen Bewertung schon JASCHIK [13] berichtete. BORSOOK und THIEMANN [14] erhielten nämlich mit Glykokoll und Alanin vom pH-Wert abhängig den Typen CuA_2, Cu_2A_3, CuA_3, Cu_2A_5 entsprechende stöchiometrische N : Cu-Verhältnisse.

Nachstehend möchte ich Einzelheiten meiner Untersuchungen kurz mitteilen. Die fraglichen Aminosäuremengen wurden in jedem Fall eine Stunde lang unter häufigem Umrühren mit 2 ml von einem Kupferphosphat-Borax-Dinatriumhydrogenphosphat-Zusatzelektrolyt behandelt. Diese Lösung wurde, nachdem sie von schwebenden Stoffen (Kupferphosphat, Filterpapierteilchen) durch Zentrifugieren befreit wurde, in ein Elektrolysengefäss nach NOVÁK, bzw. in ein einfaches Reagenzglas gebracht. Nach einer 4—5 Minuten dauernden Entlüftung wurde der Diffusionsstrom der Kupferabscheidung vom Nullpunkt bis zu — 0,8 V Spannung (die Trommelspannung betrug 4V) mit einer Empfindlichkeit ½ unter Anwendung der nötigen Kompensation mit Hilfe eines HEYROVSKÝ Mikropolarographen vom Typ M-102/1952 aufgenommen. Die Höhe der polarographischen Stufen wurde wegen des anodischen Beginnes und der Deformation gegen die Galvanometernullinie vermessen. Die pH-Werte 8,5, 9,0, 9,5, 10,0 und 11,0 wurden durch entsprechende Zugabe von Orthophosphorsäure, bzw. Natronlauge zum Borax-Phosphatpuffer eingestellt. Es ist erwähnenswert, dass die bei pH 11,0 bzw. 10,0 erhaltenen Resultate praktisch identisch sind. Der günstigste pH-Wert ist bei 9,5, weil die Streuung hier die geringste ist und weil die einer Glykokollmenge von 5 μg entsprechenden Stufen hier die höchsten, die Blindproben die kleinsten sind (Abb. 1). Als Blindprobe bezeichne ich diejenige in der Lösung vorhandene Kupfermenge, die bei einem gegebenen pH-Wert mit dem »unlöslichen« Kupferphosphat in

Gleichgewicht ist. Bei den verschiedenen zusammengesetzten Puffern ist dieser Zusammenhang nicht so einfach (beinahe linear), sondern kann, wie dies bei

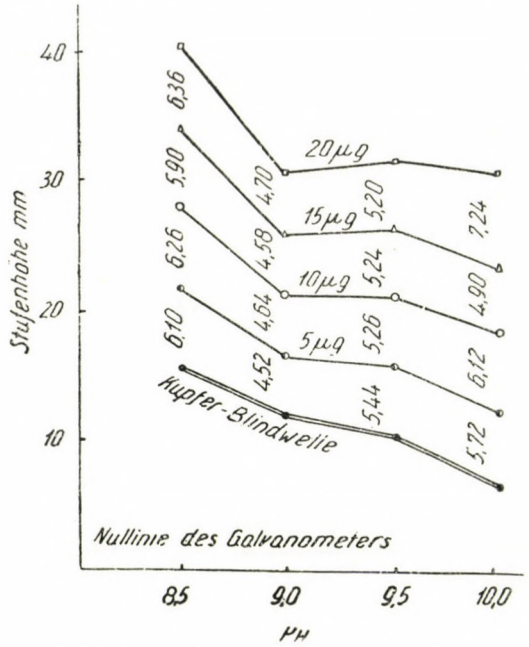


Abb. 1. Polarographische Stufen von Glykokoll bei 20° in Kupferphosphat-Zusatzelektrolyt von verschiedenem pH

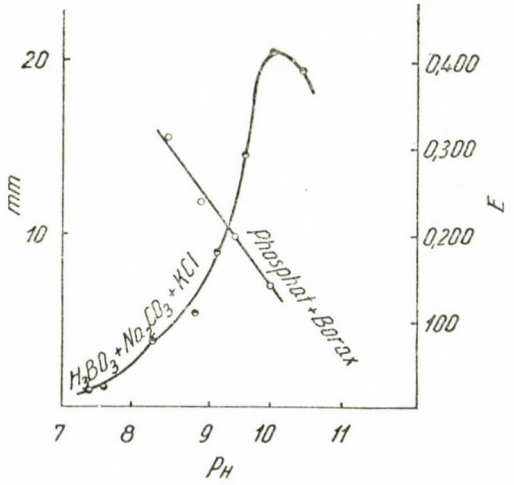


Abb. 2. Blindwerte in verschiedenen Puffergemischen

dem in der Abb. 2 dargestellten und in der Bestimmung des Aminostickstoffs allgemein benützten Atkins-Pantin Puffer zu sehen ist, viel komplizierter sein. In diesem Fall weist die Kurve bei pH 10,0 ein Maximum auf. Bezüglich der

Blindprobe ist noch zu erwähnen, dass deren unmittelbare Bestimmung mit dem Polarographen sehr ungenaue Werte liefert. Es ist darum zweckdienlich den Blindwert aus der Standardkurve durch deren Verlängerung bis zur Ordinate zu ermitteln.

Die chromatographisch getrennten Aminosäureflecke können zum Polarographieren in mehrfacher Weise eluiert werden und zwar 1. durch Diffusion in der Kälte (etwa 24 Stunden), 2. durch Extraktion in der Wärme (etwa 6 Stunden), 3. durch unmittelbaren Umsatz mit dem Zusatzelektrolyt. Bei dieser auch von uns angewandten Methode wird der Zusatzelektrolyt, der das Kupferphosphat suspendiert enthält, mit einer Pipette unmittelbar auf die zerkleiner-

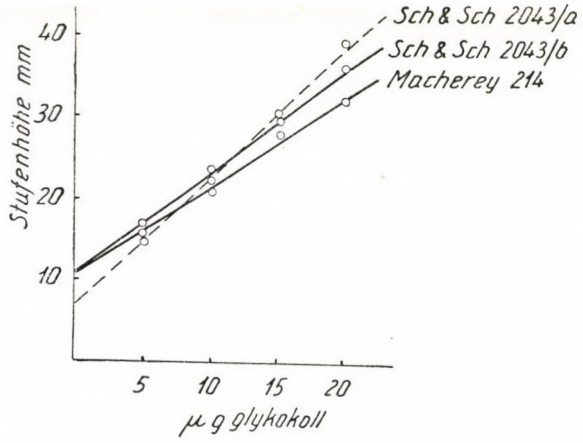


Abb. 3. Einfluss des Filterpapiers auf die Stufenhöhe

ten Papierstreifen gebracht. Nach mehrmaliger Umschüttelung ist die Komplexbildung in den Aminosäureflecken schon in einer halben Stunde vollständig beendet.

Bei all diesen Verfahren lösen sich aus dem Papier, auch im Falle des allgemein benützten Butanol-Essigsäure-Wasser-Gemisches, gewisse Substanzen heraus. Es wurde nachgewiesen, dass der Borax-Phosphatpuffer (pH = 9,5) in der Kälte bedeutende Mengen oberflächenaktiver Substanzen aus dem Papier herauslöst. Dass bei der Änderung der Stufenhöhe nicht mit einer Adsorption des Kupferaminosäurekomplexes zu rechnen ist, kann aus Abb. 3 und 4 festgestellt werden, da bei der Messung der Stufenhöhe des Glykokolls nach der Benützung von Papieren verschiedener Sorte und verschiedener Grösse ein linearer Zusammenhang beobachtet werden kann. Im Falle einer Adsorption wäre bei geringeren Mengen der Aminosäuren eine erheblichere Verminderung der Stufenhöhe zu beobachten. Bei der von uns benützten Papierchromatographie nach McFARREN, wo also das Papier in verschiedener Weise gepuffert ist, wird die Stufenhöhe noch einer weiteren Einwirkung des

Puffersystems ausgesetzt, da man nämlich die oberflächenaktiven Substanzen in variirender Menge erhält. Diese Wirkung wurde bei jeder Aminosäure nachgewiesen. i_d, d. h. die Höhe der polarographischen Stufe hängt also von der Menge, Beschaffenheit, vorangehenden Behandlung, letzten Endes von der Viscosität, bzw. von der Menge der vorhandenen oberflächenaktiven Sub-

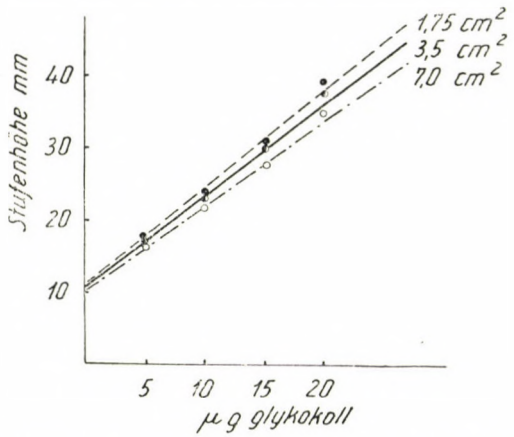


Abb. 4. Einfluss von Filterpapieren verschiedener Grösse (Sch. & Sch. 2043/b) auf die Stufenhöhe

stanzen ab. Natürlich muss dieses Phänomen nicht nur bei der polarographischen Bewertung von Papierchromatogrammen der Aminosäuren, sondern auch bei anderen Substanzen in Betracht gezogen werden.

Tabelle I

Papier	Gewicht von 1 m² Filterpapier g	Papierumfang cm²	Stufenhöhe von 20 μg Glykokoll bei 20° Empf.: 1/2 mm
Sch. & Sch. 2043/a	80	3,5	39,1
Sch. & Sch. 2043/b	120	3,5	36,1
Macherey-Nagel 214	150	3,5	32,4

In Tabelle I ist der Zusammenhang zwischen der Stufenhöhe des Glykokolls und dem Gewicht von einem m² Filterpapier vermerkt. Ausser den aus den Cellulosefasern sich auslösenden Substanzen übt auch der Puffer — wie schon früher erwähnt — eine unmittelbare Wirkung auf den Diffusionsstrom (i_d) aus. Im Laufe des Chromatographiervorganges wandern die Puffersubstanzen mit der Lösungsmittelfront und häufen sich in der Nähe dieser Front an. Der Einfluss dieser Erscheinung wurde in Versuchen mit gepufferten und unge-

pufferten Filterpapieren festgestellt. Abb. 5 zeigt Standardkurven des Glykokolls, die mit der Filterpapiersorte Schleicher und Schüll No. 2043/b aufgenommen wurden. Die Papierstreifen waren von gleichem Ausmass und in verschiedener Weise gepuffert. Aus Abb. 5 geht hervor, dass der Puffer mit einem pH-Wert von 8,4 kaum eine Wirkung ausübt, derjenige dagegen, dessen pH 12,0 beträgt — in Einklang mit Abb. 1 — bei der Verschiebung in höhere pH-Bereiche eine erhebliche Stufenverminderung aufweist.

Diese Gesetzmässigkeiten wurden ausser den schon von MARTIN und MITTELMANN polarographisch untersuchten neun Aminosäuren auch für Lysin, Histidin, Isoleucin, Methionin, Alanin, Serin, Tyrosin und Threonin

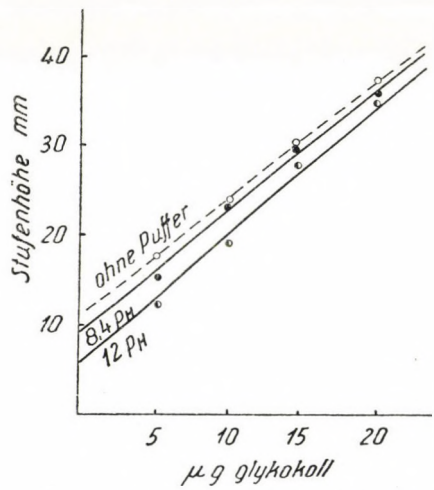


Abb. 5. Standardkurven von Glykokoll an verschieden gepufferten Filterpapieren (Sch. & Sch. 2043/b)

festgestellt. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde für Proteinhydrolysate folgende Methode ausgearbeitet: Es ist notwendig — um die zahlreichen chromatographischen Fehlerquellen auszuschalten — die Standard-Aminosäuren auf derselben Papiersorte laufen lassen. Zu diesem Zweck wurde das Aufbringen eines Standardproteinhydrolysats (Casein) neben das unbekannte Proteinhydrolysat eingeführt [15]. Aus dem Caseinhydrolysat werden 200, 300, bzw. 400 µg, aus dem unbekannten Hydrolysat 300—300 µg aufgebracht. Nach Laufen und Verdunsten des Lösungsmittels werden die zu polarographierenden Aminosäureflecke markiert, in demselben Umfang ausgeschnitten und der Reihe nach mit der Kupferphosphatsuspension behandelt. Die nach Zentrifugieren erhaltenen, klaren Lösungen wurden polarographisch bei konstanter Temperatur untersucht. Die Eichkurven für die einzelnen Aminosäuren wurden auf Grund der Stufenhöhen dieser Aminosäuren im bekannten Standardhydrolysat aufgestellt. Der Aminosäuregehalt des unbekannten Hydrolysats

ist dann von den Eichkurven abzulesen. Mit dieser Methode können die chromatographisch getrennten Aminosäuren in einer Grössenordnung von 20 μg mit einem Standardfehler von 1—2 μg bestimmt werden.

Einer grundsätzlichen Voraussetzung der Chromatographie gemäss müssen auf das Papier identische α-Aminostickstoffmengen aufgebracht werden. Um dies zu erreichen, wurde ebenfalls auf Grund der polarographischen Bestimmung der Aminosäurekupferkomplexe ein neues Verfahren ausgearbeitet [15], das die Bestimmung von 24 μg α-Aminostickstoff mit einem Standardfehler

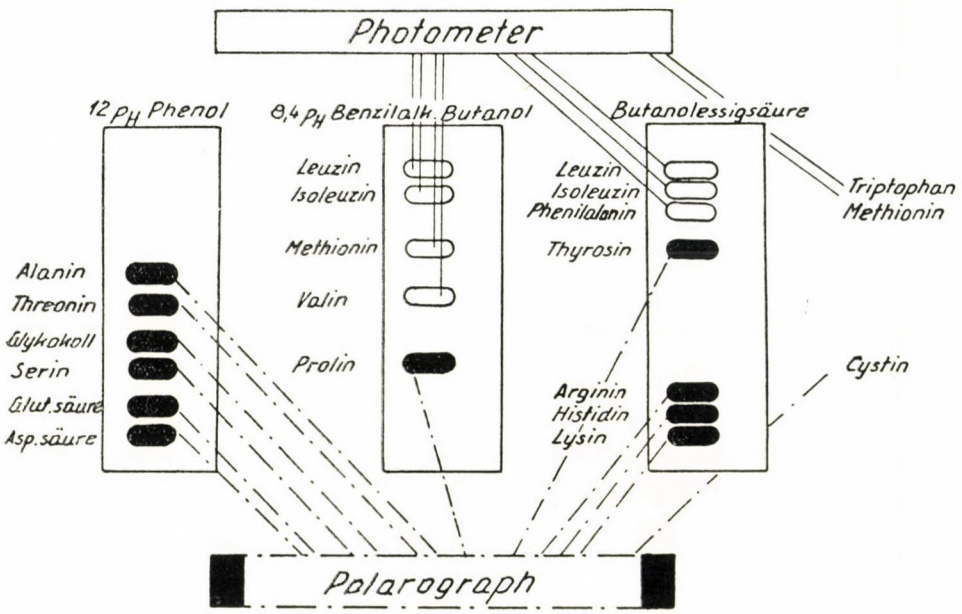


Abb. 6. Gang der Aminosäurebestimmung

von $\pm$0,67 μg α-Aminostickstoff erlaubt, wodurch das Aufbringen von Mikroquantitäten der Proteine ermöglicht wird.

Der Unvollkommenheit der chromatographischen Technik zufolge verbreiten sich die am weitesten laufenden Leucin, Isoleucin und Phenylalanin leider in einem so weiten Gebiet, dass man an ihre polarographische Bestimmung, wegen der unsicheren Markierung, nicht denken kann. Diese Bestimmungen müssen daher mit den viel ungenaueren photometrischen Verfahren durchgeführt werden. Nachdem die Hydrolyse in Verbindung mit Tryptophan schwierig ist, muss das Tryptophan unmittelbar auf chemischem Wege [16] und das Cystin nach der polarographischen Methode von BRDIČKA [17] bestimmt werden. Den Gang des von uns schon seit längerer Zeit angewandten Verfahrens, mit dem die Aminosäurezusammensetzung der Proteine systematisch bestimmt werden kann, zeigt das in Abb. 6 vorgeführte Schema. Daraus

ist ersichtlich, dass die drei Papierchromatogramme nach McFARREN die in Frage kommenden Aminosäuren trennen und dass die entsprechende Bestimmungsmethode bei den getrennten Aminosäuren anwendbar ist.

An der Biochemischen Abteilung unseres Instituts wurden in kurzer Zeit 18 Aminosäuren von etwa 25, für die Volksernährung wichtigen Nahrungsmittel-Proteinen pflanzlicher Herkunft bestimmt. Besonders wertvoll sind jene Ergebnisse, die wir bezüglich einiger Nahrungsmittel von bisher unbekannter Aminosäurezusammensetzung, wie z. B. Pilze und einiger Nahrungsmittel, deren Aminosäurezusammensetzung nur wenig bekannt war, wie z. B. Kartoffel, *Lupinus albus*, Bohnen, Erbsen, Linsen, usw. erhalten haben. Wertvoll sind noch ferner diejenigen Resultate, die darauf hinweisen, dass in der Aminosäurezusammensetzung der Proteine der einzelnen Sorten von Kartoffeln, bzw. Sojabohnen, *Lupinus albus*, Sonnenblume hinsichtlich der Volksernährung keine bedeutenden Differenzen bestehen.

Mit Hilfe der Chromatographie kann aus der polarographisch bestimmten Aminosäurezusammensetzung auf Grund der Formel von MITCHELL und BLOCK und VON OSER der zu erwartende biologische Wert berechnet werden. Unsere Resultate verglichen mit den in der Literatur befindlichen, auf biologischem Wege bestimmten Werten, stehen mit diesen in Einklang und beweisen, dass der Polarograph auf dem Gebiete der Biologie und Biochemie als ein genaues, viel Arbeit und Zeit ersparendes analytisches Gerät nützlich angewandt werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Aminosäuren eines Proteinhydrolysates werden papierchromatographisch getrennt und die so erhaltenen Aminosäuremengen polarographisch mittels ihrer Kupferkomplexe bestimmt. Es wurde eine Technik ausgearbeitet, mit der die charakteristischen Fehler der Papierchromatographie vermieden werden können. Die störende Wirkung der aus dem Papier ausgelösten oberflächenaktiven Stoffe und Puffersubstanzen kann durch Anwendung von unter gleichen Voraussetzungen behandelten natürlichen Aminosäuremischungen eines Standard-Eiweisses vermieden werden. Ausserdem wurde ein polarographisches α-Amino-Stickstoff-Mikroverfahren auf Grund der jodometrischen Methode nach POPE und STEVENS zur Bestimmung des gesamten α-Amino-Stickstoffgehaltes der Proteinhydrolysate entwickelt. Durch gleichzeitige Anwendung dieser beiden Methoden wird die systematische Bestimmung der Aminosäuren und dadurch die Beurteilung des biologischen Wertes der Proteine möglich.

LITERATUR

1. R. CONSDEN, A. H. GORDON und A. J. P. MARTIN: Biochem. J. **38**, 224 (1944).
2. J. HEYROVSKÝ: Polarographie. Theoretische Grundlagen, praktische Ausführung und Anwendung der Elektrolyse mit der tropfenden Quecksilberelektrode. (Springer Verlag, Wien) 1941.
3. A. J. P. MARTIN und R. MITTELMANN: Biochem. J. **43**, 353 (1948).
4. T. S. G. JONES: Biochem. J. **42**, LIX (1948).
5. Y. RUSCONI, D. MONNIER und P. E. WENGER: Helv. Chim. Acta **34**, 1943 (1951).
6. D. MONNIER und Y. RUSCONI: Helv. Chim. Acta **34**, 1297 (1951).
7. E. BESSO, D. MONNIER und P. E. WENGER: Anal. Chim. Acta (Amsterdam) **7**, 286 (1952).

8. D. R. Norton und N. H. Furman : Anal. Chem. **26**, 1116 (1954).
9. C. G. Pope und M. F. Stevens : Biochem. J. **33**, 1070 (1939).
10. A. J. Woiwod : Biochem. J. **42**, XXVII. (1948).
11. H. W. Spier und G. Pascher : Hoppe—Seyler's physiol. Chem. **296**, 147 (1954).
12. E. F. McFarren : Anal. Chem. **23**, 168 (1951).
13. S. Jaschik : Papierchromatographie. Mérnöki Továbbképző Intézet (Institut für Fortbildung der Ingenieure), No. 3128, 1955 (ungarisch).
14. H. Borsook und K. V. Thiemann : J. biol. Chemistry **98**, 671 (1932).
15. K. Lindner : Dissertation. Budapest, 1955.
16. J. R. Spies und D. C. Chambers : Anal. Chem. **20**, 30 (1948).
17. R. Brdička : Mikrochemie, **15**, 167 (1934).

DISKUSSION

Frau Dr. É. Magyar : Auch im Institut für Zuckerforschung wurden Versuche zur Bestimmung der Aminosäuren durchgeführt. Es wurde ein ähnliches Verfahren entwickelt. Ich reflektiere mit einigen Bemerkungen.

Der Vortragende erwähnte, dass in einigen Verfahren die Aminosäuren aus den Papierkromatogrammen durch warme Extraktion herausgelöst wurden. Das dauert 6 Stunden. Im Institut entwickelte ich ein Verfahren, nach welchem mittels eines kleinen Apparates die Auslösung binnen 15 Minuten beendigt werden kann, die Analyse also erheblich beschleunigt wird. Der Apparat ist sehr einfach. Meine zweite Bemerkung: durch schnelle und warme Extraktion wurde erreicht, dass der aus Papier herausgelöste Stoff gar nicht stört. In der Lösung ist keinesfalls eine Kupferstufe zu beobachten.

In Zusammenhang mit den diffusen Aminosäureflecken möchte ich erwähnen, dass bei Verwendung eines Macherey 62 Papiers und einer neuen Lösungsmittelmischung nicht einmal bei weitlaufenden Aminosäuren eine Flächenvergrösserung beobachtet wurde. Bei Verwendung eines Punktauftrags wurden nach der Trennung gleich grosse runde Flecke beobachtet. Bei Streifenauftrag wurde eine vollkommenere Trennung erreicht. Ich möchte schliesslich noch bemerken, dass bei der Melasseprüfung der Zuckerbetriebe ich den Vorteil hatte, mit einer Mischung von 8—10 Aminosäuren, gegenüber den 16—18 Säuren des Vortragenden zu arbeiten.

K. Lindner : Ich danke für die Bemerkung, besonders für die von der warmen Extraktion. Ich bemerke jedoch, dass das analytische Verfahren doch mit einer Extraktion kombiniert ist, wodurch die Arbeit verlängert und kompliziert wird. Wenn ich die Kupferphosphatlösung unmittelbar mit dem Aminosäuren-Papir reagieren lasse, so schalte ich die intermediäre Stufe aus. Bei der Störwirkung des Papiers wurde kein herausgelöstes Kupfer, sondern die maximumdämpfende Wirkung der oberflächenaktiven Stoffe beobachtet. Es taucht die Frage auf, bei welcher Konzentration die Störwirkung hervortritt. Bei höheren Aminosäure-Konzentrationen beobachtete ich keine, bei 1/2 Empfindlichkeit eines 10^{-9} Amp. Galvanometers dagegen eine starke Störung. Die chromatographischen Erfahrungen übernehmen wir mit Freude, besonders, wenn die polarographische Methode auch zur Bestimmung des Isoleucins, Leucins und Phenilalanins geeignet ist.

M. Baumann : Ich möchte fragen, warum Sie nur eine eindimensionale Chromatographie durchführten, obwohl mit dieser Methode mehr als 6—8 Aminosäuren quantitativ nicht zu bestimmen sind. Bei der Untersuchung der Hydrolyse der Muskeleiweisse werden in zweidimensionalen Chromatogrammen

15—18 Aminosäuren mengenmässig bestimmt. In einer Kammer werden 20 Chromatogramme entwickelt und bei einer guten Kondizionierung können die Aminosäuren mit Hilfe der Ninhydrin-Entwicklung mit mm-Genauigkeit bestimmt werden. Die Eluierung der herausgeschnittenen Flecke wird durch Durchströmung unternommen. Die polarographische Bestimmung scheint in der exakten Auswertung der Papierchromatogramme ein wichtiges Mittel zu sein.

K. LINDNER : Auch wir führten Versuche mit zweidimensioneller Chromatographie durch, der Literaturangaben nach sind aber in diesem Falle die Aminosäure-Verluste unbestimmter. Die genaue Bestimmung wird durch das Papier gleicher Qualität begünstigt, darum wurde die eindimensionelle Chromatographie bevorzugt. 200—400 μg Eiweiss wurde chromatographiert. Auf einem Papier wurden acht Stoffe in 3—4 cm breiten Streifen chromatographiert, während bei der zweidimensionalen Chromatographie wegen der Kreuzungen nur die Untersuchung eines Stoffes möglich ist.

POLAROGRAPHIC EVALUATION OF THE BIOLOGICAL VALUE OF PROTEINS

K. Lindner

(Institute of Food and Nutrition Science, Budapest)

Summary

The aminoacids of a protein hydrolysate are separated by paper chromatography and the quantities of aminoacids obtained this way are determined by polarography through their copper complexes. A procedure was evolved by which the characteristic errors of paper chromatography could reliably be eliminated. The interfering effect of the surface-active substances and buffer materials dissolved from the paper may be paralysed by applying mixtures of a standard protein with natural aminoacids pretreated under completely identical conditions. In addition to that, a polarographic micromethod was developed for the determination of the total content of α-amino-nitrogen in protein hydrolysates, on the basis of the iodometric method of Pope and Stevens. The simultaneous use of both methods makes possible the systematic determination of amino-acids and this way the evaluation of the biological value of protein as well.

Károly LINDNER Budapest, IX., Gyáli út 3.

POLAROGRAPHIE DER KOMPLEXVERBINDUNGEN UND IHRE ANALYTISCHEN ANWENDUNGEN

J. KORYTA

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Die Mehrzahl der polarographischen Arbeiten aus dem Gebiete der theoretischen anorganischen Probleme befasst sich mit den Komplexen und auch für die polarographische Analyse anorganischer Substanzen wird die Komplexbildung am häufigsten ausgenützt.

Durch Komplexbildung wird die Aktivität der Ionen erniedrigt und dadurch ihre Depolarisation erschwert, was sich in einer Verschiebung der Stufen ausdrückt. Dies werden wir an einem einfachen Beispiel erklären. In der Lösung stellt sich ein Gleichgewicht zwischen dem Metallion M^{n+} und dem in Überschuss anwesenden Komplexbildner X (von dessen Ladung wir absehen)

$$M^{n+} + pX \rightleftarrows MX_q^{n+}$$

so ein, dass das Metallion vorwiegend im Komplex gebunden wird. Wird nun das Metall reversibel als ein Metallamalgam abgeschieden, wird leicht die Gleichung für die Differenz der Halbstufenpotentiale des freien und des im Komplex gebundenen Ions

$$\Delta\pi_{1/2} = \frac{\mathrm{RT} \cdot 2{,}303}{\mathrm{nF}} \log \mathrm{K} + \frac{\mathrm{q\,RT} \cdot 2{,}303}{\mathrm{nF}} \log [\mathrm{X}]$$

auf Grund der NERNSTschen Formel und der ILKOVIČschen Gleichung abgeleitet, wo K die Komplexbildungskonstante

$$\mathrm{K} = \frac{[\mathrm{MX}_q^{n+}]}{[\mathrm{M}^{n+}] \cdot [\mathrm{X}]^q}$$

bezeichnet. R, T, n und F haben die übliche Bedeutung. Auf Grund der Abhängigkeit des Halbstufenpotentials von der Konzentration des Komplexbildners kann aus dieser Gleichung sowohl die Komplexbildungskonstante als auch die Anzahl der Liganden q bestimmt werden. Zu derselben Verschiebung des Halbstufenpotentials gelangt es bei der anodischen Oxydation des Amalgams in der den Komplexbildner enthaltenden Lösung [1, 2].

Falls der Komplexbildner in verschieden ionisierten Formen anwesend ist, kann auf eine einfache Weise auch die Abhängigkeit des Halbstufenpotentials

vom pH bestimmt werden, bzw. kann entschieden werden, welche Form des Komplexbildners Ligand ist.

Auf die Beziehung zwischen der Verschiebung der Stufe des Plumbations und der Konzentration der Hydroxylionen machte HEYROVSKÝ schon in einer der ersten polarographischen Arbeiten [3] aufmerksam (vgl. Abb. 1).

Es ist nicht sicher, ob die beschriebene Methode der Bestimmung der Komplexbildungskonstanten die Genauigkeit der potentiometrischen Methode erreicht, die auf der Bestimmung der Aktivität des Metallions mit Hilfe von Amalgam oder Metallelektroden beruht; die polarographische Methode ist jedoch experimentell viel einfacher.

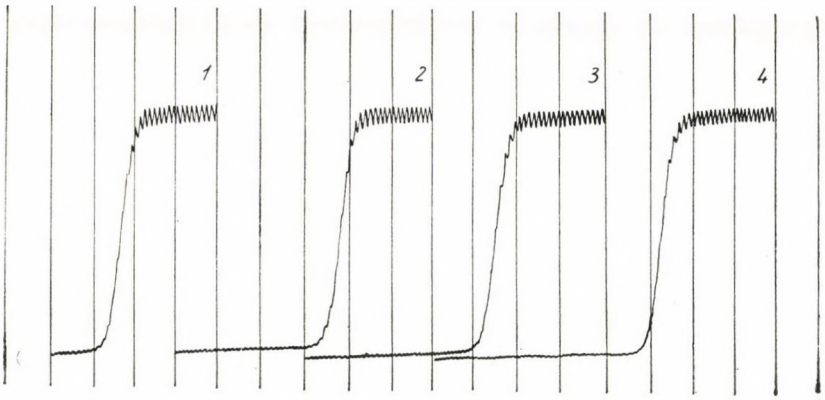


Abb. 1. Verschiebung des Halbstufenpotentials der Bleistufe bei wachsender Hydroxylionenkonzentration 1) neutral, 2) 0,01m NaOH, 3) 0,1m NaOH, 4) 1m NaOH, Gesamtkonzentration des Grundelektrolyten 1m.

Die Anlagerung von Liganden an das Zentralatom erfolgt schrittweise [4]. Durch Verallgemeinerung der beschriebenen Methode konnte ein Verfahren zur Bestimmung der konsekutiven Komplexbildungskonstanten

$$k_j = \frac{[MX_j^{n+}]}{[MX_{j-1}^{n+}]\,[X]}$$

ausgearbeitet werden [5].

Wenn es beim Elektrodenvorgang zur blossen Erniedrigung des Oxydationsgrades des im Komplex gebundenen Metallions gelangt, kann aus der Verschiebung des Halbstufenpotentials nur das Verhältnis der Komplexbildungskonstanten der oxydierten und der reduzierten Form und der Unterschied der Anzahl der Liganden in beiden Komplexen bestimmt werden [6].

Ein Sonderfall ist die Depolarisation durch Substanzen, die Komplexe mit Quecksilber bilden [1, 7], wobei anodische Stufen der Oxydation des Quecksilbers entstehen. Bei der Berechnung der Ausdrücke für die Form der Stufe und für das Halbstufenpotential muss die Diffusion des Komplexbildners zur Elektrode

und des Komplexes von der Elektrode in Betracht genommen werden. Auf diese Weise konnten die anodischen Stufen in Lösungen von Cyanid- und Rhodanidionen erklärt und die Komplexbildungskonstanten der Äthylendiamintetraessigsäure mit den Quecksilber(II)-Ionen bestimmt werden [8].

Nun wird die Frage über den eigentlichen Mechanismus der Depolarisation der Komplexe gestellt. Diese kann in einer solchen Weise stattfinden, dass bei einem gewissen Potential die geringfügige Konzentration der freien Metallionen durch direkte Abscheidung erniedrigt, und dadurch das Komplexgleichgewicht gestört wird, was eine zur Wiederherstellung dieses Gleichgewichtes gerichtete Reaktion, d.h. die Dissoziation des Komplexes zur Folge hat. Diese Reaktion

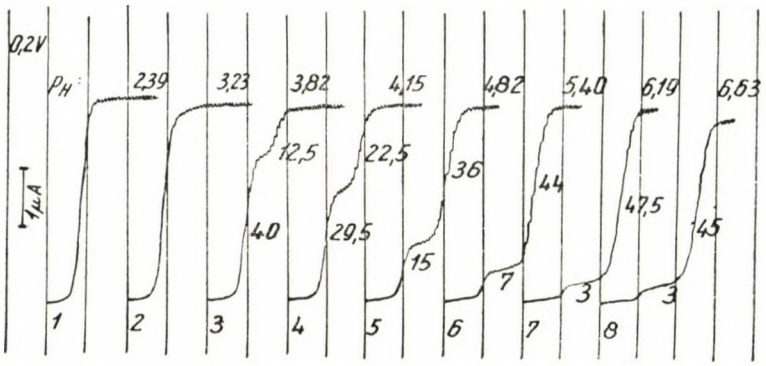


Abb. 2. Abscheidung von Cadmium aus der Lösung von $5 \cdot 10^{-4}$m Cd^{2+}, 10^{-3}m Nitrilotriessigsäure in Pufferlösungen nach BRITTON und ROBINSON. Kurve 1) pH = 2,39, 2) 3,23; 3) 3,82; 4) 4,15; 5) 4,82; 6) 5,40; 7) 6,19; 8) 6,63

verläuft so schnell, dass das Gleichgewicht praktisch wieder hergestellt und dass der Strom bloss durch Diffusion des Komplexes begrenzt wird. Eine zweite Möglichkeit besteht darin, dass die Dissoziationsgeschwindigkeit nicht hoch genug ist und dass auch das Komplexteilchen direkt reversibel reduziert wird.

Die Frage, gemäss welchem von diesen zwei Mechanismen die Reduktion der Komplexe wirklich verläuft, war schon zu Beginn dieses Jahrhundertes Gegenstand der Diskussion zwischen LE BLANC und HABER [9, 10]. HABER zeigte damals durch eine einfache Berechnung, dass bei der Reduktion stabiler Komplexe wie $[Ag(CN)_2]^-$ die Dissoziationsgeschwindigkeit unannehmbar hoch sein müsste.

Die polarographische Methode trug auch zur Klärung unserer Vorstellungen über den Mechanismus der Komplexreduktion bei. Es zeigt sich, dass auf den polarographischen Kurven von Lösungen von gewissen Komplexen (besonders mit SCHWARZENBACHschen Komplexonen) zwei Stufen erscheinen (Siehe Abb. 2). Von diesen zwei Stufen befindet sich die erste zwar annähernd beim Potential der hypothetischen reversiblen Reduktionsstufe, sie ist jedoch niedriger und von kinetischem Charakter. Die Summe der beiden Stufen ist ein Diffusions-

strom und entspricht der totalen Reduktion des Komplexes. Bei diesem Prozess findet wirklich eine direkte Reduktion des Komplexteilchens statt und zwar in irreversibler Weise, d. h. bei negativeren Potentialen als es der reversiblen Reduktion entsprechen würde. Durch Dissoziation des Komplexes, die mit einer begrenzten Geschwindigkeit verläuft, werden freie Metallionen gebildet, deren Reduktion der ersten Stufe zugehört [11]. Diese ist selbstverständlich höher als es der Gleichgewichtskonzentration freier Metallionen entsprechen würde und aus dem Wert des Grenzstromes kann die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante berechnet werden [12]. Bei Verwendung der strömenden Elektrode statt der Tropfelektrode kann der kinetische Beitrag zum Grenzstrom derart vermindert werden, dass aus den Stufenhöhen die Komplexbildungskonstante bestimmt wird [11].

Wird jedoch das Komplexteilchen reversibel reduziert, was der Fall bei Komplexen der Komplexone mit Thallium, Quecksilber und auch Kupfer ist, erhält man die kinetischen Stufen nicht, da sowohl die frei gewordenen, als auch die komplex gebundenen Ionen in einer und derselben Stufe reduziert werden, falls der Komplexbildner in Überschuss ist.

Zur Bestimmung der Zusammensetzung von Komplexen bei sehr hoher Komplexbildungskonstante ist die Methode der polarometrischen Titration geeignet.

Wenn die Komplexbildungskonstante sehr gross ist, kann sie doch polarographisch auf Grund des Austausches des Metallions im Komplex bestimmt werden [13]. Bildet das Metallion A ein Komplex von bekannter grosser Komplexbildungskonstante K_{AX}, so dass bei der äquivalenten Konzentration des Metallions und des Komplexbildners die Stufe des freien Metallions nicht beobachtet werden kann, wird die Komplexbildungskonstante K_{BX} eines anderen, bei negativeren Potentialen sich reduzierenden Metallions folgendermassen bestimmt. Man erwäge einfachheitshalber das Komplex, in dem das Metallion ein Komplexbildnerteilchen bindet, was der Fall bei zahlreichen Komplexen mit den Komplexonen ist. Die Stufenhöhe des Metallions in der Konzentration C_A in Abwesenheit des Komplexbildners ist $\bar{i}_0$. Wenn sich in der Lösung noch eine äquivalente Konzentration des Komplexbildners und noch eine bestimmte Konzentration des Metallions B C_B befindet, stellt sich ein Gleichgewicht ein, wobei ein Teil der Ionen A aus dem Komplex befreit wird und die Stufe $\bar{i}_A$ liefert. Beim Gleichgewicht ist

$$[X] = \frac{[AX]}{[A]\,K_{AX}} = \frac{[BX]}{[B]\,K_{BX}},$$

woraus für das Verhältnis der Komplexbildungskonstanten

$$\frac{K_{BX}}{K_{AX}} = \frac{[A]^2}{\{C_A - [A]\}\{C_B - [A]\}} = \frac{\bar{i}_A^2\, C_A}{(\bar{i}_0 - \bar{i}_A)\,(C_B\,\bar{i}_0 - C_A\,\bar{i}_A)}$$

hervorgeht (Siehe Abb. 3).

Mit Hilfe dieser Methode wurden die Komplexbildungskonstanten der Äthylendiamintetraessigsäure mit zahlreichen Metallionen bestimmt. In Abb. 4 ist die beachtenswerte Abhängigkeit der polarographisch und potentiometrisch bestimmten Komplexbildungskonstanten der Äthylendiamintetraessigsäure mit den Ionen der Seltenen Erden von der Ordnungszahl der Zentralatome [14] dargestellt.

Die polarographische Methode ist auch zur Erforschung der kinetischen Eigenschaften der Komplexe geeignet. Nebst den schon erwähnten schnellen Dissoziationsreaktionen, die bei der Störung des Gleichgewichtes durch den Elektrodenvorgang auf Grund des kinetischen Stromes untersucht werden, werden auch Geschwindigkeiten von langsameren, unabhängig von dem Elektroden-

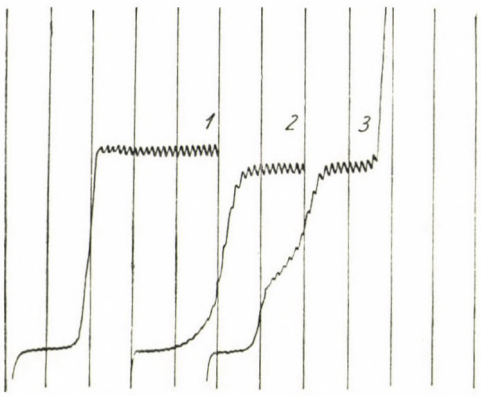


Abb. 3. Metallionenaustausch im Komplex
Kurve 1) 10^{-3}m Cu^{2+}, 2) 10^{-3}m Cu^{2+}, 10^{-3}m Äthylendiamintetraessigsäure, 3) 10^{-3}m Cu^{2+}, 10^{-3}m Äthylendiamintetraessigsäure, $4 \cdot 10^{-2}$m Cd^{2+}. Acetatpuffer pH = 3,7; 0,1m $NaNO_3$

vorgang verlaufenden Reaktionen auf Grund der zeitlichen Veränderung der Konzentration der an der Reaktion teilnehmenden Partikeln polarographisch gemessen.

So kann. z. B. die Austauschgeschwindigkeit eines Ions gegen ein anderes im Komplex gemessen werden [15]. Zur Lösung des Cadmiumkomplexes der Äthylendiamintetraessigsäure wurde die Lösung eines Kupfer(II)-Salzes zugefügt und die Zeitabhängigkeit der Stufe des freien Kupferions registriert. Durch Analyse dieser Abhängigkeit wurde die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion

$$Cu^{2+} + Cd\,Y^{2-} \rightleftarrows Cu\,Y^{2-} + Cd^{2+}$$

festgestellt.

Auch die Kinetik der Umwandlung des Komplexes $[CrCl_2(H_2O)_4]^+$ in $[CrCl(H_2O)_5]^{2+}$ kann polarographisch verfolgt werden [16], da beide Komplexe getrennte Stufen liefern, ebenso wie die Kinetik der Reaktion des Hexaquo-

chrom(III)-Ions mit dem Oxalation [17] und die Kinetik der Bildung und des Zerfalles verschiedener Iso- und Heteropolysäuren des Wolframs und Molybdäns [17].

Der Zusammenhang zwischen dem Charakter der Depolarisation und der Struktur und anderen Eigenschaften des Komplexes ist nicht einfach. Bei der Depolarisation spiegeln sich gleichzeitig die Elektronenstruktur des Komplexes, die Polarität und Festigkeit der Bindungen, die sterischen Eigenschaften, der

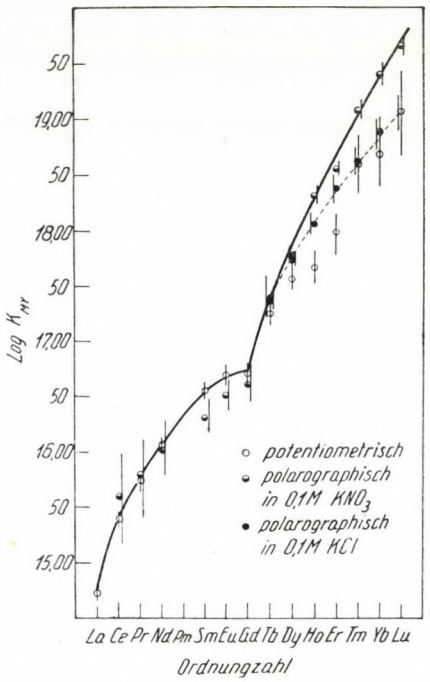


Abb. 4. Die Abhängigkeit der polarographisch und potentiometrisch bestimmten Bildungskonstanten der Komplexe der Äthylendiamintetraessigsäure mit den Seltenen Erden von der Ordnungszahl der Zentralatome [14]

elektrostatische Einfluss der Ladung des Komplexes usw. ab, so dass bisher grundlegende Regeln, die für eine Reihe von Verbindungen gelten würden, kaum abgeleitet werden konnten.

Die Depolarisationen, bei denen das Metall nicht aus dem Komplex abgeschieden wird, sondern nur der Oxydationsgrad des im Komplex gebundenen Metallions geändert wird, sind nur dann reversibel, wenn es sich um eine einelektronige Veränderung handelt. Die Reversibilität ist besonders für diejenigen Komplexe charakteristisch, wo die oxydierte und die reduzierte Form dieselbe Zusammensetzung besitzen und beide Durchdringungskomplexe sind (Elektronenkonfiguration $d^2\,sp^3$. wie z. B. Ferrocyanid-Ferricyanid [19], bis-Cyc-

lopentadienyleisen(II)-, -- bis-Cyclopentadienyleisen(III)-Ion [20], $[Cr(CN)_6]^{4-}$ — — $[Cr(CN)_6]^{3-}$ [21], usw.

Die Abscheidung ist reversibel ausschliesslich bei Metallen, die Amalgame bilden, u. zw. regelmässig beim Thallium, Blei, Cadmium, Kupfer, selbstverständlich auch beim Quecksilber, weniger oft beim Zink, Indium, Wismut und Zinn. Das reversible Verhalten wird durch Komplexbildung mit Halogenionen unterstützt (Cd, In, Bi, Sn). Im Bereiche von polarographisch erreichbaren Potentialen gelangt es nicht zur Abscheidung aus Durchdringungskomplexen des Eisens wie z. B. Eisen(II)cyanid [22], bis-Cyclopentadienyleisen [20] usw. Bei der Reduktion des Nitroprussidions handelt es sich um die zweistufige Reduktion des Liganden NO^+, das Zentralatom Fe(II) wird nicht reduziert [23, 24].

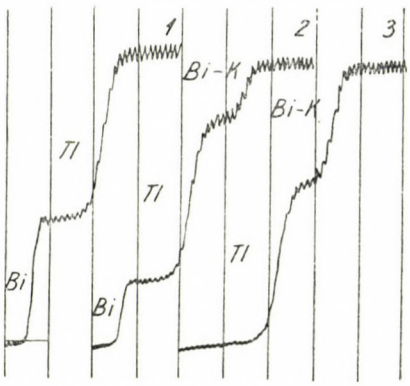


Abb. 5. Vertauschung der gegenseitigen Lage der Thallium- und Wismutstufe. Kurve 1) $3{,}3 \cdot 10^{-3}$m Bi^{3+}, 10^{3+} Tl^+ ; 2) + $1{,}67 \cdot 10^{-4}$m Diaminocyclohexantetraessigsäure, 3) + $3{,}3 \cdot 10^{-4}$m Diaminocyclohexantetraessigsäure. Acetatpuffer pH = 4,6 ; 200 mV/Absz.

Werden im Hexamminkobalt(III)-Ion die Ammoniakmolekeln nacheinander durch höchstens drei Nitrogruppen ersetzt, verschiebt sich das Halbstufenpotential zu positiven Werten. Wenn der Komplex zwei Nitro- oder andere negative und vier Amino- oder andere neutrale Gruppen enthält, ist das Halbstufenpotential der cis-Form positiver als dasjenige der trans-Form. Die asymmetrische cis-Struktur ist deformierbarer als die symmetrische trans-Struktur ; sie ist auch thermodynamisch beständiger [25].

Falls bei einem Chelatkomplex ein zusätzlicher Chelatring gebildet wird, verschiebt sich das Halbstufenpotential zu negativeren Werten [26], wie aus der Tabelle I ersichtlich ist.

Bei den analytischen Anwendungen wird in der ersten Reihe von den Verschiebungen der Halbstufenpotentiale Gebrauch gemacht. Dadurch können zusammenfallende Stufen getrennt und sogar die gegenseitige Lage von Halbstufenpotentialen vertauscht werden. Auf Abb. 5 wird der letztgenannte Fall am Beispiel von Thallium und Wismut in der Lösung der 1, 2-Diaminocylohexante-

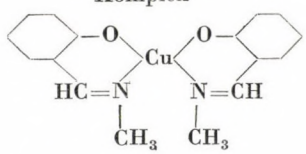
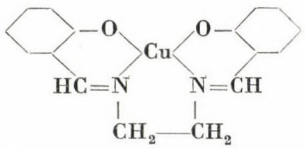
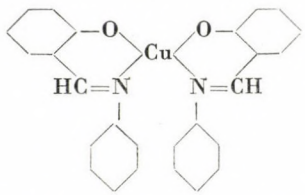
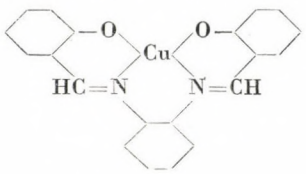
traessigsäure demonstriert. Auf diese Weise werden auch zahlreiche Kationen maskiert, da die entsprechenden Komplexe im Bereiche der polarographisch erreichbaren Potentiale nicht reduzierbar sind, wie z. B. die Cyanidkomplexe von Zink und Kupfer.

Durch die Komplexbildung werden sonst unbeständige Wertigkeitsstufen stabilisiert und dadurch die Bestimmung der entsprechenden Metalle ermöglicht. Als Beispiel dazu dient der Mangan(III)-Komplex mit Triäthanolamin [27].

Falls der Komplexbildner selbst Depolarisator (am meisten anodischer) ist, nimmt seine Stufe durch Komplexbildung ab, was auch zu analytischen Zwecken verwendet werden kann.

Die Bildung von stabilen Komplexen wird durch Abnahme der Stufe der freien Metallionen begleitet. Diese Tatsache wird zu polarometrischen Titrationen benützt.

Tab. I

Komplex	$\pi_{1/2}$(v. ges. Kal. El.)
	+ 0,02 V
	— 0,75 V
	— 0,12 V
	— 0,76 V

Es können auch Bestimmungen auf Grund des Austausches eines Ions gegen ein anderes im Komplex durchgeführt werden. Als Beispiel sei die indirekte Bestimmung von Calcium angeführt. Calcium bildet einen schwächeren Komplex mit der Äthylendiamintetraessigsäure als Zink. In einer ammoniakalischen Lösung stellt sich jedoch das Gleichgewicht zwischen den Calcium- und Zink-

ionen und dem Komplexon so ein, dass eine der Calciumkonzentration äquivalente Menge von Zinkionen aus dem Komplex verdrängt wird. Die Ursache dieser Erscheinung besteht darin, dass die frei gewordenen Zinkionen in dem $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ Komplex wieder gebunden werden. Die Stufe dieses Komplexes gibt die Konzentration der Calciumionen an [28].

In manchen Fällen liefern die Komplexionen besser messbare Stufen als die freien Metallionen. Die Komplexbildung erhöht dadurch die Genauigkeit der Bestimmung.

ZUSAMMENFASSUNG

Zuerst wird der Einfluss der Komplexbildung im Falle der reversiblen Depolarisation beschrieben. Die Frage des eigentlichen Mechanismus der Depolarisation durch Komplexe wird diskutiert. Die Methoden der Bestimmung der Stabilitäts- und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstanten der Komplexe werden beschrieben und die Möglichkeiten verschiedener kinetischer Messungen erörtert. Die Einflüsse der Konstitution auf die Depolarisation werden behandelt. Verschiedene Anwendungen in der analytischen Chemie werden beschrieben.

LITERATUR

1. J. Heyrovský und D. Ilkovič: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **7**, 198 (1935).
2. M. v. Stackelberg und H. v. Freyhold: Z. Elektrochem. angew. physic. Chem. **46**, 120 (1940).
3. J. Heyrovský: Trans. Faraday Soc. **19**, 692 (1924).
4. J. Bjerrum: Chem. Reviews **45**, 381 (1950).
5. D. D. De Ford und D. N. Hume: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 5321 (1951).
6. M. Kalousek: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **11**, 593 (1939).
7. I. M. Kolthoff und C. S. Miller: J. Amer. Chem. Soc. **63**, 1405 (1941).
8. B. Matyska und I. Kössler: Chem. Listy **45**, 254 (1951); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **16**, 221 (1951).
9. M. Le Blanc: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **9**, 636 (1903).
10. F. Haber: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **10**, 433 (1904).
11. J. Koryta und I. Kössler: Experientia **7**, 136 (1950); Chem. Listy **44**, 128 (1950); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 241 (1950).
12. J. Koryta: Proc. I. Internat. Polarogr. Congress Prague **1951**, I. S. 798.
13. G. Schwarzenbach, R. Gut und G. Anderegg: Helv. Chim. Acta **37**, 937 (1954).
14. E. J. Wheelright, F. H. Spedding und G. Schwarzenbach: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 4196 (1953).
15. H. Ackermann und G. Schwarzenbach: Helv. Chim. Acta **35**, 485 (1952).
16. R. E. Hamm und C. M. Shull Jr.: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 1240 (1951).
17. R. E. Hamm und R. E. Davis: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 3085 (1953).
18. P. Souchay: Proc. I. Internat. Polarogr. Congress Prague **1951**, I. S. 327.
19. P. Zuman: Chem. Listy **47**, 1523 (1953); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 602 (1954).
20. G. Wilkinson, M. Rosenblum, M. C. Whiting und R. B. Woodward: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 2125 (1952).
21. D. N. Hume und I. M. Kolthoff: J. Amer. Chem. Soc. **71**, 867 (1949).
22. E. B. Sanigar: Recueil Trav. chim. Pays-Bas **44**, 549 (1925).
23. I. M. Kolthoff und P. E. Toren: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 1197 (1953).
24. P. Zuman und M. Kabát: Chem. Listy **48**, 368 (1954); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 873 (1954).
25. H. F. Holtzclaw Jr.: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 1821 (1951); H. F. Holtzclaw Jr. und D. P. Sheetz: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 3055 (1953).
26. M. Calvin und R. H. Bailes: J. Amer. Chem. Soc. **68**, 949 (1946).

27. R. PŘIBIL, Z. ROUBAL und E. SVÁTEK: Chem. Listy **46**, 396 (1952); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 43 (1953).
28. H. WOLFSON: Nature (London) **153**, 375 (1944).
29. R. PŘIBIL und E. VICENOVÁ: Chem. Listy **46**, 535 (1952); Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 308 (1953).

DISKUSSION

J. PROSZT: Aus diesem sehr wertvollen und interessanten Vortrag ging nun klar hervor, wie weit die polarographische Methode in der Komplexchemie den übrigen physikalisch-chemischen Methoden überlegen ist. In der Komplexchemie wurden am Anfang, in der Zeit von WERNER, zu den Strukturbestimmungen ähnlich der organischen Chemie, überwiegend präparative Untersuchungen angewendet. Es ist aber bekannt, dass sich bereits WERNER sehr oft auch physikalisch-chemischer Methoden bediente und dass seine Mitarbeiter in dieser Richtung noch weiter gingen. Manche physikalisch-chemische Methoden, wie z. B. Leitfähigkeit-Messungen und gewisse optische Methoden sind aber meistens nicht spezifisch, und sind auch heute noch durch präparative Methoden zu unterstützen, um Beweise über eine Struktur zu erhalten. Ich sehe die Bedeutung der polarographischen Methoden in der Komplexchemie eben darin, dass sie spezifisch sind und in Strukturfragen selbst allein verwendet eindeutige Ergebnisse liefern können.

M. VAJDA: Ich habe eine Frage. Bei meiner Arbeit mussten die Stabilitäten von Cobalt- und Kupfer-Oxychinolinkomplexen bestimmt werden. Die Untersuchung der Komplexstabilität des Kupfers war leicht durchzuführen, aber im Falle von Cobalt, das kein Amalgam bildet, war die Bestimmung unmittelbar viel schwerer. Ist im Falle von Cobalt das von Dr. KORYTA bei den Cadmium- und Kupferkomplexen der Äthylendiamintetraessigsäure erwähnte Verdrängungsverfahren nicht anzuwenden? Kann diese Methode zur Untersuchung der Cobalt(III)-Komplexe benützt werden?

J. KORYTA: Ich denke, es besteht diese Möglichkeit. Diese Komplexe sind sehr stabil, und kein Überschuss des Komplexbildners ist zur Herstellung des Komplexes nötig. Diese Austauschreaktion ist also gewiss möglich, man muss aber bedenken, dass sie z. B. bei Cobalt, Chrom bzw. Nickel sehr langsam ist. Oft muss man wochenlang warten. Eine Temperaturerhöhung beschleunigt selbstverständlich die Reaktionen. SCHWARZENBACH und ACKERMANN untersuchten alle Metallkomplexe, wobei im Falle des Nickels und Chroms sehr lange Wartezeiten benötigt wurden. Unabhängig davon glaube ich, dass diese Möglichkeit besteht.

P. ZUMAN: Ich möchte bemerken, dass Thorium schon indirekt und zwar nicht nur über Komplexe, sondern mit Hilfe der Nitratstufe bestimmt wurde. Es wurde hier benützt, dass Nitrat in Anwesenheit von Thorium, dessen Stufe nur bei sehr negativen Potentialen zu beobachten ist, bei viel positiveren Potentialen auftritt und so also polarometrisch titriert werden kann.

J. MAŠEK: Dr. KORYTA sagte in seinem Vortrag, dass bei der Abscheidung der Komplexe zwei Mechanismen, zwei Hypothesen bestehen. Einerseits wird die Gleichgewichtsmenge der freien Metallpartikel reduziert, wodurch das Gleichgewicht verschoben wird. Diese Reaktion spielt sich schnell ab. Andererseits sollen die Komplexpartikel reduziert werden. Dauernd wird diskutiert, ob der eine oder der andere Mechanismus vor sich geht. Ich möchte fragen,

welchen Schwierigkeiten man bei der Beurteilung der einen oder anderen Methode begegnet. Ich denke nämlich, dass polarographisch in dieser Frage leicht zu entscheiden ist. Die freien Partikelchen werden bei anderen Potentialen reduziert, wenn sie auch in ganz kleiner Gleichgewichtsmenge zugegen sind.

J. KORYTA: Die Sache verhält sich folgendermassen. Im Falle von grossen Dissoziationsgeschwindigkeiten, oder wenn die Komplexteilchen direkt reversibel reduziert werden, sind die freien oder in Komplex gebundenen Ionen nicht zu unterscheiden. Die Polarographie kann jedoch viel zur Frage beitragen, wenn es sich um die direkte irreversible Reduktion der Komplexpartikelchen handelt.

THE POLAROGRAPHY OF COMPLEX COMPOUNDS AND ITS ANALYTICAL APPLICATIONS

J. Koryta

(Polarographic Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

As an introduction, the effect of complex formation in the case of a reversible depolarisation is described. Then the problem of the actual mechanism of depolarisation by complexes is discussed. The methods for the determination of the constants of stability and of the constants of the rate of dissociation of complexes are treated and the possibilities of various kinetic measurements described. Subsequently, the effects of constitution on depolarisation are discussed. Finally, various fields of application in analytical chemistry are indicated.

Dr. Jiři KORYTA, Praha II. Opletalova 25.

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG VON ORGANISCHEN METALLKOMPLEXEN DES CHINALIZARINS

E. Bodor

(Institut für allgemeine und anorganische Chemie der Universität für chemische Industrie, Veszprém)

Auf die analytische Verwendung des Chinalizarins wiesen zuerst Hahn, Wolf und Jäger hin [1], die es zum Nachweis von Magnesium angewandt haben. Dies folgend arbeiteten mehrere Autoren —teils auf Grund direkt komplexbildender Reaktionen, teils auf indirektem Wege — mittels des Chinalizarins Analysenverfahren zum Nachweis und zur Bestimmung zahlreicher anderer Ionen aus [2]. So wurde diese Verbindung zum Nachweis, bzw. bei der Bestimmung von Al, Be, B, Ca, Ce, F, Ga, Ge, Hf, In, La, Mg, Nd, P, Pr, Sc, Th, Tl, Sn und Zr verwendet.

Obwohl direkte Angaben in Bezug auf das polarographische Verhalten des Chinalizarins nicht zur Verfügung standen, war es doch zu erwarten, dass es anderen Antrachinonderivaten ähnlich [3] eine Reduktionsstufe liefert. Chinalizarin ist in Wasser fast unlöslich, deswegen wurden bei den bisher beschriebenen analytischen Methoden hauptsächlich braunfarbige Lösungen in Alkohol gebraucht. In einer Natriumhydroxyd-Lösung ist es aber leicht löslich und so ist eine violettblaue Lösung zu erhalten.

Bei den mit einem Polarograph von Heyrovský Typ. V 301 in einem Elektrolysiergefäss von Kalousek, versehen mit einer gesättigten Kalomel-Beziehungselektrode, durchgeführten Untersuchungen wurden Lösungen von Chinalizarin in 0,01m Natriumhydroxyd angewandt. Die Proben wurden durch Stickstoffdurchleiten entlüftet. Die alkalische Chinalizarinlösung ist an der Luft nicht beständig ; sie zersetzt sich bei Stehen unter Entfärbung, deshalb musste täglich frisches Reagens hergestellt werden. Bei sauerstofffreiem Lagern trifft keine Zersetzung ein und die so aufbewahrte Lösung zeigt wochenlang den der frisch hergestellten Lösung gleichen Diffusionsstrom.

Da das Chinalizarin sich schon in schwach sauren Lösungen ausscheidet, kann es nur in Lösungen von einem pH-Wert grösser als 5,5 polarographisch reduziert werden. Die Stufe erscheint in einem Acetatpuffer von pH 5,6 bezüglich der gesättigten Kalomelelektrode bei —0,6 V, in einer 0,1 m Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid-Lösung bei —0,75 V und in einer 0,1m Natriumhydroxyd-Lösung bei —0,9 V. Die Stufe wird durch Diffusionsstrom verursacht, da sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Stromstärke und der Quadratwurzel der

Höhe des Quecksilbergefässes ergab. Die Stromstärke verändert sich im Konzentrationsbereich 10^{-3}—10^{-5}m von der Chinalizarinkonzentration abhängig gleicherweise linear. Bei der pH-Veränderung der alkalischen Lösung, bzw. bei der Konzentrationsveränderung des Grundelektrolytes bleibt die Diffusionsstromstärke praktisch unverändert. In Pufferlösungen, die Borat- oder Phosphationen enthalten, konnte mit Chinalizarin kein auswertbares Polarogramm erhalten werden.

KOLTHOFF [4] und HAHN [5] arbeiteten je eine Methode zum Nachweis, bzw. zur Bestimmung von Aluminium mit Chinalizarin-Reagens aus. Bei dem

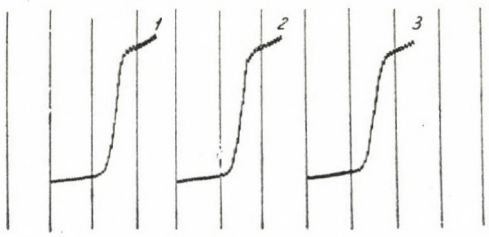


Abb. 1. Die Kurven sind von —0,6 V aufgenommen. Grundlösung 0,1m NaOH. Empf.: 1/50. Konzentration des Chinalizarins 10^{-3}m. Konzentration des Al^{3+}: 1) 0; 2) 10^{-4}m; 3) 10^{-3}m

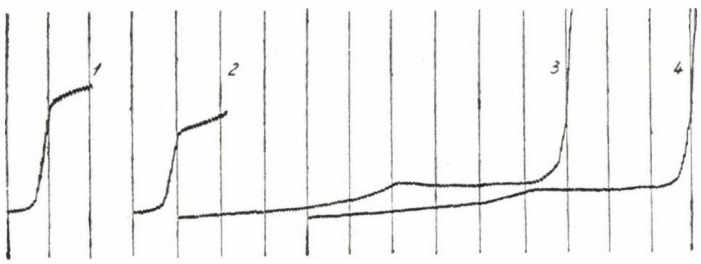


Abb. 2. Die Kurven sind von —0,6 V aufgenommen. Grundlösung 0,1m NH_3-NH_4Cl. Empf.: 1/50. Konzentration des Chinalizarins 10^{-3}m. Konzentration des Al^{3+}: 1) 0; 2) 10^{-4}m; 3) $5 \cdot 10^{-4}$m; 4) 10^{-3}m

von KOLTHOFF beschriebenen Verfahren gibt die Aluminium(III)-Lösung, deren pH durch einen Essigsäure-Ammoniumhydroxyd-Puffer auf 5,4—5,8 eingestellt wurde, mit der alkoholischen Lösung des Chinalizarins einen violettfarbigen Lack, der sich in alkalischem Medium zersetzt. Meiner Erfahrung nach ändert sich die Stufe des Chinalizarins in stark alkalischem Medium, in einer Grundlösung von 0,1m Natriumhydroxyd nach Zugabe von einer Aluminiumsulfat-Lösung nicht; das Halbstufenpotential und die Diffusionsstromstärke bleiben gleichmässig unverändert (Abb. 1). In einem schwach alkalischen Medium, in einer Grundlösung von 0,1m Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid wird aber die Stufe des Chinalizarins durch Aluminiumionen vermindert, bzw. die Chinalizarinstufe verschwindet in der Nähe der gleichen Aluminium-Chinalizarin-Kon-

zentration (Abb. 2). Demgemäss vermag das Reagens in einem stark alkalischen Medium den Hydroxokomplex des Aluminiums nicht zersetzen, in dem weniger alkalischen Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid reagiert aber das Chinalizarin und es bildet sich eine an der tropfenden Quecksilberelektrode nicht reduzierbare Komplexverbindung. Ähnlicherweise wird die Stufe des Chinalizarins auch in neutraler Natriumacetat-Grundlösung bei pH 7,5 durch Aluminium vermindert.

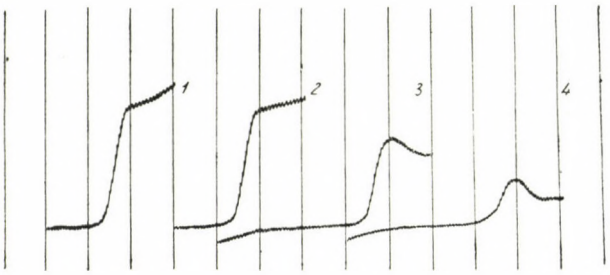


Abb. 3. Die Kurven sind von —0,6 V aufgenommen. Grundlösung 0,1m NH_3-NH_4Cl. Empf. 1/50. Konzentration des Chinalizarins 10^{-3}m. Konzentration des Cd^{2+}: 1) 0; 2) 10^{-4}m; 3) $5 \cdot 10^{-4}$m; 4) 10^{-3}m

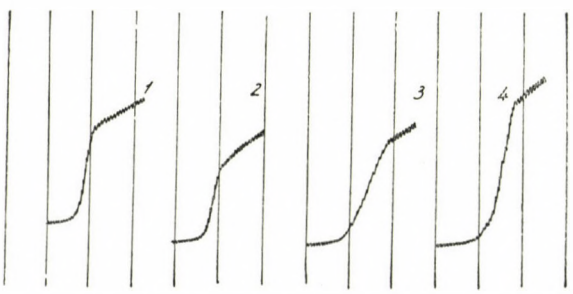


Abb. 4. Die Kurven sind von —0,6 V aufgenommen. Grundlösung 0,1m NH_3-NH_4Cl. Empf.: 1/50. Konzentration des Chinalizarins 10^{-3}m. Konzentration des Ni^{2+}: 1) 0; 2) 10^{-4}m; 3) $5 \cdot 10^{-4}$m; 4) 10^{-3}m

Welcher's zusammenfassendes Handbuch [2] beschäftigt sich nicht mit der Komplexbildung zwischen Chinalizarin und Cadmiumionen. Die polarographischen Untersuchungen rechtfertigten, dass diese in alkalischem Medium (NaOH) miteinander reagieren, da die Cadmiumionen den Diffusionsstrom des Chinalizarins vermindern (Abb. 3). Gleicherweise vermindert sich diese Stufe auch in einer Grundlösung von Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid bei Gegenwart von Cadmiumsulfat, bei —0,8 V erscheint aber gleichzeitig auch die Reduktionsstufe des Metallions. Die beiden Stufen verschmelzen in einer Grundlösung von Natriumacetat bei —0,65 V und die Diffusionsstromstärke ändert sich mit der Summe der Chinalizarin- und Metallionenkonzentration linear.

Man kann also mit Cadmiumionen nur in alkalischem pH Bereich polarographisch unreduzierbare Komplexe durch das Reagens erhalten.

Bei Gegenwart von Nickel(II)-Ionen wird das Halbstufenpotential des Chinalizarins negativer (Abb. 4). Wenn man in einer Grundlösung von Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid bei unveränderter Chinalizarinkonzentration das Konzentrationsverhältnis des Chinalizarin-Nickelsulfats stufenweise auf 1 : 1 erhöht, verschiebt sich das Halbstufenpotential von —0,75 V nach — 0,9 V.

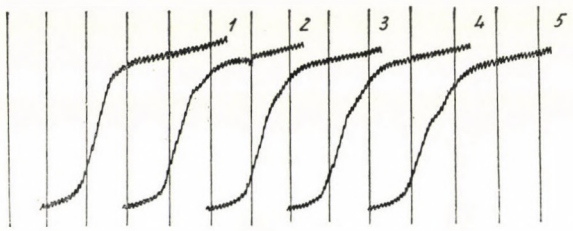


Abb. 5. Die Kurven sind von — 0,6 V aufgenommen. Grundlösung 0,1m NH_3. Empf.: 1/7. Konzentration des Chinalizarins $5 \cdot 10^{-5}$m. Konzentration des Ca^{2+}: 1) 0; 2) $2 \cdot 10^{-5}$ m; 3) $4 \cdot 10^{-5}$m; 4) $6 \cdot 10^{-5}$m; 5) $8 \cdot 10^{-5}$m

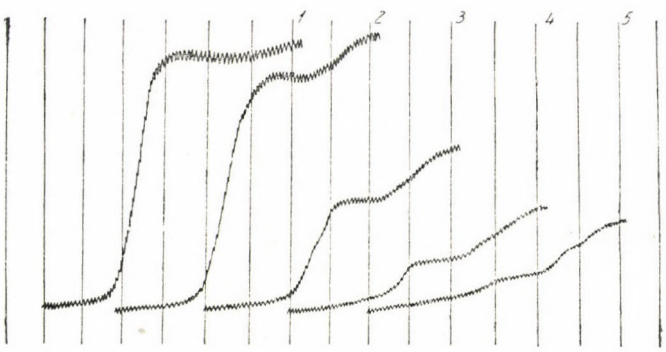


Abb. 6. Die Kurven sind von —0,4 V aufgenommen. Grundlösung 10^{-2}m NaOH. Empf.: 1/15. Konzentration des Chinalizarins 10^{-4}m. Konzentration des Zn^{2+}: 1) 0; 2) 10^{-4}m; 3) $5 \cdot 10^{-4}$m; 4) 10^{-3}m; 5) $2 \cdot 10^{-3}$m

Es ändert sich damit gleichzeitig auch die Diffusionsstromstärke. Das vierte Polarogramm ergibt sich an Abb. 4 durch das Verschmelzen der Stufe des Chinalizarins mit der des Nickels derart, dass der Nickeltetrammin-Komplex sich auf die Einwirkung des Chinalizarins in das polarographisch leicht reduzierbare Nickelchinalizarinat umwandelt.

Fügt man in einer Grundlösung von 0,1m Ammoniak dem Chinalizarin in steigender Konzentration Calciumchlorid zu, so gliedert sich die Chinalizarinstufe in zwei, bzw. es entsteht bei einem etwa 0,05 V negativeren Potential eine weitere Stufe, die sich mit der Zunahme der Calciumionenkonzentration proportional verändert (Abb. 5). Die gemeinsame Diffusionsstromstärke der

Doppelwelle bleibt aber unverändert. Demgemäss ist das Calciumchinalizarinat in einer schwach alkalischen Grundlösung von 0,1m Ammoniak polarographisch reduzierbar. In einer stark alkalischen Grundlösung von 0,1m Natriumhydroxyd wird dagegen die Stufenhöhe des Chinalizarins durch die Zunahme der Calciummenge vermindert, man kann also unter solchen Umständen den gebildeten Komplex nicht mehr reduzieren.

Ähnlicherweise zeigen die polarographischen Untersuchungen eine Komplexbildung zwischen Chinalizarin und Zink(II)-Ionen (Abb. 6). Fügt man in einer Grundlösung von Natriumhydroxid der Chinalizarinlösung in steigender Konzentration stufenweise Zinksulfat zu, so vermindert sich die Diffusionsstromstärke und auch das Halbstufenpotential wird verschoben, aber es erscheint keine Zink(II)-Stufe.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Chinalizarin (1, 2, 5, 8-Tetrahydroxy-antrachinon) ist in Grundlösungen von einem pH-Wert grösser als 5,5 polarographisch reduzierbar. Das Halbstufenpotential dieses befindet sich in einem Acetatpuffer von pH 5,6 bei —0,6 V, in 0,1m Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid bei —0,75 V und in 0,1m Natriumhydroxyd bei —0,9 V bezüglich der gesättigten Kalomelelektrode.

In einem stark alkalischen Medium üben die Aluminium(III)-Ionen auf die Chinalizarinstufe keine Wirkung, demgegenüber vermindern Calcium- und Zinkionen die Diffusionsstromstärke proportional der Metallionenkonzentration. Gleicherweise wird die Stufenhöhe in einer Grundlösung von Ammoniumhydroxyd-Ammoniumchlorid durch Aluminiumionen vermindert.

LITERATUR

1. F. L. Hahn, H. Wolf und G. Jäger: Ber. **57 B**, 1394 (1924).
2. F. J. Welcher: Organic Analytical Reagents (D. Van Nostrand Co. Inc. New York) 1947, Vol. IV. p. 455.
3. N. H. Furman und K. G. Stone: J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3055 (1948).
4. I. M. Kolthoff: Chem. Weekblad, **24**, 447 (1927).
5. F. L. Hahn: Mikrochemie **5**, 33 (1932).

DISKUSSION

P. Zuman: Ich habe zwei Bemerkungen: an dem Beispiel des Chinalizarins ist zu sehen, wie schwer die Wahl des entsprechenden Puffers in der polarographischen Arbeit sei. Kollege Bodor erwähnte, dass mit der Borsäure in kleinerem Masse sogar auch mit Phosphaten komplexe Verbindungen entstehen. Ich glaube, dass auch bei der Anwendung von Ammoniumchlorid zwischen den Hydroxyantrachinon-Carbonylgruppen und den Aminogruppen eine Interaktion zu erwarten ist. In solchen Fällen wäre es interessant, das Verhalten in Ammonialösungen mit denen der Veronal- oder Phosphatpuffer zu vergleichen. Es ist nämlich möglich, dass diese Komplexe nicht so stabil sind, wie die Verbindung des Ammoniaks. Ein weiterer komplizierender Faktor bei der Anwendung von Ammoniak ist die Tatsache, dass selbst die Metallionen Ammoniakate bilden. Es handelt sich eigentlich um das Gleichgewicht zwischen zwei Komplexen.

Aus diesen Versuchen kann man auf die Stärke der Chinalizarin-, und Ammoniakomplexe folgern. Wie ich schon erwähnte, wäre es sehr interessant, diese Versuche auch in übrigen Pufferlösungen durchzuführen. Bei den organischen Verbindungen ist es sowieso schwer, bei verschiedenen pH-Werten solchen Puffer zu finden, wo weder die Metallionen noch die Komplexbildner in Interaktion treten. Ich möchte bestätigen, dass die Reaktion zwischen Calcium und Chinalizarin auch bei anderen pH-Werten zu studieren ist. Diese Reaktion besitzt grosse praktische Bedeutung. Die polarographische Calciumbestimmung ist nämlich ziemlich kompliziert. Eigentlich ist sie nur indirekt über die Veränderung der Zinkkomplexe der Äthylendiamintetraessigsäure möglich. Hier bietet sich durch die Verminderung der ersten Stufe des Chinalizarins eine Methode, mit der Calcium unmittelbarer bestimmt wird.

E. BODOR: Ich danke Herrn ZUMAN für die Bemerkung und seine Hinweise werde ich natürlich berücksichtigen. Dass sich hier eine Möglichkeit zu der indirekten Bestimmung der Calciumionen ergibt, erkannte ich selbst auch, und strebe nach einer entsprechenden Methode.

E. PUNGOR: Eine Frage habe ich zum Vortrag und zwar im Zusammenhang mit der Stufe in Anwesenheit von Nickel. Die Auffassung stimmt in den beiden extremen Fällen sehr gut. Meine Frage wäre: besteht so ein Übergang auch in den zweiten und dritten Diagrammen? Kann die Stufenverminderung der Stufen der zweiten und dritten Diagramme und die Verschiebung der Halbstufenpotentiale irgendwie erklärt werden?

E. BODOR: Leider, zur Zeit gibt es keine solche Erklärung.

POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF THE ORGANIC METAL COMPLEXES OF QUINALIZARINE

E. Bodor

(Institute of General and Inorganic Chemistry, University for the Chemical Industry, Veszprém)

Summary

Quinalizarine (1.2.5.8-tetrahydroxy-anthraquinone) proved to be reducible by polarography in basic solutions at a pH value above 5,5. Its half-wave potential lies in an acetate buffer of pH 5,6 at —0,6 v., in a 0,1 *M* ammonium hydroxide-ammonium chloride at —0,75 v. and in a 0,1 *M* sodium hydroxide solution at —0,9 v. referred to the saturated calomel electrode.

In a strongly alkaline medium no effect of aluminium(III) ions on the quinalizarine wave was observed. Calcium and zinc ions, in turn, decreased the intensity of the diffusion current in proportion to the concentration of metal ions. A similar reduction of wave height was also observed in a basic solution of ammonium hydroxide-ammonium chloride, due to the effect of aluminium ions.

Dr. Endre BODOR Veszprém, Schönherz Z. u. 12.

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS KUPFER- UND EISENAUSTAUSCHVERHÄLTNIS IN HYDROXAMSÄUREKOMPLEXEN UND DESSEN BIOLOGISCHE BEDEUTUNG

V. CIELESZKY, Frau A. DÉNES und E. SÁNDI

(Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaft, Budapest)

Die polarographische Untersuchung der Komplexverbindungen bietet nicht nur auf dem Gebiete der analytischen Chemie, sondern auch in der biochemischen Forschung wertvolle Möglichkeiten. Das Studium der Entstehung, Stabilität und Struktur der Komplexe gehört den neuesten Richtungen der modernen Biochemie an. Wir möchten hier über Einzelheiten einer solchen an Hand von Modellversuchen durchgeführten Arbeit berichten.

Im Eisenhaushalt des menschlichen Organismus spielt ein spezifischer Eiweissstoff des Blutserums, das Transferrin — auch Siderophilin genannt — eine bedeutende Rolle. Bekanntlich beträgt der Eisengehalt des Menschen fünf bis sechs Gramm, demgegenüber enthält das gesamte Blutserum nur drei Milligramm Eisen. Wenn wir in Betracht ziehen, dass nach dem Stand unseres heutigen Wissens das eisenbildende Protein des Serums, das Transferrin allein für den Transport des Eisens im Inneren des Organismus verantwortlich ist, so ist es klar, dass dieser Umstand den engsten Querschnitt des Eisenmetabolismus darstellt. Die Untersuchung dieses komplizierten Gleichgewichtsystems ist daher für die Erkenntnis des Eisenhaushalts von ausschlaggebender grosser Bedeutung.

Das Transferrin wurde zum ersten Mal durch COHN und Mitarbeiter im Jahre 1946 aus Serum isoliert [1]. Diese Forscher nahmen an, dass dieses Protein nicht nur das Eisen, sondern auch andere im Serum vorkommende Schwermetalle, in erster Linie Kupfer, zu binden vermag, dessen wichtige und bis zum heutigen Tage noch ungeklärte Rolle in der Blutbildung bekannt ist.

COHN und Mitarbeiter waren auf Grund ihrer Experimente der Meinung, dass das Transferrin die Rolle eines allgemeinen metallbindenden Proteins im Serum einnimmt [2]. Demgegenüber behaupteten HOLMBERG und LAURELL, dass das Transferrin das Eisen mit spezifischer Selektivität bindet [3]. Am Anfang der fünfziger Jahre wurde diese letztere Annahme durch Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen bestätigt [4, 5]. Den Beobachtung der oben genannten Autoren nach, ist das Kupfer im Transferrin-Kupfer-Komplex durch Eisen austauschbar, der umgekehrte Vorgang findet jedoch nicht statt.

Natur und Aufbau der spezifischen eisenbindenden Gruppe im Transferrin sind bis heute nicht geklärt. Die absorptionsspektrographischen Untersuchungen von FIALA, in denen er heterocyclische Hydroxamsäuren als Vergleichsmodelle benützte, deuten darauf hin, dass jene Gruppe den Charakter einer Hydroxamsäure besitzt [6, 7].

Demgegenüber steht die Auffassung von ALBERT, der auf Grund der Untersuchungen von BAIN und DEUTSCH für die Eisenbindung eine oxychinolinartige Gruppe verantwortlich hält [8].

Unter den Hydroxamsäuremodellen, die wir um die Hypothese von FIALA zu überprüfen hergestellt haben, bieten besonderes Interesse jene, die aus Aminosäuren hervorgehen, da wir im Transferrin unmittelbar an Eiweiss gebundene, nicht cyclische Hydroxamsäuregruppen voraussetzen. Die Aminohydroxamsäuremodelle bieten auch deswegen besondere Vorteile, weil sie — unseren Vorversuchen gemäss — im Gegensatz zu den meisten aliphatischen und aromatischen Hydroxamsäuren, sowohl mit Eisen, als auch mit Kupfer wasserlösliche Komplexe bilden.

Wir haben nach der Vorschrift von SAFIR die einfachste der Aminohydroxamsäuren, die Glykokollhydroxamsäure (Aminoessighydroxamsäure) hergestellt [9]. Diese weisse, krystallinische Substanz (Schmp. 140—141°) ist in Wasser und Alkohol löslich.

Der Einbau der Hydroxamsäuregruppe schwächt den Säurecharakter der ursprünglichen Aminosäure: diese Tatsache gelangt auffallend in der Änderung des pK_1-Wertes zum Ausdruck. Die pK-Werte des Glykokolls und der Glykokollhydroxamsäure wurden von uns potentiometrisch bestimmt:

	pK_1	pK_2
Glykokoll	2,35	9,61
Glykokollhydroxamsäure	7,10	9,10

Die Glykokollhydroxamsäure selbst ist dem Glykokoll ähnlich auf der tropfenden Quecksilberelektrode in BRITTON—ROBINSON-Puffer im pH-Bereich 1,8—12,0 nicht reduzierbar.

In Vorversuchen haben wir festgestellt, dass die Glykokollhydroxamsäure anderen Hydroxamsäuren ähnlich [10] mit Kupri- und Ferri-Ionen intensive Farbenreaktion gibt. Die dadurch indizierte Komplexbildung konnten wir durch Verfolgung des pH-Effektes auf potentiometrischem Wege zweifellos bestätigen (Abb. 1 und 2).

Im weiteren untersuchten wir, wie und in welchem Masse der Einbau der Hydroxamsäuregruppe das ursprüngliche Komplexbildungsvermögen der Aminosäuren besonders hinsichtlich des Kupfers und Eisens verändert.

Die Dissoziationskonstanten der Glykokollkupferkomplexe wurden zuerst von FLOOD und LORAS potentiometrisch bestimmt [11]. Später haben ALBERT [12], MALEY und MELLOR [13], MONK [14] potentiometrisch, KEEFER [15],

LAITINEN [16], LI und DOODY [17] polarographisch die Dissoziationskonstanten dieser Komplexe gemessen. Zwecks Überprüfung der von uns angewandten Methoden, haben auch wir die Dissoziationskonstanten der Glykokollkupferkomplexe potentiometrisch und polarographisch bestimmt. Die von uns erhaltenen Werte stehen mit den Angaben der erwähnten Autoren in guter Übereinstimmung.

Dissoziationskonstanten der Glykokoll-Cu(II)-Komplexe

pK_1	pK_2	$pK_1 \cdot K_2$
$\frac{[\text{Glykokoll}]\,[Cu^{++}]}{[\text{Glykokoll-Cu}]^+}$	$\frac{[\text{Glykokoll-Cu}]^+\,[\text{Glykokoll}]}{[\text{Glykokoll}_2\text{-Cu}]}$	$\frac{[\text{Glykokoll}]^2\,[Cu^{++}]}{[\text{Glykokoll}_2\text{-Cu}]}$
Potentiometrisch :		
8,60	6,94	15,54
Polarographisch :		
		15,20

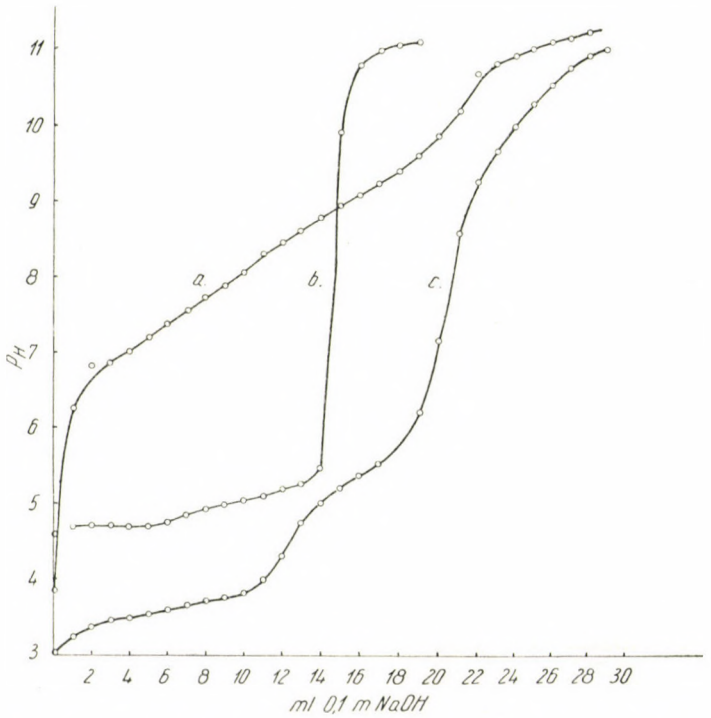


Abb. 1. Neutralisationskurven der Glykokollhydroxamsäure, des Kupfersulfats und der Mischung von beiden. Aufgenommen mit »Metrohm Kompensator Type E 148 c« Glaselektrode und gesättigter Kalomel Vergleichselektrode. Zusammensetzung der Lösungen:
a) 0,001m Glykokollhydroxamsäure, 0,004m KNO_3, 0,001m HCl
b) 0,0005m $CuSO_4$
c) 0,001m Glykokollhydroxamsäure, 0,002m KNO_3, 0,001m HCl, 0,0005m $CuSO_4$
Titriermittel: 0,1n NaOH. Mittleres Gesamtvolumen 50 ml. Messtemperatur 20°

Die Glykokollhydroxamsäure bildet mit Kupfer von dem pH-Wert und von dem Verhältnis Komplexbildner : Metall abhängig verschiedene farbige Komplexe (Abb. 3).

Aus Abb. 3 ist zu sehen, dass bei niedrigen pH-Werten ein grüner, bei höheren ein violetter Komplex entsteht. Wenn aber das Verhältnis Komplexbildner-Metall niedrig, d. h. 1 : 1 ist, entsteht selbst bei hohen pH-Werten der

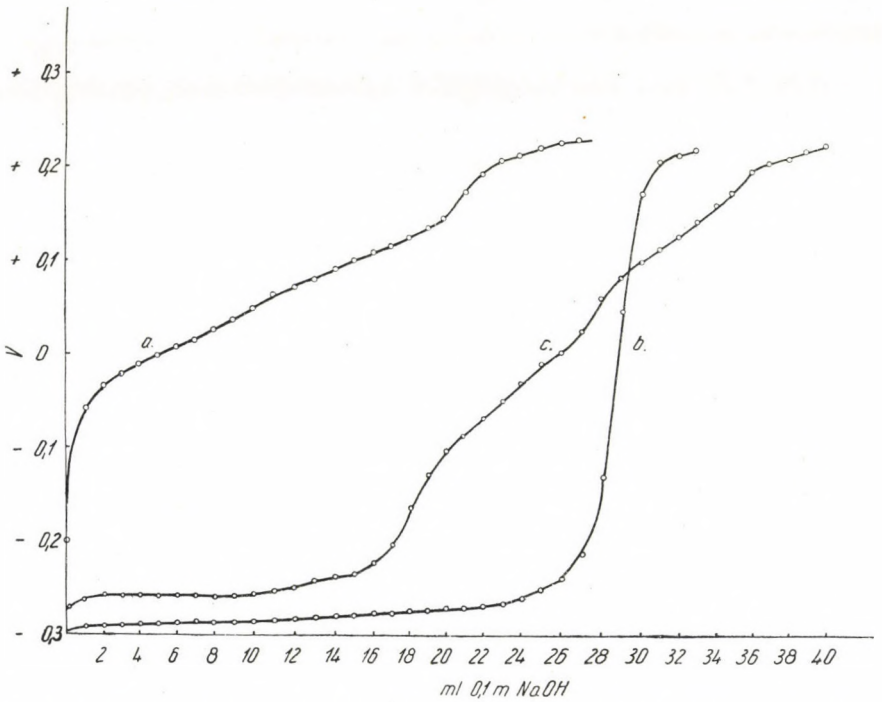


Abb. 2. Neutralisationskurven der Glykokollhydroxamsäure, des Ferrichlorids und der Mischung von beiden. Bedingungen siehe Abb. 1. Zusammensetzung der Lösungen :
a) 0,001m Glykokollhydroxamsäure, 0,004m KNO_3, 0,001m HCl
b) 0,001m $FeCl_3$
c) 0,001m Glykokollhydroxamsäure, 0,001m HCl, 0,001m $FeCl_3$

grüne Komplex. An der Grenze dieser beiden Farbengebiete ist eine graue Mischfarbe zu beobachten.

Dieselben Farben haben wir während der Aufnahme der potentiometrischen Kurven wahrgenommen (Abb. 1). In stark alkalischem pH-Bereich (> 10) konnten wir das Auftreten einer violett-roten, bzw. rot-violetten Farbe, d. h. die Bildung eines weiteren Komplexes beobachten. Aus dieser rot-violetten, stark alkalischen Lösung fiel nach 24 Stunden ein Niederschlag aus. Wir haben unsere Versuche in diesem hohen pH-Gebiet vorläufig nicht weitergeführt.

Die Bildung des grünen, bzw. violetten Komplexes findet unserer Beobachtung nach momentan und reversibel statt. Über die Dissoziationskonstanten

der Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexe konnten wir in der Literatur keine Angaben finden. Die aus unseren potentiometrischen Messungen berechnete Dissoziationskonstante des grünen Komplexes beträgt :

$$pK_1 \sim 2{,}5 \, .$$

Es handelt sich also hier um eine sehr schwache Bindung. Die Berechnung der Dissoziationskonstante des Komplexes ist auf Grund der Annahme eines Verhältnisses Komplexbildner-Metall 2 : 1 bis jetzt nicht gelungen. Die mathematische Analyse der verhältnismässig komplizierten Kurve ist im Gang. Zur Bestimmung der Dissoziationskonstante und zur Aufklärung der Struktur der

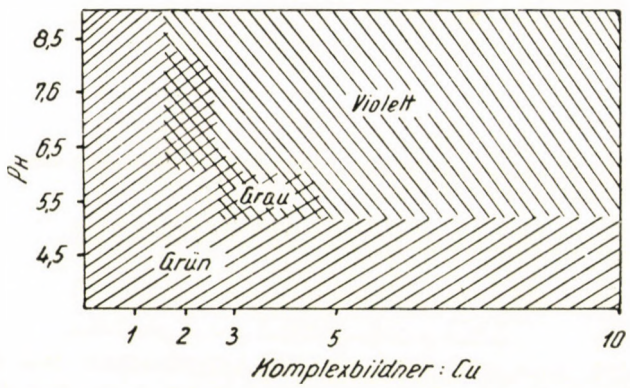


Abb. 3. Die Bildung von Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexen in Phosphatpuffer in Abhängigkeit vom pH und vom Verhältnis Komplexbildner : Metall bei 25°. [M] = 10^{-3}m

grünen, bzw. violetten Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexe haben wir polarographische Versuche unternommen.

Die Angaben über die Polarogramme der Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexe in Phosphatpuffer sind in Tab. I zusammengestellt.

Tabelle I

»Halbstufenpotentiale« und Höhe der polarographischen Stufe des Glykokollhydroxamsäure-Kupferkomplexes in einem Phosphatpuffer in Abhängigkeit vom pH-Wert und vom Verhältnis Komplexbildner : Metall bei 25°. [M] = 10^{-3}m.

X : M	$pH = 6{,}5$		$pH = 7{,}0$		$pH = 7{,}5$	
	$-E_{1/2}$ V	i_d mm	$-E_{1/2}$ V	i_d mm	$-E_{1/2}$ V	i_d mm
1 : 1	0,198	31,0	Nicht auswertbar		0,298	26,5
2 : 1	0,218	39,5	0,268	40,0	0,328	40,2
10 : 1	0,282	40,5	0,328	40,3	0,386	40,2

Es ist immer nur eine Stufe zu beobachten, deren Lage von der Konzentration des Komplexbildners und vom pH abhängig ist. Die Stufen verschieben sich mit der Erhöhung der Konzentration des Komplexbildners und des pH-Wertes in negativer Richtung. Alle Stufen sind irreversibel, die Stufenhöhen sind im allgemeinen — mit Ausnahme derjenigen des grünen Komplexes — gut reproduzierbar.

Da die Stufe des grünen Komplexes nur schwer von der Stufe der freien Kupri-Ionen trennbar ist, wird der pK-Wert dieses wenig stabilen Komplexes aus polarographischen Angaben nicht zu bestimmen sein, was mit dem — wie schon erwähnt — potentiometrisch ermittelten, sehr niedrigen pK_1-Wert in Einklang steht.

Um die Möglichkeit einer durch das bekannte Komplexbildungsvermögen der Phosphationen verursachten Interferenz auszuschalten, wurden diese Versuche in einem solchen Puffer wiederholt, dem diese Fähigkeit fehlt. Ein Gemisch von Veronal-Veronal-Na [18] eignete sich zu diesem Zweck sehr gut. Die Eigenschaft dieser Puffersubstanzen, dass sie mit Kupfer und Eisen keine Komplexe bilden, wurde potentiometrisch kontrolliert und bestätigt (Abb. 4).

Aus Abb. 4 ist zu sehen, dass die typischen potentiometrischen Kurven des Kupfers bzw. Eisens mit der Neutralisationskurve des Veronals Additionskurven bilden, in denen keine Zeichen einer eventuellen Nebenwirkung nachweisbar sind.

Die polarographischen Stufen der Glykokollhydroxamsäure-Kupferkomplexe erhält man in Phosphat-, bzw. Veronalpuffer, die denselben pH-Wert besitzen, bei ungefähr gleichen Potentialwerten.

Die Dissoziationskonstante des violetten Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexes wurde bei einem grossen (hundertfachen) Überschuss des Komplexbildners, wie üblich in Phosphatpuffer im pH Bereich von 7,0—8,0 aus der Verschiebung des Halbstufenpotentials bestimmt [17]. Die Reduktion an der tropfenden Quecksilberelektrode kann unter solchen Umständen als reversibel betrachtet werden. Aus der logarithmischen Analyse der polarographischen Stufe ergibt sich nämlich die Neigung der Gerade zu $0{,}034 \pm 0{,}002$ und dieser Wert stimmt mit den Literaturangaben über Aminosäure-Kupfer-Komplexe vollständig überein [15, 16, 17]. In Veronal-Veronal-Na-Puffer scheint die Reaktion wenig reversibel zu sein ($0{,}037 \pm 0{,}006$), die Halbstufenpotentiale liegen um einige Millivolt positiver als in Phosphatpuffer.

Aus den in Phosphatpuffer durchgeführten Untersuchungen kann weiter berechnet werden, dass im violetten Komplex die Zahl der zu einem Kupferatom koordinierten Liganden 1,84, also rund zwei ist.

Die Dissoziationskonstante des violettfarbigen Komplexes ergibt sich aus diesen Bestimmungen zu :

$$pK_1\, K_2 = 19{,}07.$$

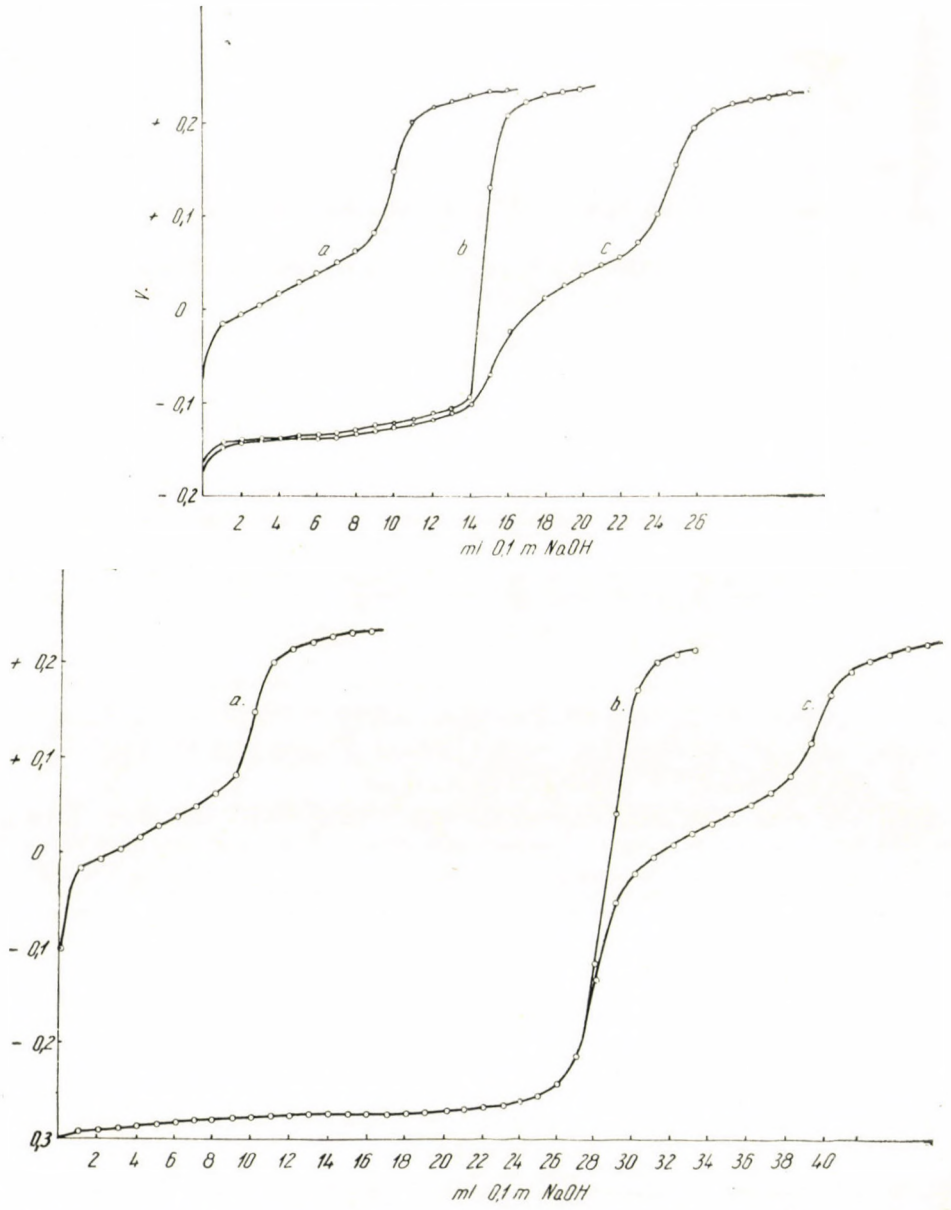


Abb. 4. Neutralisationskurven des Veronals allein und in Gegenwart von Cu^{++} bzw. Fe^{+++}.
Bedingungen: siehe Abb. 1
Zusammensetzung der Lösungen:

A. a) 0,001m Veronal
b) 0,001m $CuSO_4$
c) 0,001m Veronal, 0,001m $CuSO_4$

B. a) 0,001m Veronal
b) 0,001m $FeCl_3$
c) 0,001m Veronal, 0,001m $FeCl_3$

Polarogramme des grünen und violetten Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexes sind in Abb. 5 zu sehen.*

Für die Aminosäure-Kupfer-Komplexe, namentlich für das Glykokoll wird noch heute die von LEY i. J. 1904 vorgeschlagene Ringstruktur angenommen [10].

Der heutzutage allgemein anerkannten Ansicht nach sind bei der Chelatbildung fünf-, bzw. sechs-Ringe bevorzugt, besonders wenn der fünf-Ring gesättigt ist, bzw. der sechs-Ring eine oder mehrere Doppelbindungen enthält [19]. Auf Grund dieser Voraussetzung kann man auch in den Hydroxamsäure-Kupfer-Komplexen die Anwesenheit eines fünf-Ringes annehmen. Die Ringschliessung kann aber in den Kupferkomplexen der α-Aminohydroxamsäuren auch in einer

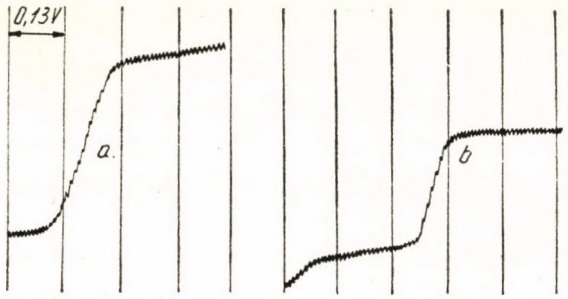
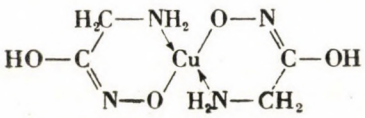


Abb. 5. Polarographische Stufen der Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexe in Phosphatpuffer bei 25° gegen die n-Kalomelelektrode
a) pH = 6,5. $[Cu^{++}] = [Ghs] = 10^{-3}$m. Empf. = 1/100
b) pH = 7,7. $[Cu^{++}] = 2 \cdot 10^{-4}$m. $[Ghs] = 2 \cdot 10^{-2}$m. Empf. 1/30

anderen Weise vergegenwärtigt werden, namentlich in der Form eines sechs-Ringes, in dem — wenn wir die Möglichkeit einer tautomeren Umwandlung heranziehen — eine hinsichtlich der Stabilität vorteilhafte Doppelbildung vorhanden sein mag.



* Diese Versuche wurden mit Hilfe eines HEYROVSKÝ-Polarographen (Typ. V-301) durchgeführt. Die absolute Galvanometerempfindlichkeit betrug $2{,}7 \cdot 10^{-9}$ A, die Kapillarkonstante: 3,33 $mg^{2/3} \cdot sec.^{-1/2}$.

Auch das Eisen bildet mit der Glykokollhydroxamsäure verschiedene Komplexe, deren Bildung von der Konzentration des Komplexbildners und vom pH-Wert abhängig ist (Abb. 6).

Wie aus Abb. 6 ersichtlich, ist auch hier das Verhältnis Komplexbildner-Metall von ausschlaggebender Bedeutung, bei dessen niedrigen Werten und in hohen pH-Gebieten ein Niederschlag entsteht. Wir möchten noch erwähnen, dass die braune Farbe nicht im ganzen illustrierten Gebiet dieselbe Intensität besitzt, sondern sie geht allmählich in die gelbe Farbe über.

Die Natur des Puffers übt auf die Bildung der Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexe einen weitgehenden Einfluss aus. In Salzsäure-Veronal-Na- und Veronal-Veronal-Na-Puffer [18] ist eine fast gleiche Farbenbildung zu

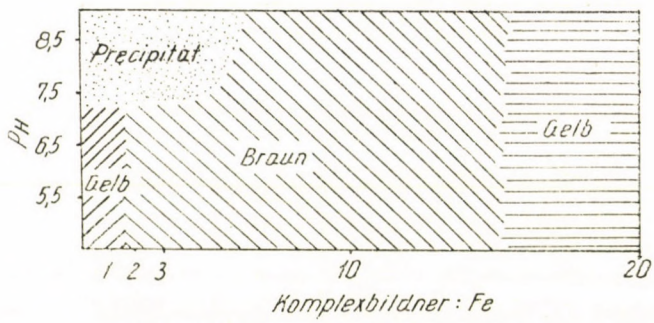
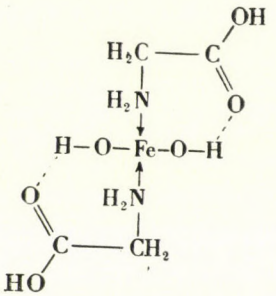


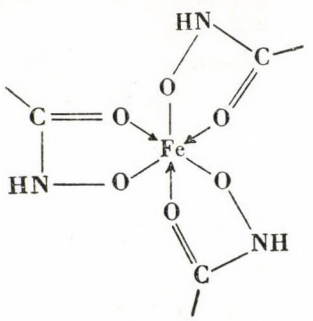
Abb. 6. Die Bildung von Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexen in Acetat- bzw. Veronal-Veronal-Na-Puffer in Abhängigkeit vom pH und vom Verhältnis Komplexbildner : Metall bei 25°. $[Fe^{+++}] = 10^{-3}$m

beobachten, in Phosphatpuffer dagegen im pH-Bereich von 5,5 bis 8,0 zersetzt sich der Komplex vollständig ; es fällt ein gelber, bzw. gelblichweisser Niederschlag auch in dem Falle aus, wenn das Verhältnis Komplexbildner- Metall den hohen Wert von zehn erreicht. Über die Natur des Niederschlags wissen wir noch nichts näheres. Diese Erscheinung ist derjenigen, die FIALA beim Transferrin-Eisenkomplex beschrieben hat [7], analog.

In der Literatur sind nur bezüglich der Stabilität der Ferrokomplexe der natürlichen Aminosäuren Angaben zu finden und zwar in einer Mitteilung von ALBERT [12], demgemäss die Dissoziationskonstante der Ferroaminosäurekomplexe von der Grössenordnung von 7—8 ist. Der Meinung PFEIFFER's nach existieren innere Komplexverbindungen des dreiwertigen Eisens nicht [20]. BIELIG und BAYER nehmen auf Grund ihrer neuesten Versuche an, dass im Falle des dreiwertigen Eisens dem Anschein nach ein sieben-Ring mit einer Wasserstoffbrücke, tatsächlich aber ein sechs-Ring entsteht, indem ein dreiwertiges Eisenatom an zwei Glykokollmoleküle gebunden ist [21].

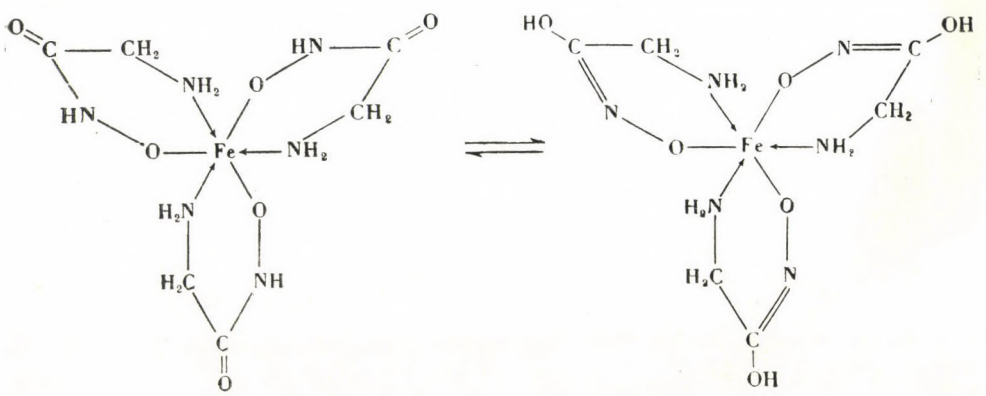


Bezüglich der Stabilität solcher Verbindungen sind in der Literatur keine Angaben bekannt. Der Einbau der Hydroxamsäuregruppe erleichtert die Bildung der Ferrikomplexe. Mit der Aufnahme von drei Ligandmolekülen können sämtliche Koordinationstellen des Eisenatoms abgesättigt werden, ohne mit der Bildung von Hydroxo-, bzw. Hydroverbindungen rechnen zu müssen. Die Struktur des Glykokoll-Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplexes kann also in folgender Weise dargestellt werden :



Diese von WERNER schon am Anfang dieses Jahrhunderts vorgeschlagene Struktur wird in der neuesten Literatur für die Hydroxamsäurekomplexe des dreiwertigen Eisens angegeben [10].

Den Kuprikomplexen ähnlich kann auch hier die Bildung eines durch Tautomerisation entstehenden und eine Doppelbildung enthaltenden sechs-Ringes vorgestellt werden.



Die Reduktion der Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexe an der tropfenden Quecksilberelektrode wurde in Salzsäure-Veronal- und Veronal-Veronal-Na-Puffer untersucht. Sowohl die rotgelben als auch die gelben Komplexe geben zwei Stufen (Abb. 7).

Die Angaben über die erste Stufe der Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexe sind in Tab. II vorgeführt. Mit der Erhöhung der Konzentration des

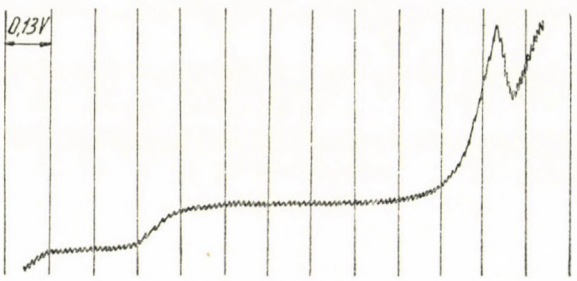


Abb. 7. Polarographische Stufen des Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexes in Veronal-Veronal-Na-Puffer gegen die ges. Mercurosulphat-Elektrode bei 25°. pH 7,7. $[Fe^{+++}] = 10^{-3}$m. [Ghs] $= 2 \cdot 10^{-2}$m. Zusatzelektrolyt: 0,1m KNO_3. Empf.: 1/100

Komplexbildners und des pH-Wertes verschiebt sich die Lage der ersten Stufe zu negativeren Potentialen.

Tabelle II

»Halbstufenpotentiale« und Höhe der ersten polarographischen Stufe des Glykokollhydroxamsäure-Eisenkomplexes in einem Veronal-Veronalnatriumpuffer in Abhängigkeit vom pH-Wert und vom Verhältnis Komplexbildner-Metall bei 25°. [M] $= 10^{-3}$ m.

X : M	$pH = 6{,}5$		$pH = 7{,}5$		$pH = 8{,}5$	
	$-E_{1/2}$ V	i_d mm	$-E_{1/2}$ V	i_d mm	$-E_{1/2}$ V	i_d mm
3 : 1	0,334	10,0	Niederschlagbildung			
10 : 1	0,388	12,0	0,432	15,0	0,486	15,5
20 : 1	0,450	18,0	0,474	18,0	0,504	18,5

Die zweite Stufe, die grösser als die erste ist, kann schwer untersucht werden und besitzt ein kaum unterdrückbares Maximum. Wenn das polarographische Verhalten des Eisens mit anderen Komplexbildnern (Weinsäure, Zitronensäure, Mannitol, Gluconsäure und so weiter) in Betracht gezogen wird [22], so ist es annehmbar, dass die erste Stufe einer Ferri-Ferro und die zweite vielleicht einer Ferro-Metall Reduktion entspricht. Unsere diesbezüglichen Versuche sind im Gang.

Unter unseren polarographischen Versuchsbedingungen konnte aber keine reversible Stufe des Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexes erhalten werden und die unmittelbare Bestimmung der Dissoziationskonstante war daher nicht möglich. Wir möchten noch erwähnen, dass die Berechnung der Dissoziationskonstanten der Eisen-Glykokollhydroxamsäure-Komplexe aus den Angaben der potentiometrischen Titration (Abb. 2) auch nicht gelungen ist.

Um die Hindernisse, auf die wir in der unmittelbaren Bestimmung der Dissoziationskonstante der Glykokollhydroxamsäure-Eisen-Komplexe gestossen waren, zu umgehen, wandten wir uns dem Studium der Austauschreaktion zwischen Kupfer und Eisen in ihren Glykokollhydroxamsäurekomplexen zu.

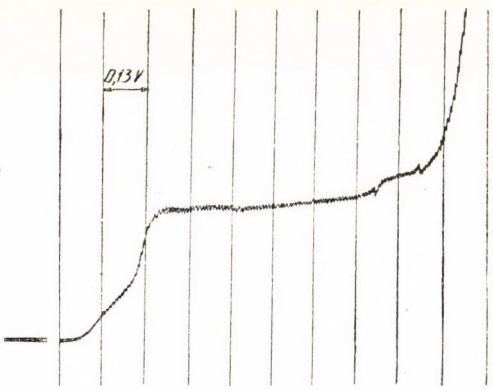


Abb. 8. Polarogramm eines Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Eisen-Systems in Veronal-Veronal-Na-Puffer gegen die n-Kalomel-Elektrode bei 25° Empf. 1/100. pH 6,9. $[Cu]^{++} = 10^{-3}$m; $[Ghs] = 2 \cdot 10^{-3}$m; $[Fe^{+++}] = 2 \cdot 10^{-4}$m. Zusatzelektrolyt: 0,1n KNO_3

Bei der Zugabe von Ferri-Ionen zu einer Lösung des Glykokollhydroxamsäure-Kupfer-Komplexes in Acetat-, bzw. Veronal-Puffer in einem pH-Bereich von 5 bis 7,5 erscheint selbst bei einem grossen Überschuss der Kupfer-Ionen die typische rotbraune Farbe des Eisenkomplexes. Die Reihenfoge der Zugabe der Kationen übt keinen Einfluss auf die Erscheinung aus.

Das bedeutet zweifellos, dass der Eisenkomplex eine höhere Stabilität als der Kupferkomplex besitzt und dass die Austauschreaktion stattfindet und momentan abläuft. Es sind auch andere Angaben bekannt, wonach die Hydroxamsäuregruppe das Ferrieisen fester als das Kupfer bindet, also der MELLOR—MALEY-Regel [23] nicht gehorcht.

Hierauf wurde die polarographische Untersuchung der Austauschreaktion versucht. Als Grundlage dieser Versuche wurde das von SCHWARZENBACH und Mitarbeitern veröffentlichte polarographische Verfahren gewählt, das der Autor zum Studium der Schwermetallkomplexe der Äthylendiamintetraessigsäure angewandt hat [24].

Der Komplexbildner und die Kupri- bzw. Ferri-Ionen wurden in diesen ersten Versuchen in verschiedenen Mengenverhältnissen vermischt. Die Polarogramme zeigen im Potentialgebiet der Ferri-, bzw. Kupriionenabscheidung Doppelstufen, deren Gestalt eine Austauschreaktion andeutet (Abb. 8). Bis jetzt ist es uns jedoch nicht gelungen, diejenige Bedingungen zu schaffen, unter denen das Verhältnis der beiden Stufen genau reproduzierbar und bewertbar wäre.

Die Versuche werden in dieser Richtung fortgesetzt.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Kupfer- und Eisenkomplexe der Glykokollhydroxamsäure polarographisch studiert, um über die Austauschverhältnisse der beiden Metalle Auskunft zu erhalten. Bei verschiedenen Hydroxamsäure-Kupfer- bzw. Eisenverhältnissen können in Abhängigkeit vom pH zwei Komplextypen beobachtet werden. Es wurden die Stabilitäten, Farbe, polarographischen Stufen der Komplexe, weiterhin ihre Abhängigkeit vom pH und von der Natur verschiedener Pufferlösungen untersucht. Die Austauschverhältnisse wiesen auf den spezifischen Charakter der mit Eisen gebildeten Komplexe hin.

Die Ergebnisse dieser Forschung sollen bei der Lösung des Problems der Spezifizität des Transferrins, eines eisenbindenden Eiweisses im Blutserum angewandt werden, dessen eisenbindende Gruppe angeblich eben eine Hydroxamsäuregruppe wäre.

LITERATUR

1. E. J. Cohn, L. E. Strong, W. L. Hugles, D. J. Mulford, J. N. Ashworth, M. Melin und H. L. Taylor: J. Amer. Chem. Soc. **68**, 549 (1946).
2. D. M. Surgenor, B. A. Koechlin, L. E. Strong: J. Clin. Invest. **28**, 73 (1949).
3. C. G. Holmberg und C. B. Laurell: Acta Chem. Scand. **1**, 944 (1947).
4. G. Wallenius: Scand. J. Clin. Lab. Invest. **4**, 24 (1952).
5. W. Horst und K. H. Schäfer: Klin. Wschr. **31**, 791 (1953).
6. S. Fiala und D. Burk: Biol. Bull. **95**, 282 (1948).
7. S. Fiala: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **14**, 287 (1949).
8. A. Albert: Biochem. J. **54**, 646 (1953).
9. S. R. Safir und J. H. Williams: J. org. Chemistry **16**, 1298 (1952).
10. F. Mathis: Bull. Soc. Chim. France No 5 (1953).
11. H. Flood und V. Loras: Tidsskr. Kjemi, Bergves. Metallurgi **5**, 83 (1945).
12. A. Albert: Biochem. J. **46**, 39 (1950).
13. L. Malley und D. P. Mellor: Nature (London) **165**, 453 (1950).
14. C. B. Monk: Trans. Faraday Soc. **47**, 297 (1951).
15. R. M. Keefer: J. Amer. Chem. Soc. **68**, 2329 (1946).
16. H. A. Laitinen, E. I. Onstott, J. C. Bailar und S. Swann, Jr.: J. Amer. Chem. Soc. **71**, 1550 (1949).
17. N. C. Li und E. Doody: J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1891 (1950).
18. R. G. Bates: Electrometric pH-determination, theory and practice (London) 1954.
19. A. E. Martell und M. Calvin: Chemistry of the metal chelate compounds. (New York) 1953.
20. P. Pfeifer: Organische Molekülverbindungen. (Stuttgart) 1927.
21. H. J. Bielig und E. Bayer: Chem. Ber. **88**, 1158 (1955).
22. I. M. Kolthoff und J. J. Lingane: Polarography, 2nd ed. (Interscience Publishers, New York) 1952 Vol. II. p. 475.
23. D. P. Mellor und L. Maley: Nature **159**, 370 (1947); **161**, 436 (1948).
24. G. Schwarzenbach, R. Gut und G. Anderegg: Helv. Chim. Acta **37**, 937 (1954).

DISKUSSION

P. ZUMAN : Sie sagten, dass im Falle der Komplexe bei höherem pH die Stufe reversibel war, bei niedrigem pH jedoch nicht. Wie bestimmten Sie die Reversibilität der Stufen?

V. CIELESZKY : Die Prüfung der Reversibilität wurde mit Hilfe der logarithmischen Analyse der Stufen durchgeführt und mit den Ergebnissen der potentiometrischen Titration des Komplexes verglichen.

P. ZUMAN: Die zweite erwähnte Methode, nämlich die potentiometrische Prüfung des Komplexes ist eine Methode, die zu gebrauchen ist. Aber ich dachte, dass Sie auch die erste Methode angewendet haben. Ich möchte sie von dieser Stelle davor warnen, auf die Reversibilität oder Irreversibilität aus der Steilheit der Stufe zu schliessen. Die Steilheit der Stufe kann in einigen Fällen theoretisch sein, der Elektrodenvorgang ist jedoch nicht reversibel. Bei organischen Verbindungen ist die Anwendung einer Amalgamelektrode vorzüglich und das anodische Potential des Amalgams soll mit dem kathodischen Reduktionspotential der Stufe verglichen werden. Eine zweite Frage: hier an der Stufe entsteht im Falle der Glykokollhydroxamsäure ein steiles Maximum. Diese Stufe entspricht meiner Ansicht nach eher einer katalytischen Wasserstoffabscheidung als einer zweiten Komplexreduktionsstufe. Es wäre richtig, die pH und Pufferkonzentrationsabhängigkeit dieser Stufe zu studieren, bevor man behauptet, dass es sich hier über eine Reduktionsstufe oder eine katalytische Wasserstoffabscheidung handelt.

V. CIELESZKY : Die Reversibilität der Reduktion der Komplexe wird nach der Literatur hauptsächlich durch die logarithmische Analyse der Stufe bewiesen. Ich danke für die Bemerkung über die Amalgam-Methode.

J. HEYROVSKÝ: Bei welchem pH entsteht diese Spitze, das Maximum? Wenn, wie Sie sagten, bei pH 6,5, dann kann es eine katalytische Wasserstoffabscheidung sein.

J. KÚTA : Untersuchten Sie, wie die Stufe von der Höhe des Quecksilberniveaus abhängt? So kann die katalytische Natur bewiesen werden.

V. CIELESZKY : Nein, das wurde noch nicht untersucht, diese Versuche sind im Gange.

M. VAJDA : Ich erlaube mir eigentlich von der Seite der organischen Chemie eine Bemerkung : Die Glykokollhydroxamsäure ist kein geeignetes Modell für die Derivate der in Peptidbindung gebundenen Aminosäure-Hydroxamsäure, da sie über freie Aminogruppe verfügt. Die wirkliche Lage wird mit irgendeiner acylierten Verbindung, z. B. mit acylierter Aminosäure-Hydroxamsäure besser angenähert. Noch besser wäre ein monotones Polypeptid, das Hydroxamsäure-Gruppen in entsprechender Zahl besitzt. Zur Herstellung solcher Polypeptidhydroxamsäuren schlage ich Kollegen CIELESZKY vor, dass er Prof. BRUCKNER ersuche, weil in unserem Institut Arbeiten über monotone Polypeptide durchgeführt werden und die Herstellung von Polypeptidhydroxamsäuren wahrscheinlich keine unüberwindliche Schwierigkeit bedeuten wird.

V. CIELESZKY : Versuche zum Einbau der Hydroxamsäure in grössere Moleküle wurden geplant und dieser Weg wird zur Lösung der Frage stark beitragen.

POLAROGRAPHIC INVESTIGATIONS ON THE EXCHANGE RATIOS OF COPPER AND IRON IN THE COMPLEXES OF HYDROXAMIC ACID AND THE BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF THIS RATIO

V. Cieleszky, Mrs. *Anna Dénes* and *E. Sándi*

(Institute for Food and Nutrition Science, Budapest)

Summary

Polarographic studies were carried out into the copper and iron complexes of glycocol-hydroxamic acid, in order to establish the exchange ratios of both metals. At varying ratios of hydroxamic acid and copper and iron, respectively, two types of complexes were observed, depending on the pH values existing in the system. The stability, colour and polarographic waves of these complexes were investigated, and the correlation of the waves with the pH values and with the nature of various buffer solutions studied. The exchange ratios seem to indicate a specific character of the complexes formed with iron.

These results may be applied in studying the problems of the specificity of transferrin (an iron binding serum protein) the iron binding group of which is supposed to be a hydroxamic acid group.

Dr. Vilmos CIELESZKY
Frau Dr. Anna DÉNES
Dr. Emil SÁNDI
Budapest, IX., Gyáli út 3.

DIE ÄNDERUNG DER GESTALT VON POLAROGRAMMEN BEI GEGENWART EINIGER MAXIMADÄMPFER

GY. JOSEPOVITS

(Forschungsinstitut für Pflanzenschutzwesen, Budapest)

Hochmolekulare, oberflächenaktive Stoffe haben zuerst als Maximadämpfer eine Anwendung in der Polarographie gefunden. EMELIANOVA und HEYROVSKÝ haben schon i. J. 1928 die Erscheinung der Maxima und damit die der Maximadämpfung beobachtet. Da die Maxima die Auswertung der Polarogramme meistens stören, hat sich die Verwendung von Maximadämpfern in der praktischen Polarographie rasch verbreitet. Es hat sich aber bald herausgestellt, dass diese Stoffe, obzwar sie in sich selbst bei der benutzten Empfindlichkeit keine messbare Stromstärkeveränderung hervorrufen, die Gestalt der Polarogramme verschiedener Depolarisatore — ausserhalb der Maximadämpfung auch in anderer Beziehung — verändern können.

Diese Änderung äussert sich überhaupt in der Erniedrigung der Steilheit der Stufen, vielleicht in der Erniedrigung des Grenzstroms, oder in der Verteilung der Welle auf mehrere Stufen. Diese hängt von der Art des Depolarisators und auch von anderen Umständen ab. MEITES [1] hat die in verschiedenen Fällen beobachteten Änderungen zusammenfassend sechs Möglichkeiten aufgezählt. ZUMAN hat die früheren Ergebnisse in seiner zusammenfassenden Arbeit geordnet [6].

Diese Wirkung der oberflächenaktiven Stoffe hat verschiedene Forscher viel beschäftigt. Es wird heute allgemein anerkannt, dass diese Wirkung der an der Elektrodenoberfläche sich bildenden Adsorptionsschicht zugeschrieben werden kann, welche Schicht irgendeinen Teil des Reduktionsprozesses verhindert, wodurch die Welle flacher wird, oder die Zunahme der Stromstärke bis zum Desorptionspotential des oberflächenaktiven Stoffes aufhört. Die Ansichten sind aber abweichend in betreff wie und worauf diese Adsorptionsschicht ihre Wirkung ausübt. Gemäss der am allgemeinsten angenommenen Theorie, die von HEYROVSKÝ und seiner Schule ausgearbeitet wurde [2], verhindert die Adsorptionsschicht nicht den Elektrodenprozess selbst, d. h. die Berührung zwischen Depolarisator und Elektrodenoberfläche, sondern die hiermit verknüpften chemischen Prozesse. Es ist dies so zu deuten, dass die Adsorptionsschicht für den Depolarisator durchdringbar ist und diese nur die tangentiale Bewegung der Moleküle, bzw. Ione und dadurch die in der

Oberflächenschicht abfliessenden chemischen Vorgänge verhindert. Die Verhinderung gelangt so bei den kinetischen und mehrelektronigen Prozessen zur Geltung. FRUMKIN und seine Mitarbeiter [3] sehen dagegen die Adsorptionsschicht für ein solches festes Gitter an, das nur die Moleküle und Ione mit kleinem Durchmesser oder von grösserer Energie durchlässt und sie nehmen so die Verhinderung bei dem Elektrodenprozess selbst an. In den letzteren Jahren haben sich viele Forscher mit dieser Frage beschäftigt und es wurde auf viele neue Erscheinungen hingewiesen. Heute wird die Theorie von HEYROVSKÝ allgemein angenommen. Doch tauchen immer wieder neuere Ausnahmen auf, die nur schwer mit der einen oder anderen Theorie vereinbar sind und die einige ergänzende Voraussetzungen in diesen Spezialfällen benötigen.

Ein solcher Ausnahmsfall wurde bei der Ausarbeitung der Bestimmungsmethode eines Pflanzenschutzmittels auf p-Nitrophenyl-Diäthyl-Thiophosphat Basis (kürzlich Parathion genannt) gefunden. Bei der Bestimmung der auch Emulgator enthaltenden Spritzmittel war die polarographische Stufe von Parathion immer steiler als bei der Untersuchung reiner Wirkstoffe. Erstere enthalten Butyl-Naphthalinsulfonat als Emulgator. Aus den weiteren Versuchen hat es sich ergeben, dass Butyl-Naphthalinsulfonat nur mit dem in der Grundlösung als inneres Standard anwesenden Methylenblau zusammen die Stufe von Parathion steiler macht; in sich selbst haben weder Methylenblau noch Butyl-Naphthalinsulfonsäure solche Wirkung. Da das Gemisch beider Stoffe mit grösserer Empfindlichkeit polarographiert eine bestimmte Desorptionsstufe gibt und auch die Gestalt der Elektrokapillarkurve entsprechend modifiziert wird, ist es offenbar, dass auch hier die Wirkung einer Adsorptionsschicht besteht, mit dem Unterschied jedoch, dass hier von den bisherigen Fällen abweichend, die Anwesenheit von zwei Verbindungen zum Entstehen der Erscheinung nötig ist. Dieser Unterschied ist aber nur scheinbar, da es bekannt ist, dass anionaktive Emulgatore und basische Farbstoffe miteinander reagieren können; so kann auch in diesem Falle die Adsorption der aus Methylenblau (bzw. aus dem an der Elektrodenoberfläche gebildeten Leuko-Methylenblau) und aus Butyl-Naphthalinsulfonat sich bildender Dipol-Moleküle die untersuchte Erscheinung verursachen.

Unter Berücksichtigung dieser Umstände wurden weiterhin die Polarogramme verschiedener Depolarisatore in Anwesenheit und Abwesenheit von Methylenblau und Butyl-Naphthalinsulfonat untersucht. Die Versuche wurden im Acetat-Puffer von pH 5 in Gegenwart von 50% Alkohol durchgeführt. Es wurden verschiedene (auch als Pflanzenschutzmittel gebrauchte) aromatische Nitro-Verbindungen, sowie Hexa- und Heptachlorocyclohexan für Depolarisatore gewählt. Es wurden an den Polarogrammen bei Einwirkung des Farbstoff-Emulgator-Paares vom Depolarisator abhängend verschiedene Änderungen erzeugt. Zwei charakteristische Beispiele sind in Abb. 1 und 2 sichtbar. In Abb. 1 sind die Polarogramme einer Mischung von Dinitro-Phenyl-Thiocyanat und

Chlordinitrobenzol bei Anwesenheit, bzw. Abwesenheit des Emulgators zu sehen. (Es wurden zwei Depolarisatore verwendet, dass die Reihe der Stufen ein je grösseres Potentialintervall ausfülle, weil so die Wirkung besser beobachtbar ist.) Die erste Stufe stammt von dem Methylenblau, die weiteren Wellen sind der Reihe nach: die erste Stufe vom Dinitro-Phenyl-Thiocyanat, die

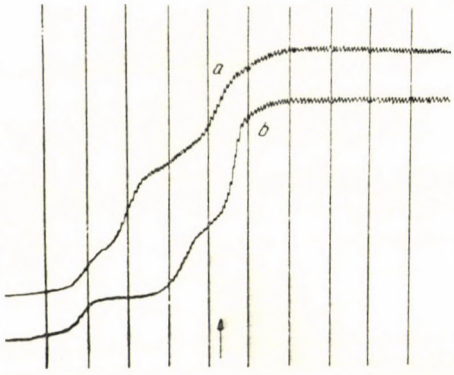


Abb. 1. 0,08 mg Dinitro-Phenyl-Thiocyanat und 0,02 mg Chlordinitrobenzol pro ml, mit 0,2 mg/ml Methylenblau; a) bei Abwesenheit und b) bei Anwesenheit von 0,5 mg/ml Butyl-Naphthalin-Sulfonat. Akk.: 2 V; Empf.: 1/70

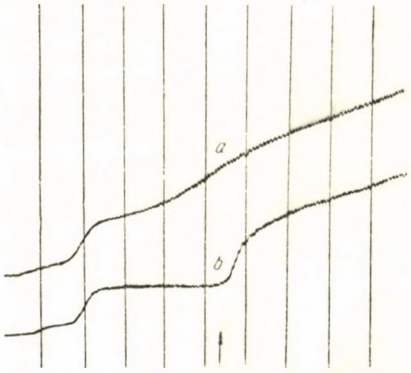


Abb. 2. 0,2 mg Heptachlorocyclohexan mit 0,2 mg Methylenblau pro ml; a) bei Abwesenheit und b) bei Anwesenheit von 0,5 mg/ml Butyl-Naphthalin-Sulfonat. Akk.: 2 V; Empf.: 1/70

erste von Chlordinitrobenzol, die zweite vom Dinitro-Phenyl-Thiocyanat und die zweite von Chlordinitrobenzol. Es ist sichtbar, dass die erste Stufe des Dinitro-Phenyl-Thiocyanates unter dem Einfluss des Emulgators nach negativer Richtung verschoben und flacher wird. Die erste Stufe von Chlordinitrobenzol und die zweite von Dinitro-Phenyl-Thiocyanat fliessen zusammen und werden steiler; die zweite Stufe des Chlordinitrobenzols bleibt unverändert. Abb. 2 zeigt das Polarogramm von Heptachlorocyclohexan unter gleichen Umständen. Das Ansteigen der Kurve hört hier bei Anwesenheit des Emulga-

tors völlig auf, dann wird die Kurve nach rascher Zunahme der Stromstärke bei bestimmtem Potential wieder von normalem Verlauf. Es zeigen sich verschiedene Veränderungen auch an den (hier nicht geschilderten) Polarogrammen anderer Depolarisatore.

Es wurde versucht, statt Butyl-Naphthalinsulfonat auch andere anionaktive Emulgatore anzuwenden. Die Ergebnisse waren ganz ähnlich. Andere basische Farbstoffe als Methylenblau (z. B. Fuchsin oder Methylviolett) benutzend, wurden auch Veränderungen in der Gestalt des Polarogramms beobachtet, diese trafen aber auch bei Abwesenheit von Butyl-Naphthalinsulfonsäure ein. Abb. 3 zeigt das Polarogramm von Heptachlorocyclohexan in derselben

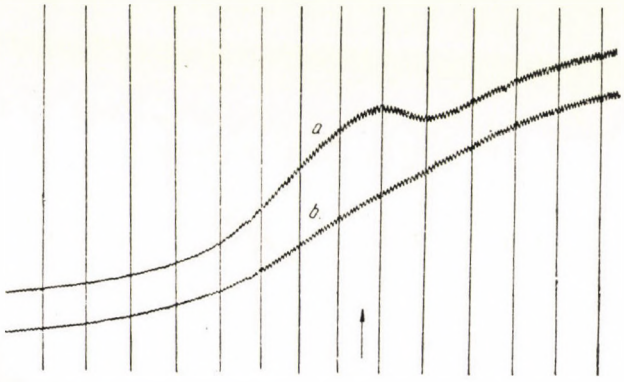


Abb. 3. 0,2 mg Heptachlorocyclohexan pro ml; a) bei Anwesenheit und b) bei Abwesenheit von 0,02 mg/ml Fuchsin. Akk.: 2 V; Empf.: 1/50

Grundlösung bei Gegenwart, sowie bei Abwesenheit von Fuchsin. Die Konzentration des Fuchsins wurde so niedrig (0,02 mg/ml) gewählt, dass seine eigene Reduktionsstufe bei der angewandten Empfindlichkeit nicht bemerkbar sei. Die Änderung besteht hier darin, dass die Stromstärke bei Anwesenheit des Farbstoffes rascher ansteigt, dann bei einem bestimmten Potential stehen bleibt um danach wieder der Gestalt des ohne Farbstoff aufgenommenen Polarogramms zu folgen.

Es wurde versucht in den anscheinend in vielen Formen sich äussernden und von vielen Faktoren abhängenden Erscheinungen gemeinsame Eigenschaften zu finden. Aus dem Vergleich der Punkte von entsprechenden Potentialen der verschiedenen Polarogramme ergibt sich, dass diese Erscheinung eigentlich in der Erniedrigung der Steilheit an einem Teil des Polarogramms und in der Vergrösserung dieser an dem benachbarten Teil besteht. Der die zwei Teile trennende Potentialwert (an den Abbildungen mit Pfeil bezeichnet) stimmt mit dem Desorptionspotential der angewandten oberflächenaktiven Verbindungen (im Falle von Fuchsin mit dem Depolarisationspotential) überein. Es wird sogleich darauf hingewiesen, warum das Depolarisationspotential des

Tabelle I

Die Desorptions-, bzw. Depolarisationspotentiale verschiedener oberflächenaktiver Stoffe und die Grenzpotentiale ihrer Wirkung

(Erläuterungen im Text)

	$E_{1/2}$	E_1	E_2	E_3
Methylenblau + Butyl-Naphthalin-Sulf.	— 0,57	— 0,24	— 0,57	— 0,64
Methylenblau + Fettalkohol-Sulf.	— 0,60	— 0,25	— 0,59	— 0,67
Fuchsin	— 0,82	— 0,47	— 0,82	— 1,01
Methylviolett	— 0,89	— 0,31	— 0,87	— 1,08

Fuchsins (und ebenso das des Methylvioletts) aus diesem Gesichtspunkt gleichwertig mit dem Desorptionspotential ist. Abgesehen von der Möglichkeit, dass die Reduktion irgendeines Depolarisators zugleich auch seine Desorption bedeutet, wenn die reduzierte Form nicht adsorbierbar ist, ist die Reduktion der Triphenylmethan-Farbstoffe mit der Änderung des Dipol-Charakters der Moleküle verbunden, diese kann also eine der Desorption ähnliche Veränderung in der Doppelschicht an der Elektrodenoberfläche hervorrufen. Zur Rolle des Desorptionspotentials zurückkehrend, ist es bestimmt, dass die beobachteten Veränderungen — mit den für andere oberflächenaktive Stoffe bezüglichen Literaturangaben übereinstimmend — durch die Adsorption und Desorption an der Elektrodenoberfläche verursacht werden. Dies ist auch durch die Umformung der Elektrokapillarkurve bei Gegenwart dieser Stoffe bewiesen. Die Grenzpotentiale der an den Polarogrammen verschiedener Depolarisatore beobachteten Veränderungen sind bei Anwesenheit desselben oberflächenaktiven Stoffes gleich. Die Tabelle I zeigt den Zusammenhang der Grenzpotentiale mit dem Desorptions- bzw. Depolarisationspotential im Falle verschiedener oberflächenaktiver Stoffe. Da bedeutet E_1 das Potential, bei dem die Steilheit des deformierten Polarogramms (gegen negativere Potentiale vorrückend) von der zu derselben Stromstärke gehörenden Steilheit des normalen Polarogramms abzuweichen beginnt ; E_2 bedeutet jenes Potential, bei dem es diese wieder erreicht und davon in entgegengesetzter Richtung abweicht ; E_3 ist jenes, bei dem es endgültig zum Wert des normalen Polarogramms zurückkehrt. Es ist zu sehen, dass die mit $E_{1/2}$ bezeichneten Desorptions-, bzw. Depolarisationspotentiale zwischen den Grenzen der Versuchsfehler immer mit den die Kurventeile verringerter, bzw. gesteigerter Steilheit trennenden (E_2) Potentialen übereinstimmen. Der Umtausch des Emulgator-Komponenten verursacht nur eine kleine Abweichung in den Potentialwerten, der Übertritt zu einem anderen Farbstoff bedeutet aber einen wesentlichen Unterschied. Aus der Tabelle ergibt es sich nicht, an den Polarogrammen ist es aber sichtbar, dass die Wirkung von Methylenblau und die von Fuchsin auch in der Reihenfolge der Kurven-

teile verringerter und gesteigerter Steilheit sich voneinander unterscheiden. Im vorigen Falle folgt auf den Teil von erniedrigter Steilheit der steilere Teil des Polarogramms, im letzteren Falle ist es umgekehrt. Dieser Unterschied steht vielleicht damit im Zusammenhang, dass bei Methylenblau die reduzierte Form des Farbstoffes, bei Fuchsin dagegen die oxydierte in dem Prozess teilnimmt.

Diese Erscheinung, die sonst in einigen Beziehungen ähnlich der von WIESNER [4] im Falle des Eosins studierten Wirkung ist, kann in den unter-

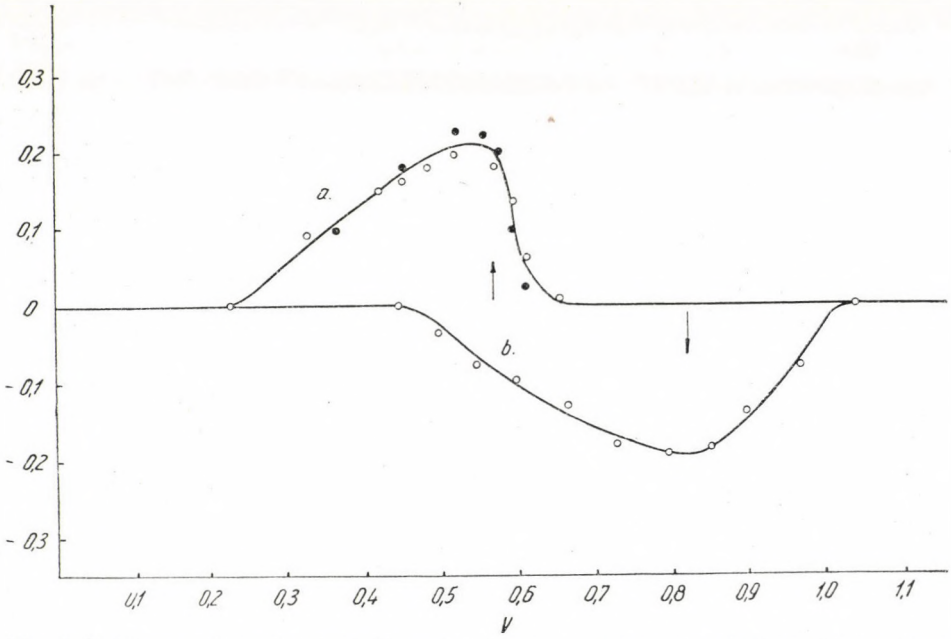


Abb. 4. Ordinate: Die scheinbare Potentialdifferenz zwischen den Stellen gleicher Stromstärke der mit und ohne oberflächenaktive Stoffe aufgenommenen Polarogramme. Abszisse: Potential. Kurve a): Die Wirkung von Methylenblau und Butyl-Naphthalinsulfonat. Kurve b): Die Wirkung von Fuchsin. ● ... Die Werte der Polarogramme von Dinitro-Phenyl-Thiocyanat und Chlordinitrobenzol. ○ ... Die Werte der Polarogramme von Heptachlorocyclohexan

suchten Spezialfällen durch keine der besprochenen Theorien über die Wirkung oberflächenaktiver Stoffe befriedigend erklärt werden. Man müsste nämlich bei jedem Depolarisator einen anderen Verhinderungsprozess annehmen. Noch weniger ist das bei Gegenwart von Fuchsin sowie von Methylviolett bekommene Polarogramm auf der Grundlage der Verhinderung der Reaktion erklärbar. Hier müssten wir statt der Verhinderung der Reaktion die Steigerung bzw. Erleichterung dieser voraussetzen. Die uns zur Verfügung stehenden Versuchsergebnisse genügen zur Erklärung der hier besprochenen Erscheinungen nicht. Es gelingt aber die einstimmige Beschreibung der beobachteten Veränderungen,

wenn man nicht die Veränderung der zu gegebenen Potentialen gehörenden Stromstärke, sondern die Abweichung der den bestimmten Stromstärken entsprechenden Potentiale vor Augen hält. Die Erscheinungen deuten darauf hin, als ob das echte Elektrodenpotential, gegen das elektrokapillare Nullpotential vorrückend, hinter dem berechneten Potential zurückbleibe um dann dieses nach Überschreitung des elektrokapillaren Nullpotentials zu erreichen. Es kann natürlich keine Definition, nur eine bildliche Beschreibung der Erscheinung sein. Neben den in der Tabelle gegebenen Potentialgrenzen, die qualitative Charakteristika der Erscheinung sind, können die Änderungen auf dieser Grundlage auch quantitativ einstimmig beschrieben werden, in der an Abb. 4 sichtbaren Weise. Hier sind die scheinbaren Potentialdifferenzen zwischen den Stellen gleicher Stromstärke der mit und ohne oberflächenaktive Stoffe aufgenommenen Polarogramme als Funktion des Potentials dargestellt. Die erste Kurve bezieht sich auf die Anwendung von Methylenblau und Buthyl-Naphthalinsulfonat, die zweite auf die von Fuchsin. Beide Kurven zeigen eine Krümmung entgegengesetzter Richtung. Die Stelle des Maximums, bzw. Minimums stimmt annähernd mit dem Desorptions- bzw. Depolarisationspotential überein, die auf der Abbildung mit Pfeilen bezeichnet sind. Die vollen Kreise bedeuten neben der ersten Kurve die an dem Polarogramm der Mischung von Dinitro-Phenyl-Thiocyanat und Chlordinitrobenzol gemessenen Werte, die leeren Kreise bedeuten die Werte des Heptachlorocyclohexans. Die gute Übereinstimmung der bei verschiedenen Depolarisatoren gemessenen Werte beweist die Verwendbarkeit dieser Darstellungsweise. Man kann einigermassen ähnliche Kurven durch Differenzial-Polarographie der den oberflächenaktiven Stoff enthaltenden und nicht enthaltenden Lösungen erzielen. Der Ablauf der hier geschilderten Kurven hängt — wie ersichtlich — sowohl von dem benutzten oberflächenaktiven Stoff, als auch vom pH der Lösung ab, er ist aber in den untersuchten Fällen von der Art des Depolarisators unabhängig.

Die hier angeführte Beschreibungsweise, die sich natürlich nur auf die untersuchten Spezialfälle bezieht, ist daneben, dass sie zur einheitlichen Beschreibung der anscheinend verschiedenen Veränderungen brauchbar ist, nicht in Ermangelung aller theoretischen Grundlagen. In der praktischen Polarographie ist nämlich die Dicke der Lösungsschicht, in der der Elektrodenprozess abläuft, überhaupt grösser als die der elektrischen Doppelschicht, die letztere beeinflusst also das Elektrodenpotential nicht. Bei Gegenwart hochmolekularer oberflächenaktiver Stoffe ist es aber gerade so, dass die Dicke der elektrischen Doppelschicht vielfach vergrössert wird und diese vielleicht mit der Dicke der Reaktionsschicht vergleichbar wird. Es folgt hieraus, dass die in der Doppelschicht eintreffenden Veränderungen auch in dem Elektrodenpotential und dadurch in den Elektrodenprozessen ihre Wirkungen empfinden lassen.

In praktischer Hinsicht ist die untersuchte Erscheinung bei der Auswertung superponierter polarographischer Wellen anwendbar. Es kann nämlich

bei zusammenfliessenden polarographischen Wellen auch die Messung der Stromstärke an dem ansteigenden Teil der Kurve nötig sein. In solchem Falle ist es im Interesse der Genauigkeit vorteilhaft eine innere Potential-Bezeichung anzuwenden, für welchen Zweck wir mit CIELESZKY [5] schon ein »Bezeichner-Metall« benutzt hatten. Es ist aber viel vorteilhafter das Potential mit Hilfe eines geeigneten oberflächenaktiven Stoffes ohne Auftreten eines eigenen Stromes zu bezeichnen, wie dies an Abb. 3 sichtbar ist. Die Stromstärke ist hier an dem horizontal gemachten Teil des Polarogramms genau messbar. Dies ist anwendbar z. B. bei der Bestimmung von Heptachlorocyclohexan in technischem HCH mittels Fuchsin.

Andererseits ist diese Erscheinung auch für den Nachweis und vielleicht für die Bestimmung einiger Gruppen der oberflächenaktiven Stoffe anwendbar. Die untersuchte Wirkung ist nämlich spezifischer als die gewöhnliche Messung der Maximadämpfung, weil die vorige nur bei Gegenwart einiger kleinerer Verbindungsgruppen und von der Art dieser Stoffe abhängend auch bei mehr oder weniger verschiedenen Potentialen entsteht. Das Mass des Einflusses hängt von der Konzentration des oberflächenaktiven Stoffes ab und es kann so auch für eine quantitative Untersuchung benutzt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die gleichzeitige Anwesenheit von Methylenblau und organischen Sulfonsäuren in der Grundlösung kann die Steilheit der Polarogramme verschiedener Depolarisatoren zwischen bestimmten Potentialen erniedrigen und an dem benachbarten Teil erhöhen. Eine ähnliche Wirkung zeigen auch einige Triphenylmethan-Farbstoffe. Diese Erscheinung hängt mit der Ausbildung der Adsorptionsschicht an der Quecksilberoberfläche zusammen, ist aber mit keiner der bekannten Theorien für oberflächenaktive Stoffe ausreichend zu erklären. Diese bei verschiedenen Depolarisatoren beobachtete Wirkung kann auf Grund des Zusammenhanges zwischen den Potentialwerten, die den Punkten gleicher Stromstärke der mit und ohne Farbstoff aufgenommenen Polarogramme entsprechen, einheitlich beschrieben werden. Die untersuchte Erscheinung ist bei der Auswertung von superponierten polarographischen Wellen anwendbar. Es scheint daneben möglich, diesen Befund auch für den Nachweis und vielleicht für die Bestimmung einiger Gruppen der oberflächenaktiven Stoffe zu benutzen.

LITERATUR

1. L. MEITES und T. MEITES: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 177 (1951).
2. J. HEYROVSKÝ und M. MÁTYÁS: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **16**, 455 (1951).
3. M. LOSCHKAREW und A. KRJUKOWA: Докл. Акад. Наук (Ber. Akad. Wiss. SSSR) **62**, 97 (1948).
4. K. WIESNER: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **12**, 594 (1947).
5. V. CIELESZKY und GY. JOSEPOVITS: Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 199 (1950).
6. P. ZUMAN: Chemické Zvesti **8**, 789 (1955).

DISKUSSION

J. HEYROVSKÝ: In der besprochenen Frage spielt die Orientierung der Molekel eine wichtige Rolle. Im Falle solcher adsorptiven Stoffe ist die erste Schicht unbedingt orientiert, also nicht beweglich. Es ist aus der Kinetik bekannt, dass eine Reaktion wegen der Unbeweglichkeit der Molekel stark verlangsamt

werden kann. Ich stelle mir die dünne HELMHOLTZsche Doppelschicht als gefroren vor. Die Analogie ist berechtigt und wir wissen, dass bei tiefen Temperaturen die Reaktionen langsam vor sich gehen. In solchen Fällen finden nur Einelektronen-Prozesse statt und in den besprochenen Fällen läuft die Reaktion durch mehrere Elektronen. Ich meine, der Grund für den Bremseffekt liegt teilweise in der Orientierung der Schicht an der Elektroden-Oberfläche. Gewiss sollen auch andere Faktoren berücksichtigt werden, wie z. B. die Änderung der Zusammensetzung der Doppelschicht, als Folge einer Bildung der Leukoform, z. B. bei der Reduktion des Methylenblaus usw. Die Leukoform kann adsorbiert werden, wodurch Kapazitätsänderungen auftreten. Diese Kapazitätsänderung kann mit den primitiven oszillographischen V—t Kurven untersucht werden. Dort zeigen sich die Kapazitätserscheinungen viel ausgeprägter als die elektrolytischen. Probierten Sie die Untersuchungen auch in diese Richtung auszudehnen? Ich denke, Kollege JOSEPOVITS gleich, dass es eine verwikkelte Erscheinung sei, welche wenigstens von 3 Faktoren abhängt und mit Instrumententechnik zu studieren ist. Das wäre meine Meinung. Ich gratuliere zu der Arbeit.

G. JOSEPOVITS: Ich danke Ihnen, Herr Professor. Es ist natürlich, dass die besprochenen Beobachtungen sich nur auf die untersuchten komplizierten Spezialfälle beziehen und die allgemeine Gültigkeit der erwähnten Theorie nicht berühren. Ich wollte ein anschauliches Bild über die besprochenen Erscheinungen geben, bis die folgenden Versuche mehr erraten lassen werden.

CHANGES IN THE SHAPE OF POLAROGRAMS IN THE PRESENCE OF CERTAIN MAXIMA SUPPRESSORS

(Research Institute for Plant Protection, Budapest)

Gy. Josepovits

Summary

The addition of methyleneblue with organic sulphonic acids to a basic solution may reduce the steepness of polarograms of various depolarisers between certain potentials, with a corresponding increase in steepness in the proximity of this potential-interval. A similar effect is obtained by using triphenylmethane dyes. Although the phenomenon is correlated with the formation of an adsorption layer on the mercury surface, it cannot be satisfactorily explained by any of the known theories of surface-active substances. However, a uniform interpretation of the effect observed with various depolarisers is offered on the basis of the correlation existing between the potential values corresponding to the points of identical current intensity in polarograms recorded with and without the addition of dyes. The phenomenon studied readily lends itself to the evaluation of superposed polarographic waves. In addition to that, it seems possible to use this process for the detection and possibly also for the determination of certain groups of surface-active substances.

Dr. Gyula JOSEPOVITS Budapest, II., Herman Ottó út 15.

SAUERSTOFFBESTIMMUNGEN

M. Březina

(Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag)

Der Sauerstoff wird an der Quecksilbertropfelektrode in zwei Stufen reduziert (Abb. 1). In der ersten Stufe tritt die Reduktion des Sauerstoffes zum Peroxyd ein, und zwar in Lösungen vom pH 1 bis 9 bei etwa —0,05 V und in 0,1n NaOH bei —0,20 V. In der zweiten Stufe erfolgt die Reduktion des entstandenen Wasserstoffperoxyds zu Wasser — in sauren Lösungen liegt diese Stufe bei —0,8 V, in neutralen, alkalischen und ammoniakalischen bei —1,1 V. Bei pH 10 ist die Reduktion des Sauerstoffes zu Peroxyd reversibel, so dass in Gegenwart von Sauerstoff und Peroxyd eine zusammenhängende anodisch-kathodische Stufe erhalten werden kann.

An der ersten Stufe des Sauerstoffes beobachtet man in verdünnten Elektrolytlösungen (z. B. in 0,001n KCl) ein Maximum, das durch oberflächenaktive Stoffe unterdrückt wird. Diese Erniedrigung des Sauerstoffmaximums ist ein Mass der Konzentration der oberflächenaktiven Stoffe.

Durch Spuren von Eisen und seinen Komplexen (z. B. Hämin) wird die Wasserstoffperoxydreduktion katalysiert, das sich durch die Verschiebung eines Teiles der Peroxydstufe zu positiveren Potentialen äussert, so dass an der polarographischen Kurve der Sauerstoffreduktion drei Wellen gefunden werden können. Die peroxydische Stufe teilt sich auch in leeren konzentrierten Lösungen, besonders von Alkalihydroxyden (auch vom Reinheitsgrad p. a.), durch Einwirkung des als Verunreinigung vorliegenden Eisens (Abb. 2).

Als Vergleichslösung bei der Sauerstoffbestimmung gelangt am häufigsten eine längere Zeit frei an der Luft stehende einfache Grundlösung zur Verwendung. Die in der Lösung je nach der Temperatur und dem Barometerstand enthaltene Sauerstoffmenge wird aus Tabellen entnommen. Bei 25°, 760 mm Hg Druck sind z. B. in 0,1n KCl 0,552 Vol% von Sauerstoff gelöst.

Der Diffusionsstrom des Sauerstoffes in Lösungen frei an der Luft bleibt auch bei einer Temperaturveränderung nahezu konstant, da die durch die Temperatur hervorgerufene Veränderung des Diffusionsstromes durch die Veränderung der Löslichkeit des Sauerstoffes in der Lösung kompensiert wird.

Da der Sauerstoff in Lösungen, die der Luft ausgesetzt sind, in einer annähernd millimolaren Konzentration aufgelöst ist, stören sehr häufig seine

Reduktionsstufen die Stufen anderer Depolarisatoren. Ausserdem beeinflussen die an der Elektrode entstandenen Hydroxylionen in ungepuffertem Medium die übrigen Elektrodenvorgänge, fällen z. B. die Kationen der Schwermetalle als Hydroxyde aus, oder neutralisieren die Wasserstoffionen. Deswegen beseitigt man den Sauerstoff aus der Lösung durch Einleitung eines Gases, da

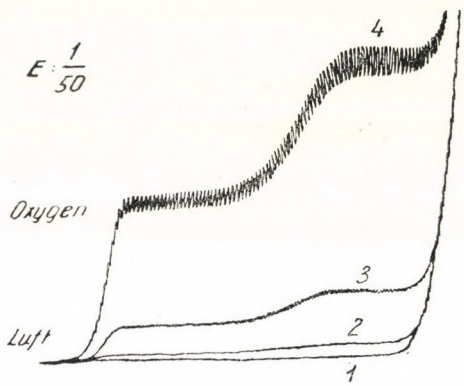


Abb. 1. Sauerstoffbestimmung in technischen Gasen. Der Grundelektrolyt wurde gesättigt: 1. mit reinstem Wasserstoff, 2. mit technisch reinem Stickstoff, 3. mit Luft, 4. mit technisch reinem Sauerstoff. Die Stufenhöhen sind dem Sauerstoffgehalt im Gas proportional

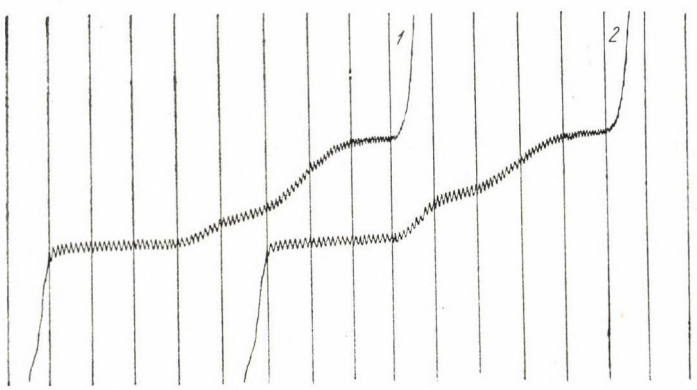


Abb. 2. Katalytische Wirkung des Eisens auf die Wasserstoffperoxydreduktion. 1) 0,5m KOH, 0,005% Gelatine, 2) $2 \cdot 10^{-6}$m Fe^{3+} zugegeben; von 0 V, 200 mV/Absz., 1 : 30

z. B. Stickstoff oder Wasserstoff die Eigenschaften der polarographierten Lösung nicht verändert. In einigen Fällen kann der Sauerstoff durch Zugabe von Sulfit reduziert werden. Dies kann jedoch nur in alkalischer Lösung geschehen, da in saurer Lösung die Reduktionsstufe des Schwefeldioxyds stört. Durch die Anwendung von Sulfit, das eine äusserst reaktive Verbindung ist, setzt man sich der Gefahr einer Veränderung der untersuchten Lösung aus.

Die Hauptvorteile der polarographischen Sauerstoffbestimmungsmethode sind ihre Einfachheit, Schnelligkeit und die Möglichkeit einer kontinuellen Verfolgung der Sauerstoffveränderungen besonders in unbeschädigten biologischen Systemen, in Wasser und in Gasen. Die Genauigkeit der Analyse, die 1% erreichen kann, beruht vor allem in der Herstellung einer Eichlösung von bekannter Sauerstoffkonzentration.

Bei der Sauerstoffbestimmung im Blut kann entweder der physikalisch im Plasma gelöste Sauerstoff oder der chemisch gebundene Sauerstoff bestimmt werden. Zur Bestimmung des gelösten Sauerstoffes konstruierte WIESINGER [1] eine sehr sinnreiche Apparatur (Abb. 3), die jedweden Luftzutritt in die analysierte Probe verhindert und das Arbeiten bei der konstanten Temperatur des menschlichen Körpers ermöglicht. Das Blut nimmt er mit einer Injektionsspritze ab, deren toter Raum durch Paraffinöl mit einem Zusatz von 0,03 g Kaliumoxalat und 0,05 g Natriumfluorid pro 20 ml Blut gefüllt ist und spritzt es dann in das Zentrifugenglas. Die Probe wird dreieinhalb Minuten bei 900 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Das Plasma wird in das polarographische Gefäss überführt und polarographiert. Die ganze Analyse dauert nur 14 Minuten, stellt aber sowohl an den Analytiker wie an die Apparatur grosse Ansprüche. Den gesamten Sauerstoffgehalt im Blute kann man nach der Dissoziationskurve des Oxyhämoglobins ausrechnen.

ŠIMÁNĚ [2] schlug eine Methode zur Bestimmung des chemisch im Blut gebundenen Sauerstoffes nach seiner Freimachung durch Eisen(III)-cyanid direkt im polarographischen Gefäss unter einer Schicht von Paraffinöl vor. Gleiche Mengen von 1%iger Kaliumeisen(III)-cyanid-Lösung, 0,1n Borax-Lösung, 0,2n KCl-Lösung und von 0,25% Saponinlösung (zur Hämolyse) mit 0,5% Gelatine werden vermischt und etwa 2 Stunden unter jeweiligem Aufschütteln bei Zimmertemperatur offen an der frischen Luft stehen gelassen. 5 ml der so vorbereiteten Lösung werden im polarographischen Gefässe mit einer etwa 1 cm hohen Paraffinölschicht bedeckt und polarographiert, wobei die Konzentration des aufgelösten Sauerstoffes festgestellt wird. Nun werden 0,2 ml Blut anaerob unter das Paraffinöl zugegeben und die Lösung mit einem gebogenen Glasstab vorsichtig unter der Paraffinölschicht gemischt. Nach fünf Minuten, innerhalb der sich der Sauerstoff aus dem Oxyhämoglobin freimacht, wird die Kurve von neuem aufgenommen. Aus dem Höhenverhältnis der Stufen in der Lösung ohne Blut und mit Blut wird der Sauerstoffgehalt im Blut bestimmt. Die ganze Analyse dauert 10—15 Minuten.

Bei der Auswertung des Polarogramms muss man die Summe beider Sauerstoffstufen in der Standardlösung sowie in der Lösung mit dem Blut messen (Abb. 4), da sich nach der Blutzugabe die erste Stufe auf Kosten der zweiten Stufe vergrössert. Wahrscheinlich geschieht dies durch einen infolge der Einwirkung von Katalase verursachten katalytischen Zerfall des bei der Reduktion des Sauerstoffes an der Elektrode gebildeten Wasserstoffperoxyds.

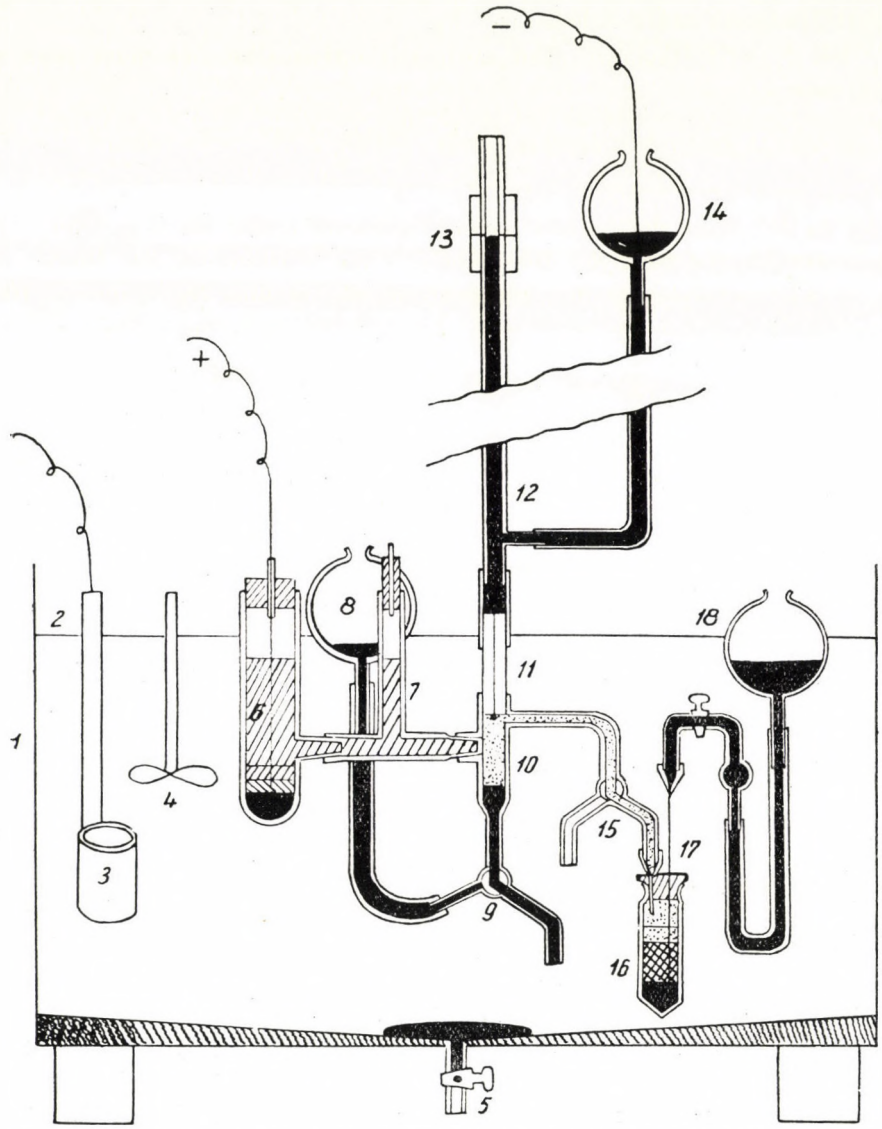


Abb. 3. Apparat zur Sauerstoffbestimmung im Plasma nach WIESINGER 1. Wasserbad; 2. Wasserspiegel; 3. Heizkörper; 4. Rührwerk; 5. Qecksilberausfluss; 6. Gesättigte Kalomelelektrode; 7. KCl-Brücke mit Frittenfilter; 8. Quecksilberreservoir zur Füllung des polarographischen Gefässes; 9. Dreiweghahn zur Füllung und Entleerung des polarographischen Gefässes; 10. polarographisches Gefäss von 1,5 ml Inhalt mit dem Plasma; 11. Tropfelektrode; 12. kommunizierendes Rohr mit Quecksilber; 13. Spiegel mit Marke; 14. Quecksilberreservoir für die Kapillare; 15. Dreiweghahn zur Füllung des polarographischen Gefässes; 16. Zentrifugenglas mit Plasma und Erythrocyten; 17. hohle Nadel; 18. Quecksilberreservoir für das Zentrifugenglas

Die erste Stufe wird jedoch bereits in der Grundlösung ohne Blut durch das Eisen(III)-cyanid etwas erhöht.

Die Sauerstoffkonzentration im analysierten Blut berechnet man nach der Formel:

$$\text{Vol\% } O_2 = \frac{(h_2 - h_1) \cdot z \cdot b \cdot v}{h_1 \cdot 760},$$

wo h_1, h_2 die Höhe der Summe beider Sauerstoffstufen im Grundelektrolyten und in der Lösung nach der Blutzugabe, z die Verdünnung des Blutes durch den Grundelektrolyten, b den Barometerdruck im mm Hg, v die in 100 ml der Grundlösung bei der gegebenen Temperatur enthaltene Sauerstoffmenge

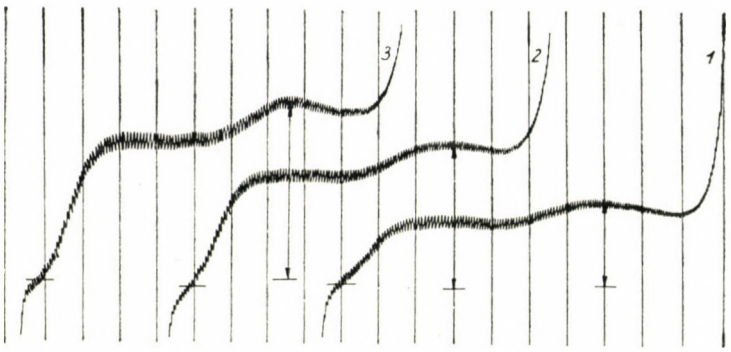


Abb. 4. Bestimmung des chemisch gebundenen Sauerstoffes im Blut nach Freimachung mit Hexacyanoferrat(III). Beschreibung der Methode im Text. 1) Hexacyanoferrat(III)-Grundlösung, 2) mit venösem Blut (11,6 Vol% Sauerstoff), 3) mit luftgesättigtem Blut (20,2 Vol% Sauerstoff). Kurven von 0 V angefangen (gegen Hg-Boden), 200 mV/Absz., Empf. 1 : 100

in ml bedeuten. Den letzten Faktor muss man aus Tabellen entnehmen oder mit Hilfe einiger anderer Methoden für eine gewisse Lösung bestimmen.

Bei der Berechnung der Sättigung des venösen oder arteriellen Blutes genügt es, die Höhenunterschiede der Summe beider Stufen in der Standard- und in der Probelösung des venösen bzw. arteriellen Blutes mit demjenigen Höhenunterschiede zu vergleichen, der in der Lösung des mit Luftsauerstoff gesättigten Blutes erhalten wurde.

$$\text{\% der Sättigung} = \frac{h_2 - h_1}{h_3 - h_1} 100$$

h_1, h_2 — siehe oben, h_3 = Höhe der Summe der Sauerstoffstufen in der Standardlösung nach Zugabe des gesättigten Blutes. Die Analyse beider Blutproben muss natürlich unter gleichen Bedingungen durchgeführt werden. Zur Bestimmung der Sättigung des Blutes braucht man also überhaupt nichts über die

Sauerstoffkonzentration in der Standardlösung und über den Barometerdruck zu wissen.

Die Genauigkeit dieser Methode ist wegen der schlechten Ablesbarkeit der Sauerstoffstufen, die unmittelbar nach der grossen Stufe der Eisen(III)-cyanidreduktion folgen, leider nicht grösser als 3—5%, es muss daher ein zweckmässigeres Oxydationsmittel als Eisen(III)-cyanid gesucht werden.

Mit Hilfe der Methode nach ŠIMÁNĚ wurde die Sauerstoffkapazität des Blutes gesunder Männer und von Männern, bei denen durch Anilinvergiftung Cyanose hervorgerufen wurde, verfolgt. Bei gesunden Männern wurde durchschnittlich ein Wert von 20,9 Vol %, bei schwervergifteten 9,1—13,6 Vol% Sauerstoff gefunden [3].

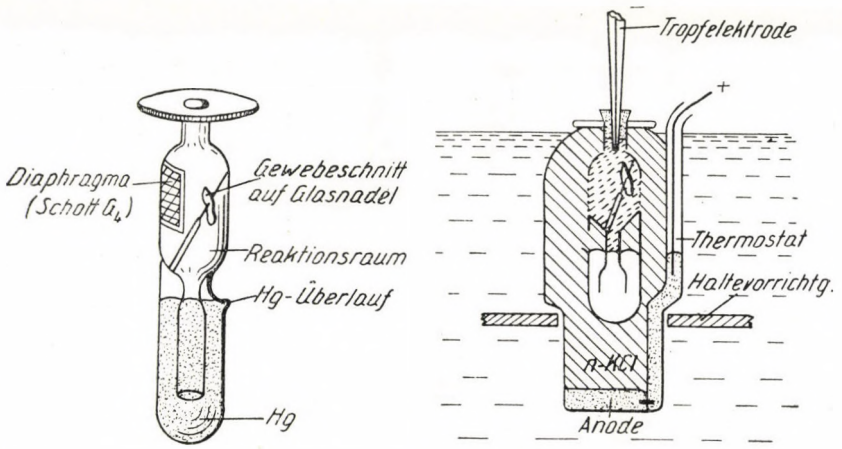


Abb. 5. Gefäss nach DIRSCHERL zur Verfolgung der Atmung von Gewebeschnitten

Ähnlich wie das Plasma können auch die Lymphe [4] und andere biologische Flüssigkeiten analysiert werden.

Die polarographische Methode kann mit grossem Vorteil besonders zur Verfolgung der Atmung von Gewebeschnitten ausgenützt werden. Das Gewebe wurde bisher in eine Nährlösung untergetaucht (Abb. 5) und die sinkende Höhe der Sauerstoffstufe bei einem konstanten Potential gemessen [5]. ŠERÁK konstruierte zum Studium der Atmung von Gewebeschnitten eine spezielle Zelle (Abb. 6), die dem Gewebe einen genügenden Sauerstoffzuschub ermöglicht. Den Gewebeschnitt bringt er in einer geschlossenen Kammer auf einer Cellophanmembran unter, durch welche das Gewebe den benötigten Sauerstoff aus der polarographierten Nährlösung entnimmt. Diese Lösung kann gut ausgewechselt werden, so dass das Gewebe stets eine genügende Menge von Sauerstoff erhält. Seine Lebensdauer ist hier viel länger als wenn der verbrauchte Sauerstoff nicht ersetzt wird. Die Nährlösung wird beständig gerührt, nur

während der polarographischen Registrierung der Sauerstoffabnahme, die in bestimmten Intervallen durchgeführt wird, wird die Lösung in Ruhe gelassen.

Eine Reihe von Autoren verwendete für das Studium der Sauerstoffveränderungen im lebenden unbeschädigten Gewebe, wie z. B. in der Haut [6], in der Gehirnrinde, im Herzmuskel und in Nerven, feste Platinelektroden [7], doch können ihre Methoden bis jetzt nicht als verlässlich empfohlen werden. Die Elektrodenvorgänge und die Diffusionsverhältnisse in der Nähe solcher Elektroden unterscheiden sich wesentlich von den Prozessen an der Queck-

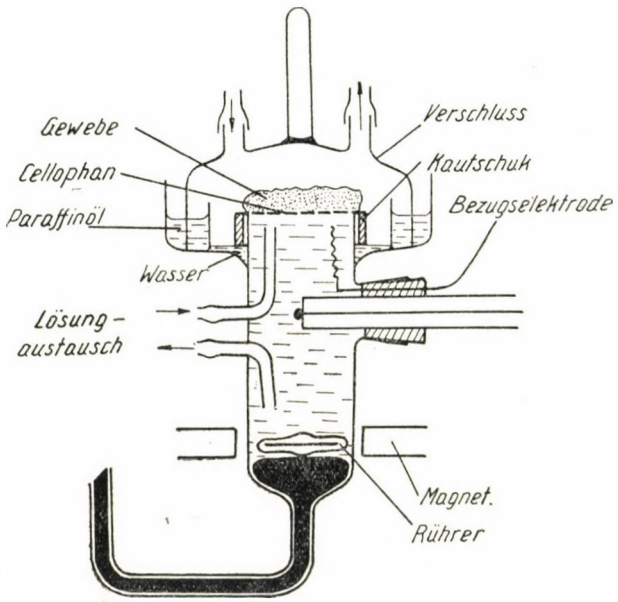


Abb. 6. Gefäss nach ŠERÁK zur Verfolgung der Atmung von Gewebeschnitten

silbertropfelektrode. Der grösste Nachteil der festen Elektroden ist die konstante, nicht erneuerte Oberfläche, so dass auch andere Prozesse als nur die Sauerstoffreduktion erwogen werden müssen. Da die Mehrzahl der Autoren die genauen experimentellen Bedingungen nicht anführen, sowie die gesamte polarographische Kurve der Sauerstoffreduktion nicht messen und ihre Ergebnisse wenig reproduzieren, besteht die ernste Befürchtung, dass der von ihnen gemessene Strom nicht allein der Reduktion des Sauerstoffes im Gewebe entspricht.

Aus der Sauerstoffabnahme in Nährlösungen kann die Aktivität von Mikroorganismen, bzw. ihre Vernichtung durch bakteriostatische Substanzen, verfolgt werden. So wurde z. B. die Aktivität von Penicillin aus der Atmungsunterdrückung des Staphylococcus bestimmt.

Der Sauerstoffverbrauch bei enzymatischen Prozessen kann polarographisch laufend verzeichnet werden. Der Schleifkontakt wird auf die konstante

Spannung 0,5 oder 1,5 V, bei der der Diffusionsstrom der ersten bzw. der zweiten Sauerstoffstufe erreicht wird, eingestellt. Die die Umdrehung des potentiometrischen Rades betätigende Kupplung wird ausgeschaltet, wodurch sich nur mehr die photographische Kasette weiterdreht. Durch die von Hand eingeschaltete Abszissenlampe werden die Abszissen in bestimmten Zeitintervallen eingezeichnet.

Polarographisch wurde auch die Veränderung des Sauerstoffgehaltes in der Nährlösung bei der Photosynthese und Respiration der Algen [9] verfolgt. Bei Beleuchtung der Lösung nahm der Sauerstoff zu, bei Abwendung des Lichtes wurde der Sauerstoff verbraucht.

Mit Hilfe der polarographischen Methode wurde der Sauerstoff in verschiedenen Obst- und Traubensäften [10—12], in der Milch [13], im Bier [14], Wein [15] und Essig [16] bestimmt.

Bei der Sauerstoffbestimmung in Böden [9, 17] wird die Probe mit einer von der Luft befreiten 0,1n Kaliumchloridlösung durchgeschüttelt und der Sauerstoffzuwachs in dieser Lösung gemessen.

Bei der Analyse von Mineralwässern [18] wird die Flasche schnell mit einem doppelt durchbohrten Stopfen versehen, durch den zwei Röhren, die eine bis dicht unter den Stopfen und die andere bis zum Boden der Flasche führen. Durch einen mit Wasserstoff ausgeübten Druck werden zuerst 10 bis 20 ml des Wassers abgelassen und hierauf 5 ml in das polarographische Gefäss, aus dem vorher der Sauerstoff völlig durch Wasserstoff vertrieben wurde, übergedrückt.

Polarographisch wurde auch der Grundstoffwechsel der Fische verfolgt [19]. Der Sauerstoffgehalt in einem Aquarium wurde bei konstant angelegter Spannung kontinuierlich registriert.

Die kontinuelle Registrierung der Sauerstoffmenge wurde auch zur Analyse von See-, Meeres- [20] und Flusswässern [21] benützt. Zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in Tiefenwässern [22], wurde ein spezielles polarographisches Gefäss konstruiert, das tief unter die Wasserfläche versenkt wurde.

Von besonderer Wichtigkeit ist die Messung des Sauerstoffgehaltes in Abwässern, wozu die polarographische Methode sehr geeignet ist. In den meisten Fällen verleiht die Menge der aufgelösten Salze der Lösung eine genügende Leitfähigkeit und die oberflächenaktiven Stoffe unterdrücken völlig das Maximum an der Reduktionskurve des Sauerstoffes, so dass Abwässerproben direkt polarographiert werden können.

Bei der Analyse von Gasen wird die Probe in einen Grundelektrolyten eingeleitet, der hierauf polarographiert wird. Bei geringeren Sauerstoffmengen benützt man als Grundelektrolyten Methanol oder Äthanol mit Calciumchlorid.

Novák [23] konstruierte zur kontinuellen Messung des Sauerstoffgehaltes in verschiedenen Gasen ein Spezialgefäss mit getrennten Elektroden. Als Kathode wird hier das Bodenquecksilber ausgebildet, die Anode ist Platin-

blech in saurer Ferri-Ferrosulfat-Lösung. Das Gas wird mit konstanter Geschwindigkeit in den Grundelektrolyten von 0,1n Kaliumchlorid dicht über der Kathode eingeleitet. An die Elektroden wird eine konstante Spannung von 0,9 V angelegt.

Die polarographische Methode wird zur Sauerstoffbestimmung immer häufiger benützt und es beschäftigen sich bereits mehr als 200 Arbeiten mit diesem Thema.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Hauptvorteile der polarographischen Sauerstoffbestimmungsmethode sind ihre Einfachheit, Schnelligkeit und die Möglichkeit einer kontinuellen Verfolgung der Sauerstoffveränderungen besonders in unbeschädigten biologischen Systemen, im Wasser und in Gasen. Die polarographische Methode wurde in zahlreichen Arbeiten zur Sauerstoffbestimmung im Blut, in der Lymphe, in Obstsäften, Wein, Essig, Bier, Mineralwässern, Abwässern und Böden verwendet. Sie ermöglicht weiter auch das Studium der Atmung von Gewebeschnitten, Mikroorganismen und Pflanzen.

LITERATUR

In der Literaturübersicht sind nur die wichstigsten Arbeiten angeführt, die anderen Zitate siehe im Buche: M. Březina und P. Zuman: Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie (Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig) 1956, 800 S.

1. K. Weisinger: Die polarographische Messung der Sauerstoffspannung des Blutes (Schwabe et Co. Basel) 1950.
2. J. Šimáně: Proc. I. internat. polarograph. Congress. Prague, **1951**, I, 781.
   F. Šantavý: Proc. I. internat. polarograph. Congress Prague, **1951** III, 632.
3. V. Vojíř: bisher nicht veröffentlicht.
4. H. K. Beecher, R. Follansbee, A. J. Murphy und F. N. Craig: J. Biol. Chemistry **146**, 197 (1942).
5. W. Dirscherl und H. U. Bergmeyer: Biochem. Z. **321**, 68 (1950).
6. H. Montgomery und O. Horwitz: J. Clin. Invest. **29**, 1120 (1950).
7. P. W. Davis und F. Brink: Rev. Sci. Instruments **13**, 524 (1942).
8. A. Trifonov: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **13**, 23 (1948).
9. H. G. Petering und F. Daniels: J. Amer. Chem. Soc. **60**, 2796 (1938).
10. V. M. Lewis und H. A. McKenzie: Anal. Chem. **19**, 643 (1947).
11. J. R. Lindquist: Food. Ind. **19**, 182, 288, 290 (1947); C. A. **41**, 7565 (1947).
12. H. Rentschler und H. Tanner: Z. Lebensmittel-Unters. Forsch. **96**, 161 (1953).
13. G. H. Hartmann und O. F. Garret: J. Dairy Sci. **26**, 337 (1943).
14. J. Nestaas: Brygmesteren **1950**, 233.
15. H. de Almeida: Anais Inst. Vinho Porto **1**, 11 (1952); C. A. **47**, 2931 (1953).
16. J. Heyrovský, I. Smoleň und S. Šťastný: Věstnik českoslov. Akad. zemědělské **6**, 490 (1930).
17. K. S. Karsten: Amer. J. Bot. **25**, 14 (1938).
18. J. Heyrovský: Věstnik balneol. klimatol. spol. **14**, 88 (1934).
19. W. A. Spoor: Science (New York) **108**, 421 (1948).
20. K. G. Wood: Science (Washington) **117**, 560 (1953).
21. P. A. Giguère und L. Lauzier: Canad. J. Res. Sect. B **23**, 76, 217, 223 (1945).
22. W. M. Manning: Ecology **21**, 509 (1940).
23. J. V. A. Novák: Chem. Listy, **49**, 1476 (1955); Collection Czehoslov. Chem. Communs. **21**, 662 (1956).

DISKUSSION

G. BARTA : Was den Vergleich der festen Elektroden mit der tropfenden Elektrode bei den molekulargelösten Sauerstoffbestimmungen anbetrifft, kann ich die Aufassung des Herrn Vortragenden darüber nur bekräftigen. Ich kenne die diesbezügliche Literatur nur auf dem Gebiete des Mikrobiologie und Getränkeindustrie. Ich möchte nur die Arbeit von CHAPON und URION herausgreifen, die sich mit den Oxydationsverhältnissen des Bieres beschäftigten

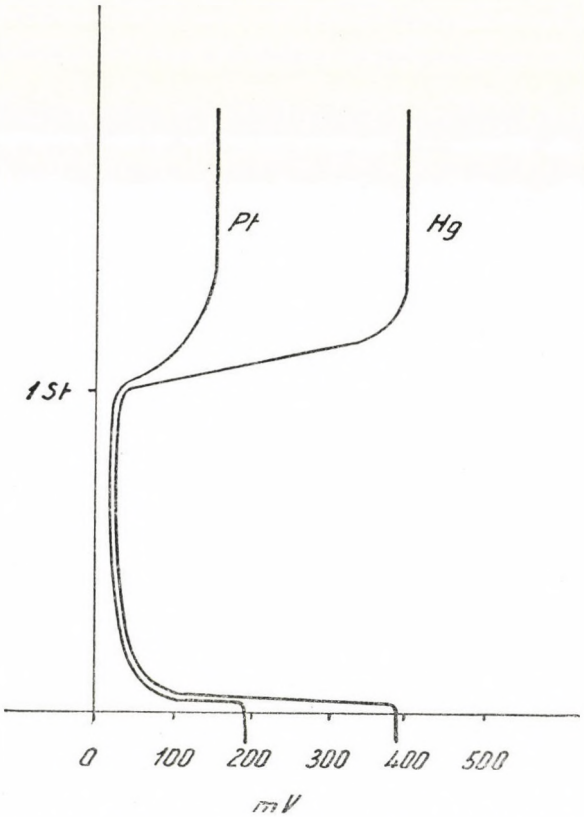


Abb. 7. Zugabe und Entfernung des Sauerstoffes im Bier

und ihre Studien darüber auf dem Europäischen Bräuereikongress 1953 — abgehalten in Nizza — vorgetragen haben. Zur Bestimmung des Oxydations-Reduktionspotentiales im Bier konstruierten sie eine Messzelle, in der nebeneinander die polierte Pt- und Hg-Tropfelektrode angebracht wurden. (Für erstere diente eine Kalomelelektrode als Bezugselektrode). Das zu untersuchende Bier wurde im Messgefäss unter Stickstoffatm. gehalten (im N_2-Strom). Die betreffenden Potentiale wurden gleichzeitig auf demselben Diagramm registriert. Es wurde die Ebolution des Potentials zahlreicher Bierproben — mit, oder ohne Zusatz reduzierender Substanzen — unter der Einwirkung einer gewissen Zahl von Oxydationsmitteln verfolgt, wovon die interessantesten waren : molekularer Sauerstoff und Dichlorphenolindophenol (DCI).

Ich möchte Ihre Geduld nicht zu sehr in Anspruch nehmen, aber gestatten Sie mir, dass ich Ihnen, des besseren Verständnisses wegen, aus obiger Arbeit einige Zeit-Spannungsdiagramme vorstelle.

Wie aus dem Diagramm in Abb. 7 ersichtlich ist, erwies die Einführung einer einzigen Luftblase einen Auschlag des Galvanometers von schätzungs-

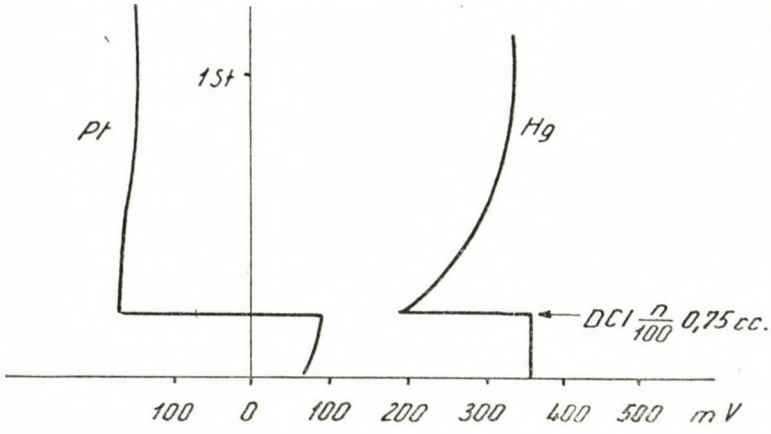


Abb. 8. Zugabe von DCI

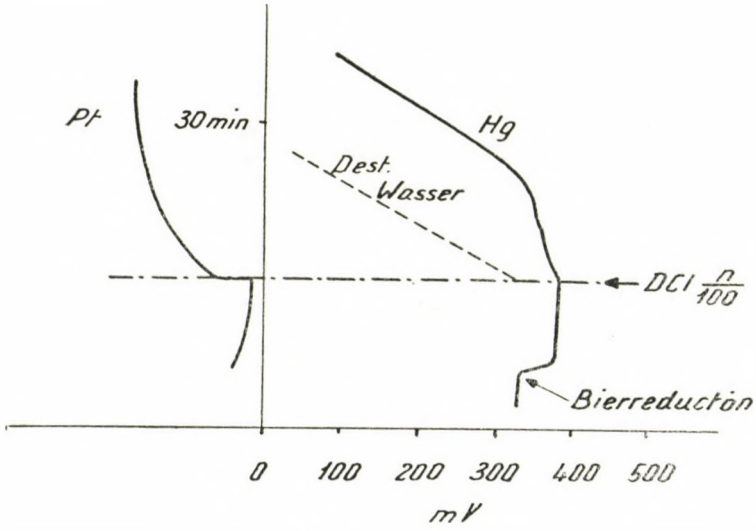


Abb. 9. Zugabe von Reducton und DCI

weise 350 mV ; das ist typisch für die Empfindlichkeit der Elektroden gegenüber Sauerstoff. Wenn man die Sauerstoffspuren mittels Stickstoffdurchblasens restlos entfernte, erreichte die tropfende Elektrode ihren ursprünglichen Gleichgewichtszustand wieder, die Pt-Elektrode erreichte ihn aber nicht. Wenn man eine grössere Menge DCI dem Bier zusetzte, so zeigte das Diagramm einen Ausschlag von schätzungsweise 200 mV, wie das in Abb. 8 ersichtlich ist.

Bei der tropfenden Elektrode stellt sich ungefähr in einer Stunde wieder die Gleichgewichtslage ein, was aber bei der grossen Inertie der Pt-Elektrode nicht der Fall ist.

In Abb. 9, 10 und 11 wurden die Effekte von Bierredukton-, Ascorbinsäure- und Glutathiondosierungen und kurz darauf folgende DCI-Zufuhr

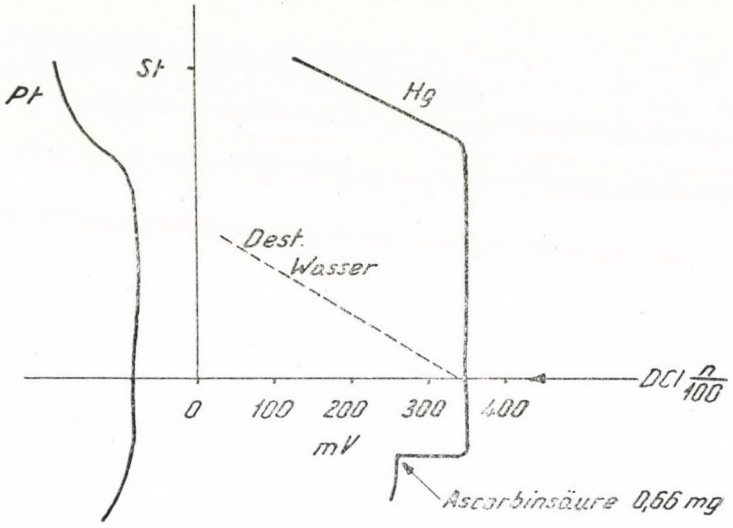


Abb. 10. Zugabe von Ascorbinsäure und DCI

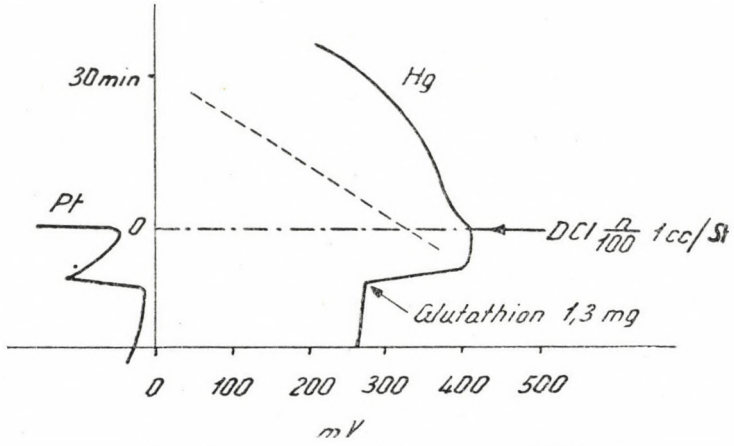


Abb. 11. Zugabe von Glutathion und DCI

diagrammatisch aufgezeichnet. Die Diagramme sprechen für sich selbst: aus den Vergleichsdiagrammen ist die starke Inertie der festen Elektrode gegenüber der tropfenden sofort ersichtlich. Die Tropfelektrode reagiert auf die Dosierungen viel schneller und schärfer und kehrt viel flinker in ihre ursprüngliche Gleichgewichtslage zurück. Das ist ja eigentlich gar nicht auffällig, wenn man sich der

grossen Sensibilität der Pt-Elektrode gegenüber der Polarisation bewusst ist.

Obzwar mich diese Arbeit schon damals überzeugt hat, dass bei der Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in biologischen Flüssigkeiten die tropfende Elektrode sich besser bewährt, gibt es scheinbar doch Möglichkeiten mit festen Elektroden so zu messen, dass sie ihre Inertie, wenigstens teilweise, verlieren. TÖDT und Mitarbeiter haben mittels einer polierten rotierenden Pt-Elektrode und Pb-Anode den Sauerstoffverbrauch von in Nährflüssigkeiten suspendierten Mikroorganismen gemessen und dabei gute Resultate erhalten (Zeitschrift für Biochemie 1952, und Zeitschrift für Naturforsch. 1954).

Das Prinzip dieser neuartigen elektrochemischen O_2-Bestimmungsmethode ist, dass beim Einhalten gewisser Bedingungen, zwischen der Stromintensität genannter Galvanelemente und zwischen den gegen die edlere Elektrode diffundierenden Sauerstoffmengen ein linearer Zusammenhang besteht. Was den Reaktionsmechanismus des Prozesses anbetrifft, so handelt es sich um eine kathodische Reduktion des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffes, also depolarisiert sich die Kathode. Mit einem genügend empfindlichen Galvanometer sind 10^{-12} Mol O_2/ml noch bestimmbar. Neuestens benützt man auch Zn/Au oder Zn/Amalgam Elektrodenpaare. Angeblich haben TÖDT und Mitarbeiter ihr Verfahren derartig vervollkommnet, dass sie damit in Backhefe und Penicillinfabriken die Betriebskontrolle des gelösten Sauerstoffes in gärenden belüfteten Würzen überprüfen können.

In welchem Masse die Resultate von TÖDT reproduzierbar sind, kann ich nicht beurteilen. Ich möchte den Herrn Kollegen fragen, was Sie von dieser Sache halten? Ich sehe nämlich einen Widerspruch zwischen TÖDT's Resultaten und der bekannten Inertie der Pt-Elektrode, was allerdings vielleicht bei obiger Elektrodenzusammenstellung teilweise eliminierbar sein dürfte

M. BŘEZINA: Ich sprach hauptsächlich von festen Elektroden. Ich kenne mehrere Arbeiten, nach denen der Sauerstoffgehalt mit solchen Elektroden bestimmt wird. Wer aber mit solchen festen Elektroden arbeitet, der weiss, dass die Reproduzierbarkeit der Stufen — es handelt sich nicht um die gewöhnlichen polarographischen Kurven — sehr schwer ist. Bei nichtruhenden, z. B. rotierenden oder vibrierenden Elektroden ist die Reproduzibilität der Stufen schon besser.

P. ZUMAN: Oft wird die mit Hilfe der festen Elektroden durchgeführte Potentialmessung mit der Strommessung verwechselt. Die hier angegebenen Kurven sprechen nur davon, wie schnell sich das Potential einstellt. Der Potentialfall bildet sich bei Zugabe von Reduktonen und übrigen Stoffen verhältnismässig langsam aus. Die Elektrode sagt aber nichts über ihre Fähigkeit, Strom zu messen. Selbst das Platin, das als Sauerstoffelektrode ein gewisses Potential besitzt, ist selten als Strommesser anzuwenden.

G. BARTA: Die tropfende Elektrode kann natürlich verwendet werden, wir müssen aber den Weg zu den festen Elektroden suchen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die feste Elektrode bei Sauerstoffbestimmungen nicht tadellos funktioniert, da es wegen seiner Inertie zeitraubend ist. Die tropfende Elektrode wirkt schneller und indiziert genauer.

Wenn es noch keine tadellos funktionierende feste Elektrode gibt, wäre es sehr angebracht, eine einwandfreie zu konstruieren. Das Quecksilber der Tropfelektrode wirkt nähmlich auf die meisten Mikroorganismen vergiftend, deshalb ist sie zu Sauerstoffbestimmungen auf mikrobiologischem Gebiet leider nicht anwendbar.

DETERMINATION OF OXYGEN

M. Březina

(Polarographic Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague)

Summary

The determination of oxygen by polarography offers the advantages of being extremely simple, quick and of making possible the continuous recording of the changes in the oxygen content, mainly in undisturbed biological systems, in water and in gases. The polarographic method was applied with success in numerous instances of oxygen determination in blood, lymph, fruit juices, wine, vinegar, beer, milk, mineral waters, sewages and soils. In addition to that, the method lends itself readily to studies into the respiration of tissue sections, microorganisms and plants.

Dr. Miroslav Březina Praha II., Opletalova 25.

DIE POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG DES NATRIUMDITHIONITS

F. PÉTER

(Institut für Organische Chemische Technologie der Technischen Universität, Budapest)

Das Natriumdithionit, $Na_2S_2O_4$ wird wegen seiner kräftigen reduzierenden Wirkung vielseitig angewendet, so z. B. wird es zu der Bestimmung der Diazoniumsalze, in der Analytik zur Reduktion der Nitrogruppe, zur Synthese der Antiluetica, zur Reduktion der Beizfarbstoffe benützt.

Bei der Anwendung des Dithionits bedeutet seine leichte Oxydierbarkeit ein ständiges Problem, da seine Wirksamkeit in Gegenwart von Luft schon bei Zimmertemperatur rasch abnimmt. Seine quantitative Bestimmung ist also eine wichtige Aufgabe. Zu diesem Zwecke finden wir in der Literatur [1—14] zahlreiche Verfahren, die auf der oxydativen Titrierung, oder auf der Aufnahme des Sauerstoffes beruhen. Da sich neben Dithionit in jedem Falle übrige reduzierende Schwefelverbindungen befinden, strebt man nach selektiven Bestimmungen. Eine der besten der selektiven Analysen ist die potentiometrische Methode von ROYER [15] und die Jodanalyse von KURTENACKER [16]. In der Praxis ist die letztere verbreitet. Diese Bestimmung ist verhältnismässig lang und schwierig, die Luftempfindlichkeit des Dithionits macht sie unsicher und sie ist nur in dem Falle anzuwenden, wenn sich in dem geprüften System ausser den beachteten Schwefelverbindungen kein mit Jod oxydierbares Reduziermittel befindet.

Zur Beseitigung dieser Nachteile schien die polarographische Methode als geeignet. Wir stellten uns die Aufgabe die Bedingungen der polarographischen Bestimmung des Dithionits zu untersuchen. Dazu war die eingehende Analyse des polarographischen Verhaltens des Dithionits durchzuführen.

Auf die Möglichkeit der Bestimmung des Dithionits wurde 1948 von BREARLEY und STARKIE [17] hingewiesen. Das Verfahren wurde ausführlich nicht beschrieben, nur eine einzige Aufnahme, die anodische Welle des Dithionits wurde gezeigt. Der Halbstufenpotentialwert (—0,4 V) wird angegeben, und es wird erwähnt, dass die Welle des Dithionits von den Wellen des Sulfids, des Sulfits und des Thiosulfats gut gesondert ist. FURNESS [18] befasste sich i. J. 1950 schon eingehender mit der polarographischen Bestimmung des Dithionits und der verwandten Verbindungen. Er benützt als Grundlösung lm NH_4OH, das 0,5m Diammoniumhydrogenphosphat und 0,01% Gelatine

enthielt. Er bestimmte das Halbstufenpotential einer 0,015 m/l Dithionit-Lösung bei −0,43 V gegen gesättigte Kalomelelektrode und beobachtete bei −1,03 V eine kleine kathodische Stufe. Neuerdings untersuchte ČERMÁK [19] den Mechanismus der Elektrodreaktion des Dithionits und stellte fest, dass bei höherer Temperatur das Monomere SO_2^--Radikal an dem Elektrodprozess teilnimmt.

Eigene Versuche

Die Analyse des polarographischen Verhaltens des Dithionits

Da das Dithionit in saurem Medium zerfällt, wurde damit nur in alkalischem Gebiet gearbeitet. Es bildete sich zwischen den pH Werten 7—14 überall eine gut auswertbare maximumfreie anodische Stufe. Das bei Eiskühlung in einer

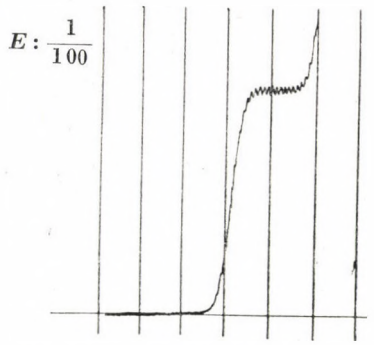


Abb. 1. Die erste anodische Welle des Dithionits

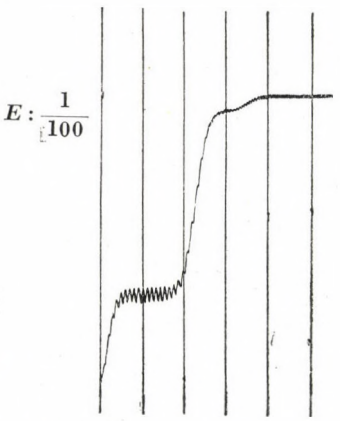


Abb. 2. Die zweite anodische Welle des Dithionits

1 m/l NaOH Lösung aufgenommene Polarogramm ist auf Abb. 1 gezeigt. Das Halbstufenpotential ist gegen die gesättigte Kalomelelektrode −0,499 V. Bei den bei Zimmertemperatur aufgenommenen Polarogrammen kann eine zweite Stufe beobachtet werden, deren Halbstufenpotential bei negativeren Potentialen liegt (Abb. 2).

Während der zum Studium der zweiten Stufe durchgeführten Versuche wurde die Ausbildung der beiden Stufen mit der Erhöhung der Temperatur untersucht. Während zwischen 10—20° nur die erste Stufe zu beobachten ist, nimmt diese Stufe mit der steigenden Temperatur immer ab, wobei die zweite Stufe allmählich zunimmt (Abb. 3). Zwischen 80—90° verschwindet die erste Stufe vollständig und es ist nur die zweite Stufe zu beobachten. Diese Umbildung war reversibel, da bei der Verminderung der Temperatur die erste Stufe

allmählich erhöht wurde, während die zweite abnahm und zwischen 10—20° war wieder nur die erste Stufe zu sehen. Da während der Steigerung der Temperatur das Verhältnis der beiden Stufen sich änderte, konnte der Temperaturkoeffizient nicht festgestellt werden, aber es ergab sich, dass die gemeinsame Höhe der beiden Stufen mit der Erhöhung der Temperatur zunimmt. Da das Dithionit auf Wirkung der Wärme stark abgebaut wird, verminderte sich die Erhöhung bei höheren Temperaturen und dann hörte sie völlig auf. Zwar wurde

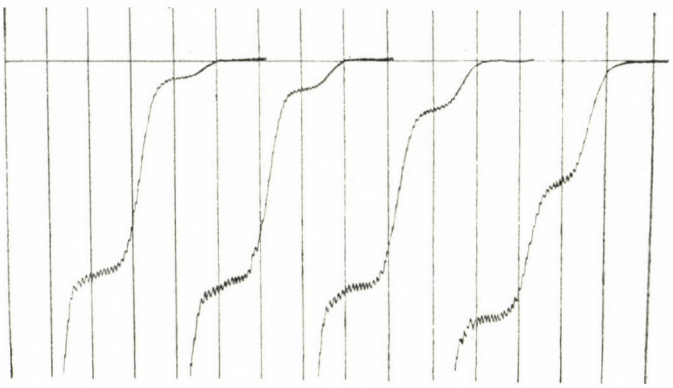


Abb. 3. Die Änderung der ersten und zweiten anodischen Welle des Dithionits mit der Temperatur

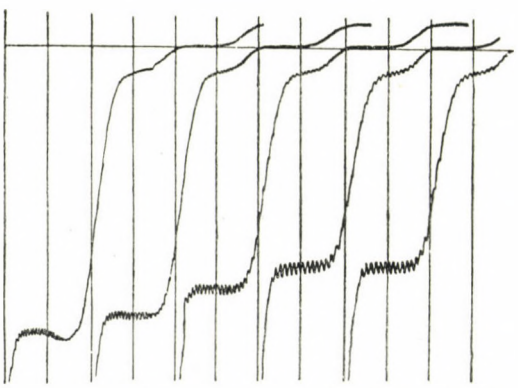


Abb. 4. Die Änderung des Grenzstromes mit der Höhe des Quecksilbergefässes

die zahlenmässige Auswertung der Änderung der Stufenhöhe wegen dem Wärmezerfall erschwert, es kann jedoch festgestellt werden, dass die Erhöhung der zweiten Stufe höher ist, als die Abnahme der ersten.

Wir folgerten aus den obigen Angaben, dass die zweite Stufe durch ein Produkt, das aus Dithionit entsteht und mit ihm in dynamischem Gleichgewicht steht, verursacht wird. Da das Dithionit in wässerigem Medium auf Sulfoxylsäure und Sulfit zerfällt, schien die Annahme gerechtfertigt, dass die

zweite Stufe durch das Sulfoxylatanion hervorgerufen wird. In den späteren Untersuchungen zeigte sich, dass die erste und zweite Stufe auf die Änderungen des Quecksilberniveaus verschiedener Weise reagiert (Abb. 4). Während bei der ersten Stufe $I_D = k \cdot \sqrt{h}$ ist, ist bei der zweiten $I_D = k \cdot h^\circ$ (Abb. 5). Das zeigt, dass die zweite Stufe nicht einem in der Lösung vorhandenen, sondern einem an der Oberfläche der Elektrode entstandenen Produkt entspricht,

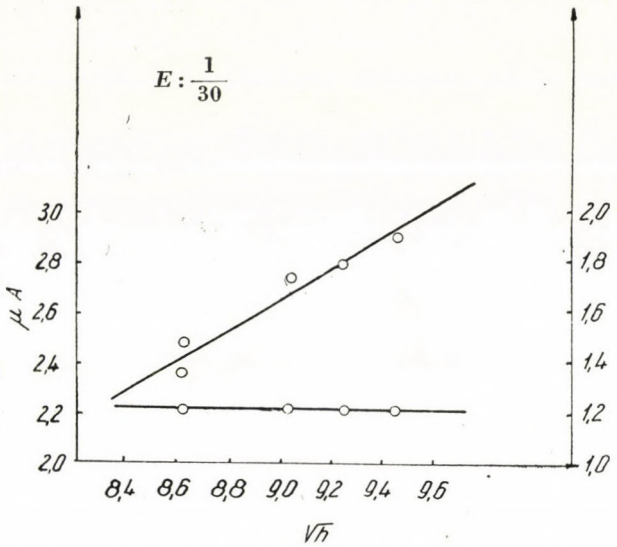


Abb. 5. Die Änderung des Grenzstromes mit der Höhe des Quecksilbergefässes

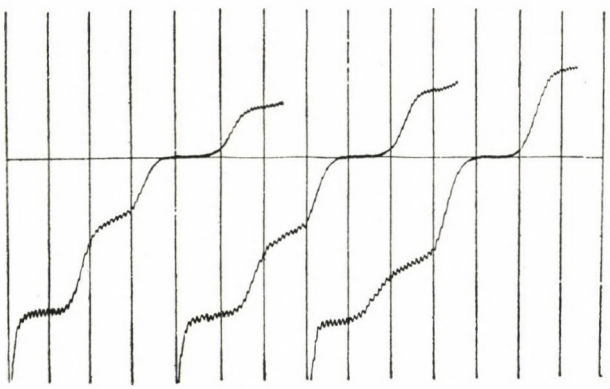


Abb. 6. Die Änderung der zweiten anodischen und ersten kathodischen Welle des Dithionits mit der Temperatur

d. h. eine Folge des kinetischen Stromes ist. Eine analytische Bestimmung des entstandenen Produktes ist natürlich nicht durchführbar, so muss man die Natur dieser elektroaktiven Modifikation des Dithionits mit anderen Methoden nachweisen.

Bei der Bestimmung der Wirkung der Temperatur zeigte sich neben der zweiten anodischen Stufe auch eine auswertbare Stufe an der katodischen Seite. Es war auffallend, dass die Höhe der kathodischen Stufe bei jeder Temperatur mit der Höhe der zweiten anodischen Stufe gleich war (Abb. 6). Das weist darauf hin, dass die auf Wirkung der Wärme aus $S_2O_4^{2-}$ entstandene Modifikation sowohl in anodischer, wie auch in kathodischer Reaktion an der tropfenden Quecksilberelektrode und zwar in beiden Fällen mit der gleichen Elektronenzahl teilnimmt.

Der Mechanismus des Elektrodenprozesses der ersten anodischen Stufe

Die erste anodische Stufe des Dithionits in alkalischem Medium entspricht nach KOLTHOFF und LINGANE [20] der folgenden Reaktion:

$$S_2O_4^{2-} + 4\,OH^- \rightleftarrows 2SO_3^{2-} + 2H_2O + 2e\,. \tag{1}$$

Da sie den Beweis der Gleichung nicht mitteilen, führten wir Untersuchungen durch, um festzustellen, ob die anodische Stufe eine Folge der Oxydation des Dithionits nach Gleichung (1), oder eine der Oxydation des Quecksilbers sei. Bekanntlich reagieren die meisten Anionen an der Quecksilberelektrode nicht mit einem einfachen Elektronenaustausch und eben bei den meisten Schwefelverbindungen (bei Sulfit [22, 23]; bei Thiosulfat [22, 23]; bei Sulfid [22, 23]; bei den Merkaptanen [24]; bei Cystein [25] usw.) wurde bestätigt, dass auch das Quecksilber im Elektrodenprozess teilnimmt. So kann im Falle des Dithionits der folgende Elektrodenprozess angenommen werden:

$$2S_2O_4^{2-} + Hg \rightleftarrows Hg(S_2O_4)_2^{2-} + 2e. \tag{2}$$

Um die Richtigkeit einer der beiden Gleichungen zu entscheiden, wurden einerseits die Stufengleichungen der Elektrodenprozesse, anderseits die Endprodukte der Elektrolyse untersucht.

Auf Grund der Stufengleichungen schien die Bestimmung des Zusammenhanges des Halbstufenpotentiale und der Dithionitkonzentration als zweckmässig. Da den Gleichungen (1) bzw. (2) der Zusammenhang

$$\varepsilon = \varepsilon_0 - \frac{0{,}060}{2} \log \frac{I^2}{I_D - I}\,, \text{ bzw. } \varepsilon = \varepsilon_0 - \frac{0{,}060}{2} \log \frac{I}{(I_D - I)^2} \tag{3}$$

entspricht, gelangt man mit der Einführung von $I = \frac{I_d}{2}$ zu den folgenden Halbstufenpotentialgleichungen:

$$\varepsilon_{1/2} = \varepsilon_0 - \frac{0{,}060}{2} \log I_D\,; \text{ bzw. } \varepsilon_{1/2} = \varepsilon_0 + \frac{0{,}060}{2} \log I_D.$$

Im Falle des oxydativen Elektrodenprozesses muss $\varepsilon_{1/2}$ mit der Erhöhung der Konzentration in positive, bei Entstehung eines Quecksilberkomplexes in negative Richtung verschoben werden. Die Ergebnisse standen mit beiden Annahmen in Widerspruch, da das Halbstufenpotential in dem Empfindlichkeitsbereich 1/500—1/5 von der Konzentration unabhängig ist. Das gestellte Problem kann also durch thermodynamische Zusammenhänge nicht gelöst werden.

Auch die Analyse der in der Elektrodenreaktion entstehenden Produkte schien keine leichte Aufgabe zu sein. Gemäss der Gleichung (1) entsteht Sulfit, während der Gleichung (2) nach $Hg(S_2O_4)_2^{2-}$. Wir strebten dem Nachweis der Produkte durch andauernde Elektrolyse zu. Da das Dithionit wegen seiner leichten Oxydierbarkeit schon im voraus mit Sulfit verunreinigt ist, wäre nur die Konzentrationszunahme des Sulfits ein Beweis für Elektrolysenprodukt. Diese Aufgabe schien analytisch mit der erforderten Genauigkeit als unmöglich.

Die erwähnten Untersuchungen — die Bestimmung des Zusammenhanges des Halbstufenpotentials und der Konzentration des Dithionits einerseits, und die analytische Untersuchung andererseits — ermöglichen also keine endgültige Folgerungen bezüglich der Elektrodengleichung der ersten anodischen Stufe.

Die quantitative polarographische Bestimmung des Dithionits

Nach der Untersuchung des polarographischen Verhaltens des Dithionits konnten die Bedingungen einer quantitativen Bestimmung ausgearbeitet werden. Es musste einerseits festgestellt werden, ob die Zerfallsprodukte neben Dithionit die quantitative Auswertung der Polarogramme stören, andererseits musste die Methode einer entsprechend genauen Herstellung des Eichdiagrammes gesucht werden.

Die Wirkung der Begleitionen

Das Dithionit enthält infolge seiner ausserordentlichen Autoxydabilität immer übrige Schwefelverbindungen. Nach Angaben der Literatur muss man vor allem mit der Anwesenheit von SO_3^{2-}, S^{2-} und $S_2O_3^{2-}$ rechnen.

Da nach Revenda [22] in saurem Medium das Sulfit, nach eigenen Untersuchungen auch das Thiosulfat inaktiv ist, beobachteten wir erstens die Wirkung des Sulfids um die eventuelle Störwirkung festzustellen.

Sulfid ist im alkalischen Medium in einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ m/l noch nachweisbar. Wenn zur Lösung des Dithionits Sulfid in dieser Konzentration zugegeben wurde, verzerrte das ursprüngliche Polarogramm des

Dithionits soweit, dass die Bestimmung der Stufenhöhe unmöglich wurde. Es wurde beobachtet, dass die Störwirkung des Sulfids vollkommen beseitigt wird, wenn zu der Lösung frisch gefälltes Zinkcarbonat zugegeben wird. Die erste Aufnahme der Abb. 7 zeigt das Polarogramm des Dithionits, die zweite Aufnahme das gemeinsame Polarogramm von Dithionit und Sulfid, auf der

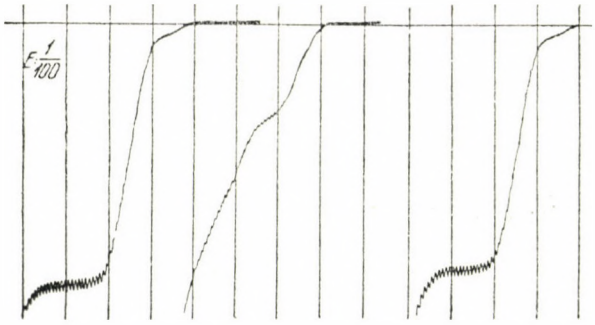


Abb. 7. Das gemeinsame Polarogramm von Dithionit und Sulfid

dritten Aufnahme ist das Polarogramm zu sehen, wo der Lösung, die auch Sulfid enthielt, Zinkcarbonat zugegeben wurde.

Herstellung des Eichdiagramms

Aus Dithionit kann durch Einmessung eine Lösungsreihe mit bekannter Konzentration nicht hergestellt werden, da bei der Verdünnung vor der polarographischen Aufnahme und bei der Einführung der Lösung in die Zelle die Wirkung der Luft unvermeidlich ist. Wir fanden es am zweckmässigsten die Konzentration der polarographierten Lösung unmittelbar nach der Aufnahme des Polarogramms zu bestimmen. Es musste also gesichert werden, dass das Dithionit während des Polarographierens bis zu der Titration nicht oxydiert werde. Bei der Untersuchung, unter welchen Bedingungen die Konzentration der Dithionitlösung gleichbleibend gehalten werden kann, wurde festgestellt, dass die Konzentration des Dithionits bei Zimmertemperatur auch dann abnimmt, wenn durch Anwendung von Stickstoff die Wirkung der Luft beseitigt wird. Bei einer Verminderung der Temperatur verbessert sich die Stabilität, aber sogar noch bei der Temperatur des schmelzenden Eises findet eine kleine langsame Zersetzung statt. Unter solchen Umständen zeigten sich über mehrere Stunden Stufen mit gleicher Höhe, falls die geprüften Lösungen in Ruhe gehalten wurden (Abb. 8).

Die zur Herstellung des Eichdiagramms nötigen Aufnahmen wurden also in einem mit Stickstoff entlüfteten, mit schmelzendem Eis gekühlten und

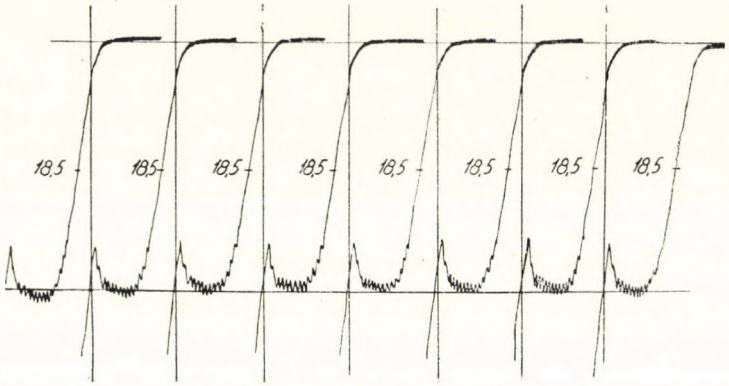


Abb. 8. Die Werte der Wellenhöhe einer Dithionitlösung während sechsstündigem Stehen

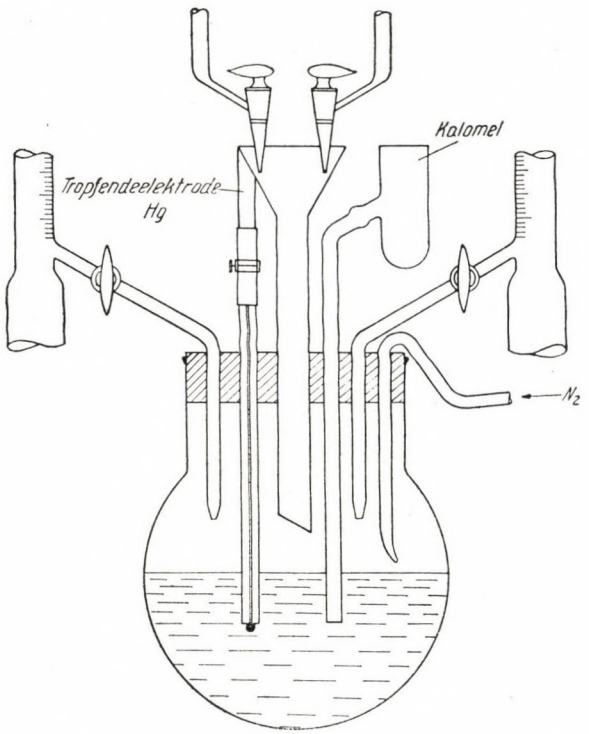


Abb. 9. Einrichtung zur Aufnahme des Eichdiagrammes

verdunkelten Kolben aufgenommen. In einer 1 m/l NaOH-Lösung wurde Dithionit gelöst um eine 10^{-2} m/l Konzentration zu erreichen. Ein gemessener Teil dieser Stammlösung wurde in einen mit Gummistopfen versehenen Kugelkolben eingeführt, in dem sich ein magnetischer Rührer befand. Ausser dem Stromschlüssel der Kalomelelektrode, der Einführung des Stickstoffes und

der tropfenden Quecksilberkapillare wurden auch die Titrierbüretten, die Jod, Thiosulfat, Essigsäure und Natronlauge in entsprechender Konzentration enthielten, durch den Gummistopfen in den Kolben eingeführt (Abb. 9). Nach dem Austreiben der Luft und nach der Einstellung der Temperatur wurde ein Polarogramm von der Lösung aufgenommen und dann die Titrierung durchgeführt. Dann wurde die Lösung weggeschüttet und in den gespülten Kolben von der Stammlösung ein dem vorangehenden gleiches Volum eingeführt, sodann die Aufnahme und die Titrierung wiederholt. Diese Arbeit wurde so

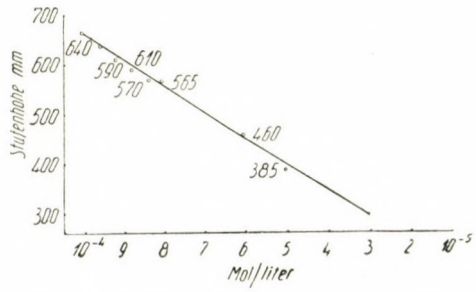


Abb. 10. Das Eichdiagramm

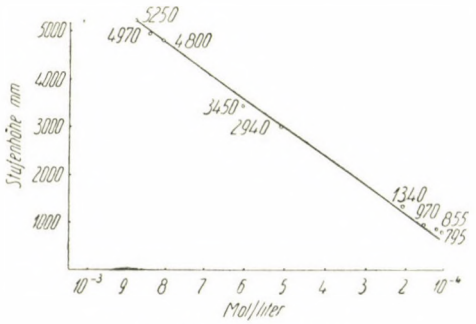


Abb. 11. Das Eichdiagramm

lang fortgeführt, bis die der freien Luft ausgesetzte Stammlösung allmählich zerfiel. So wurden die einzelnen Aufnahmen und Titrierungen mit Lösungen von abnehmender Konzentration durchgeführt. Das Mass des Zerfalles wurde mit der Schüttelung der Stammlösung beliebig beeinflusst. Die Aufnahme des Eichdiagrammes wurde mit dieser Methode mehrmals wiederholt und eine einwandfreie Übereinstimmung beobachtet. Gemäss dem Eichdiagramm besteht zwischen der Stufenhöhe und der Konzentration des Dithionits im Konzentrationsbereich von $9 \cdot 10^{-4}$ m/l und $3 \cdot 10^{-5}$ m/l ein linearer Zusammenhang (Abb. 10, 11). Die Empfindlichkeit der Methode ermöglicht also die quantitative Bestimmung einer Lösung mit einer Konzentration bis ungefähr 0,05 g/l.

Analysengang

Bei der Prüfung eines Pulvers, oder einer Lösung mit unbekannter Konzentration muss die Probe erst orientierend untersucht werden. Ist die Konzentration des Dithionits grösser als der geprüfte Bereich, so muss die Lösung verdünnt werden um die Messung mit der entsprechenden Empfindlichkeit durchzuführen. Das wichtigste ist der Ausschluss des Sauerstoffes während der Verdünnung. Das kann am besten so erreicht werden, dass der Verdünnerlösung reines Natriumsulfit zugegeben wird, das mit dem gelöstem Sauerstoff binnen einigen Sekunden reagiert; sein Überschuss stört dabei nicht, da das Sulfit in alkalischem Medium polarographisch inaktiv ist.

Vor der Aufnahme des Polarogrammes muss die Lösung unter 20° gekühlt werden, dass die zweite anodische, die Auswertung der Stufenhöhe störende Stufe nicht entstehe. Das pH der Lösung soll mindestens 13 betragen um die störende Wirkung des Thiosulfats zu beseitigen. Geben die orientierenden Aufnahmen eine Sulfidstufe an, so soll der Lösung Zinkcarbonat zugegeben werden. Die Stufenhöhe des Polarogramms muss mit Hilfe eines entsprechend hergestellten Eichdiagramms ausgewertet werden.

Die polarographische Einrichtung und die angewendeten Stoffe

Es wurde mit einem HEYROVSKÝschen Polarograph Typ V 301 gearbeitet. Zu den orientierenden Aufnahmen wurde eine Rohrzelle angewendet. Die gesättigte Kalomelreferenzelektrode war mit der Zelle über eine Natriumnitrat-Agar Brücke verbunden. Die gelöste Luft wurde durch mit einer alkalischen Pyrogallol-Lösung gereinigtem Stickstoff vertrieben. Zur Einhaltung der gewünschten Temperatur wurde ein Höppler-Ultrathermostat angewendet.

Das Dithionit war ein Produkt der Badischen Anilin- und Sodafabrik. Mit der Jod-Formaldehyd Titrierung erwies es sich als 78,6%ig. Die benützte Lauge war p. a. Merck, ihre Lösung enthielt keine Produkte, die an der tropfenden Quecksilberelektrode aktiv waren.*

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden zur Bestimmung des polarographischen Verhaltens des Natriumdithionits und zur Ausarbeitung der Bedingungen einer quantitativen Bestimmung Untersuchungen durchgeführt.

1. Natriumdithionit gab unter 15—20° im pH-Bereich 7—14 eine gut auswertbare anodische Stufe.

2. Zwischen 20—25° entstand eine zweite anodische und eine ihr gleich hohe kathodische Stufe. Mit der Erhöhung der Temperatur nahmen beide Stufen gleichmässig zu, während die erste anodische Stufe allmählich abnahm.

3. Die zweite anodische und die ihr gleiche kathodische Stufe besassen einen kinetischen Charakter, der durch ihren Temperaturkoeffizienten und durch die Wirkung des Quecksilberniveaus bestätigt wurde. Die anodisch-kathodische Stufe kann einem an der Elektrodenoberfläche entstandenen Produkt zugeschrieben werden.

* Nach Abschluss unserer Arbeit und der ersten Ungarisch-Tschechoslowakischen Polarographischen Konferenz i. J. 1955 haben wir den kompletten Text des Artikels von ČERMÁK erhalten (Chem. Zvesti **8**, 714, 1954), aus dem hervorgeht, dass unsere Beobachtungen über die auf Einfluss der Wärme entstehenden anodisch-kathodischen Stufen übereinstimmen. ČERMÁK schreibt die Stufen der aus den als Dimer betrachteten $S_2O_4^{2-}$ entstehenden SO_2^--Radikalen zu.

4. Die Elektrodengleichung der ersten anodischen Stufe ist nicht geklärt. Es ergeben sich zwei Möglichkeiten :

$$a)\quad S_2O_4^{2-} + 4OH \rightleftarrows 2SO_3^{2-} + 2H_2O + 2e$$

$$b)\quad 2S_2O_4^{2-} + Hg \rightleftarrows Hg(S_2O_4)_2^{2-}$$

Die thermodynamischen Berechnungen, bzw. die analytischen Untersuchungen nach einer Dauerelektrolyse entscheiden nicht, ob es sich hier um eine reine Oxydation, oder um eine Komplexbildung bei der Entstehung der Welle handle.

5. Zu der quantitativen Bestimmung des Dithionits ist die polarographische Methode geeignet. Zur Bestimmung des Zusammenhanges zwischen der Konzentration und der Stufenhöhe kann die erste anodische Stufe benützt werden. Zur Herstellung eines entsprechend genauen Eichdiagrammes müssen erst die Polarogramme der Lösungen von gegebener Konzentration aufgenommen werden, dann soll der Dithionitgehalt durch Titrierung bestimmt werden. Der Konzentrationsbereich der Messung ist : $9 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-5}$ gM/l.

6. Thiosulfat und Sulfit stören die quantitative Bestimmung nicht, bei Anwesenheit von Sulfid ist aber die genaue Messung, also die quantitative Auswertung der Dithionitstufe unmöglich. Die störende Wirkung der Sulfide kann durch Zugabe von Zinkcarbonat beseitigt werden.

LITERATUR

1. R. W. Merrimann: J. Soc. Chem. Ind. **42**, 290 (1953).
2. P. Heermann : Färberei und textilchemische Untersuchungen (Springer Verlag, Berlin) 1935.
3. E. H. Ekker : J. Chem. Soc. **66**, 479 (1894).
4. A. Kurtenacker : Z. anal. Chem. **64**, 56 (1924).
5. E. Knecht : J. Soc. Dyers Colourists **31**, 94 (1915).
6. F. S. Sinnatt : J. Soc. Dyers Colourists **31**, 94 (1910).
7. S. H. Wilkess : J. Soc. Chem. Ind. **42**, 356 (1953).
8. F. L. Hahn : Anal. Chim. Acta **3**, 165 (1949).
9. A. Binz und H. Bertram : Angew. Chem. **18**, 168 (1905).
10. E. Knecht und E. Hibbert : Ber. **40**, 3819 (1907).
11. F. Seyewetz und A. Bloch : J. Soc. Chem. Ind. **25**, 394 (1906).
12. J. H. Smith : J. Amer. Chem. Soc. **43**, 1307 (1921).
13. G. Schaeffer : Handbuch der Färberei (Konradin Verlag, Stuttgart) 1949, Bd. IV.
14. A. Airoldi und F. Marchi : Amer. Dyestuff Reporter **44**, 283 (1955).
15. G. L. Royer : Amer. Dyestuff Reporter **41**, 601 (1952).
16. A. Kurtenacker : Analytische Chemie der Sauerstoffsäure des Schwefels (Enke Verlag, Stuttgart) 1938.
17. G. Brearley und J. Starkie : J. Soc. Dyers Colourists **64**, 278 (1948).
18. W. Furness : J. Soc. Dyers Colourists **66**, 270 (1950).
19. V. Čermák : Leybolds Polarographische Berichte **2**, 247 (1954).
20. I. M. Holthoff und J. J. Lingane : Polarography 2nd ed. (Interscience Publishers, New York—London) 1952, Vol. II.
21. W. M. Latimer : The Oxidation Potentials of Elements and their Aqueous Solutions (Prentice Hall, New York) 1952.
22. J. Revenda : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **6**, 453 (1934).
23. I. M. Kolthoff und C. S. Miller : J. Amer. Chem. Soc. **63**, 1405 (1941).
24. G. Sartori und A. Liberti : Proc. internat. polarograph. Congress. Prague, **1**, 250 (1951).
25. I. M. Kolthoff und C. Barnum : J. Amer. Chem. Soc. **62**, 3061 (1940).

DISKUSSION

J. Koryta : Da Sie — wie Sie erwähnten — die Arbeit unseres Kollegen Čermák nicht bekommen haben, will ich seine Endergebnisse mitteilen. Er nimmt an, dass in Dithionit-Lösungen ein Dimerisationsgleichgewicht zwischen $S_2O_4^{2-}$ und SO_2^- besteht. Wird Dithionit erwärmt, so entstehen zwei Stufen und Čermáks Meinung nach entspricht die erste Stufe der langsamen, jedoch

mit messbarer Geschwindigkeit ablaufenden Monomerisation des in kleiner Konzentration anwesenden Radikals. Die Stufe besitzt deshalb einen kinetischen Charakter. Das wird auch durch die Tatsache unterstützt, dass bei der Zunahme der Dithionit-Konzentration sich sowohl die Stufe der Oxydation des Dithionits, wie die Stufe des SO_2^- Radikals vergrössert. Die Zunahme der Letzteren ist jedoch langsamer.

F. PÉTER: Der von ČERMÁK vorgeschlagene Mechanismus könnte nach dem Studium der Originalarbeit besser diskutiert werden, jedoch habe ich sie noch nicht bekommen. Das Referat dr. SUMANNS, das in den Leybolds-Polarographischen Berichten erschien und die Mitteilung Kollege KORYTAS machen auf mich den Eindruck, dass der besprochene Elektroden-Mechanismus annehmbar sei.

Während unserer Versuche stellten auch wir fest, dass die zweite Stufe einer Modifikation entspricht, die aus Dithionit auf Einwirkung von Wärme entsteht. Es schien also wahrscheinlich, dass diese Stufe einen kinetischen Charakter besitzt. Die Untersuchung des Temperaturkoeffizienten unterstützt diese Annahme. Ein weiterer Beweis des kinetischen Charakters der Stufe ist die Untersuchung des Effektes der Quecksilberniveauhöhe.

Die Änderung des Verhältnisses der zwei Stufenhöhen als Funktion der Dithionitkonzentration wurde auch von uns untersucht. Die Prüfungen wurden selbstverständlicherweise bei höherer Temperatur unternommen, wo jedoch Dithionit instabil ist. Die Versuchsangaben konnten deshalb nur zwischen den entsprechenden Fehlergrenzen ausgewertet werden. Es wurde festgestellt, dass nach Erhöhung der Konzentration die zweite Stufe langsamer als die erste zunimmt.

GY. BOR: Es ist bekannt, dass das Dithionit in alkalischen Lösungen in Sulfoxylat und Sulfid zerfällt. Dies wurde auch von SCHOLDAR und DENK beschrieben, die sich mit der Herstellung von Kobaltsulfoxylat beschäftigten. Dieses Sulfoxylat wird durch die Cobaltionen covalent gebunden und die Reaktion verläuft in dieser Richtung vollständig. Das Cobaltsulfoxylat ist nur aus einer tautomären Modifikation der Sulfoxylsäure herzustellen, und zwar aus der, in welcher nach der Annahme von HIEBER und seinen Mitarbeitern die Wasserstoffatome unmittelbar, also nicht durch Sauerstoff an Schwefel gebunden sind. Diese Cobaltverbindung ist in ammonalkalischer Lösung ein Neutralkomplex. Die zwei Formen der Sulfoxylsäure sind in Gleichgewicht, jedoch ist diese Form, bei der der Wasserstoff durch Sauerstoff gebunden ist, rein nur in organischen Estern herzustellen. Meiner Meinung nach wird die durch den Vortragenden beobachtete intermediäre temperaturabhängige Stufe durch Sulfoxylat hervorgerufen, das einerseits kathodisch oxydiert, andererseits aber anodisch reduziert werden kann. Die zwei gleich hohen Stufen, von denen die eine kathodisch, die andere anodisch ist, können der aus Dithionit der Temperatur entsprechend gebildeten Sulfoxylsäure zugeschrieben werden. Meiner Meinung nach ist die interessante Arbeit des Kollegen PÉTER nicht nur von analytischem Standpunkt aus, sondern auch vom Standpunkt des Strukturproblems der Schwefeloxylsäuren erfolgreich.

E. PUNGOR: Ich möchte fragen, ob Sie den kinetischen Charakter der Stufe bewiesen haben. Wie haben sich die beiden Stufen während der kinetischen Prüfung benommen? Der Vortragende erklärte, dass die Untersuchung der Stromstärke — Quecksilberniveauhöhe noch keinen Erfolg brachte. Was haben Sie während der Studien beobachtet?

E. PÉTER : Wenn ich richtig verstanden habe, so lautet die Frage, wie sich während der kinetischen Untersuchungen die beiden Wellen ausbildeten. Bei höherer Temperatur wurden gar keine kinetischen Studien unternommen, nur bei einer niedrigeren, wo eine Stufe beobachtet wird. Die Einbeziehung der zweiten Stufe in die quantitative Auswertung erwies sich als überflüssig. Unter 20° ergibt sich eine gut auswertbare einzige Welle. Kinetische Studien wollten wir nicht durchführen. Wenn kein besonderer Grund dafür spricht, sollen die Untersuchungen zweckmässig unter 20° durchgeführt werden.

THE POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF SODIUM DITHIONITE

F. Péter

(Institute of Organic Chemical Technology, Technical University, Budapest)

Summary

Investigations carried out to study the polarographic behaviour of sodium dithionite and to evolve the conditions of its quantitative determination are discussed.

1. Sodium dithionite gives below 15—20° and at pH values 7—14 a readily evaluable anodic wave.

2. At temperatures between 20 and 25° a second anodic and a similarly high cathodic wave appear. On increasing the temperature, both waves rise in an identical degree, whereas the first anodic wave gradually sinks.

3. The second anodic and the similarly high cathodic wave show a kinetic character indicated by their temperature coefficients and by the effect of the mercury level. The anodic-cathodic wave may be ascribed to a product formed on the surface of the electrode.

4. The electrode equation of the first anodic wave is not yet completely cleared up. Two possibilities are offered :

$$\text{a)}\quad S_2O_4^{2-} + 4\,OH \rightleftharpoons 2\,SO_3^{2-} + 2\,H_2O + 2e$$

$$\text{b)}\quad 2\,S_2O_4^{2-} + Hg \rightleftharpoons Hg(S_2O_4)_2^{2-}$$

The thermodynamic calculations and the analytical investigations carried out after a long-period electrolysis did not solve the problem whether oxidation alone or the formation of a complex are responsible for the appearance of the wave.

5. The polarographic method proved suited for the quantitative determination of dithionite. The first anodic wave lends itself to establishing the correlation of concentration and wave height. In order to obtain a working diagram of adequate accuracy first the polarograms of solutions of definite concentrations must be recorded, then the dithionite content determined by titration. The measurements may be applied in the concentration range $9 \cdot 10^{-4}$—$3 \cdot 10^{-5}$ g *M*/l.

6. The presence of thiosulphate and sulphite do not interfere with the quantitative determination whereas no precise measurement or quantitative evaluation of the dithionite wave is possible in the presence of sulphide. However, the interfering action of sulphide may be eliminated by adding zinc carbonate.

Dozent Dr. Ferenc PÉTER Budapest, XI. Budafoki út 4—6

DIE BEDEUTUNG DER POLAROGRAPHIE IN DER GEWERBETOXIKOLOGIE

J. TEISINGER

(Institut für Arbeitshygiene und Berufskrankheiten, Prag)

Der Kliniker und der Hygieniker gerät sehr oft in eine schwierige Lage bei der Diagnostik der gewerblichen Vergiftungen, insbesonders der von einem chronischen Charakter. Die klinischen Symptome dieser Vergiftungen sind manchmal von anderen ähnlichen Krankheitserscheinungen schwer zu unterscheiden, so dass ein objektiver Nachweis eines Giftes oder seiner Umwandlungsprodukte hier eine ganz ausserordentliche Bedeutung hat. Zum Nachweis von Industriegiften in biologischen Flüssigkeiten, die hier in sehr geringen Mengen vorkommen, wurde eine ganze Reihe von chemischen oder physikalischen Methoden ausgearbeitet. Zu diesem Zwecke hat sich bei uns in vielen Fällen am besten die Polarographie bewährt, weil sie eine schnelle, genügend empfindliche und spezifische Methode ist und eine dauernde Anzeige gibt. Dieser letzte Umstand hat besonders im Gerichtsverfahren eine grosse Bedeutung.

Die chronische Bleivergiftung, die früher zu den häufigsten Vergiftungen gehörte, erfordert noch heute eine grosse Aufmerksamkeit der Ärzte, wenn auch die Zahl der Geschädigten sinkt und bei uns schon sehr gering ist. Zum Nachweis von Blei in biologischen Flüssigkeiten wird eine ganze Reihe von Methoden angewendet, von denen manche sehr verlässlich, die meisten jedoch sehr schwierig und anspruchsvoll sind, besonders in Bezug auf die notwendige Apparatur. In der ČSR wenden wir jetzt zur Bleibestimmung im Blut ausschliesslich die von dem Verfasser der vorliegenden Arbeit vor einigen Jahren ausgearbeitete Methode an [1], die jetzt in der Modifikation von ŠKRAMOVSKÝ und SRBOVÁ [2] benützt wird. Zur Analyse genügen 4 ml Citratblut. Diese Methode beruht auf Freimachung der Blei-Ionen (die, wie bekannt, zu mehr als 90% an rote Blutkörperchen und der Rest an andere Bluteiweissstoffe gebunden sind), mittels einer Mineralsäure. Durch die Wirkung der Säure werden die Blei-Ionen freigemacht und gehen in Lösung. Der Vorgang ist folgender : Das Blut wird mit Säure und mit destilliertem Wasser hämolysiert, worauf die Eiweissstoffe in der Hitze ausgefällt werden. Im klaren und eine geringfügige Menge von Eiweissstoffen enthaltenden Filtrat ist es dann möglich, das Blei durch Polarographie direkt zu bestimmen. Vor der Fällung der Eiweissstoffe wird das Blut mit Sauerstoff durchperlt, da es aus dem mit Sauerstoff gesättigten Blut bei der weiteren Analy-

se nicht zur Abspaltung der Porphyrine kommt, die einer polarographischen Bestimmung im Wege stehen würden. Mit dieser Methode kann man in einer sehr kurzen Zeit die Plumbämie feststellen. Die chemischen Methoden, z. B. die Dithizon-Methode, erfordern eine Blutmineralisation ; ausserdem ist diese Methode sehr langwierig und delikat. Aus diesem Grunde hat — nach unserer Meinung — die polarographische Bestimmung auf die beschriebene Art bedeutende Vorteile. Die mit der polarographischen Methode im Blut gefundenen Normalwerte sind etwas höher als die mit der Dithizon-Methode festgestellten Werte. Normales Blut zeigt nach unserer Methode die Werte von 0,070 mg % Blei. Die Werte über 0,100 mg % Blei sind bestimmt pathologisch, die Werte von 0,070

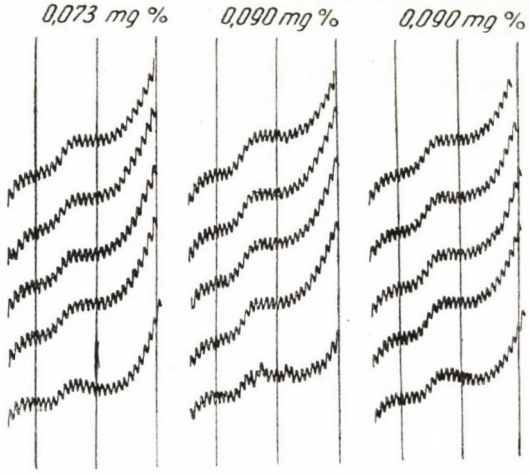


Abb. 1. Polarographische Bestimmung von Blei im Blut. Kurven von 300 mV, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 1, gesättigte KE, kath. Anschluss. Bei jeder Probe 5 Kurven mit verschiedener Kompensation

bis 0,100 mg % Blei sind bestimmt erhöht, ihre Erklärung ist jedoch nur auf Grund des Allgemeinzustandes der kranken Person oder ihrer Exposition während der Arbeit möglich. Das gilt allerdings auch für andere Methoden, die man nur mit Berücksichtigung der beobachteten Person deuten kann. Der Verfasser verfügt über eigene Erfahrungen mit mehr als 10 000 Blutanalysen.

Die Bleibestimmung im Urin wird in der ČSR nur ausnahmsweise verwendet, wenn auch in anderen Ländern diese Bestimmung sehr beliebt ist. Das Blei wird im Urin sehr unregelmässig ausgeschieden und es sind daher Analysen von mehreren Proben nötig, wogegen der Bleispiegel im Blut viel konstanter ist. In der letzten Zeit war man gezwungen, die Bleibestimmung im Urin bei der Behandlung der Bleivergiftungen mit dem Calciumsalz EDTA anzuwenden. Wie bekannt, wird nach Verabreichung dieses Präparates die Menge des im Urin ausgeschiedenen Bleis bedeutend erhöht. SRBOVÁ von unserer Klinik hat eine noch unveröffentlichte Methode zur Bestimmung von Blei, das in komplexer

Form im Urin ausgeschieden wird, ausgearbeitet. Sie mineralisiert den Urin mit Salpetersäure und Wasserstoffsuperoxyd. Nach Auflösung des Abdampfrückstandes und Alkalisierung wird das Blei mit Calciumphosphat ausgefällt, und der Niederschlag in einer kleinen Menge Salzsäure gelöst, die Lösung mit Wasser aufgefüllt und polarographiert. Durch die Anwendung dieses Verfahrens schaltet sie das Eisen aus, das sonst die polarographische Bestimmung stören würde, da das Eisen durch Calciumphosphat nicht niedergeschlagen wird. Bei einer absoluten Menge von 100 μg Blei im analysierten Material ergibt sich bloss ein 2%iger Fehler, bei einem Inhalt von 10—20 μg kommt ein 10%iger Fehler vor. Zur Analyse sind 100 ml Urin notwendig.

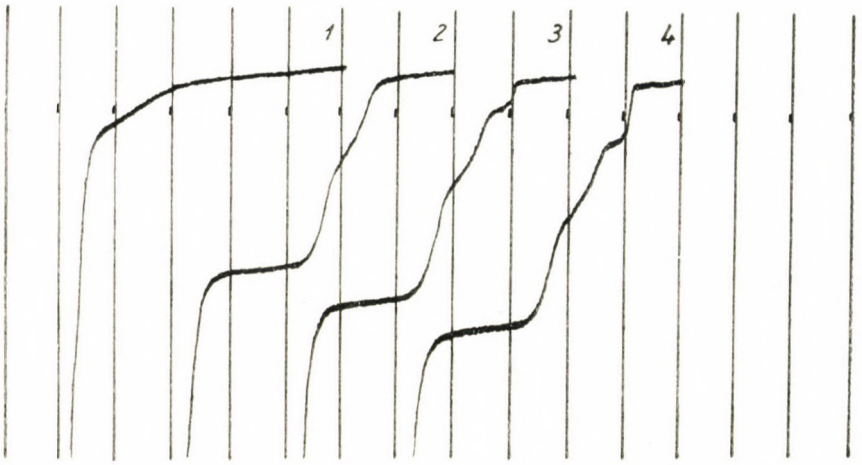


Abb. 2. Schwefelkohlenstoff und Schwefelwasserstoff
9 ml äthanolische Lösung von Diäthylamin, 1 ml 2m LiCl. Zugegeben: (1) 0; (2) 0,5 ml ungefähr 0,01m CS_2; (3) 0,1 ml 0,01m Na_2S; (4) 0,2 ml 0,01 m Na_2S. Kurven von 9. Windung zurück, anod.-kat. gesättigte KE, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 20, h = 40 cm

Das Blei im Stuhl wird nur ausnahmsweise bestimmt, und zwar falls Verdacht auf absichtlichen Bleigenuss zwecks Gewinnung einer Rente besteht. Das Verfahren, das vom Verfasser mit REJSEK [3] beschrieben wurde, ist folgendes: Der Stuhl wird auf nassem Wege mineralisiert, das Eisen durch Extraktion mit Äther entfernt, der mit Eisen einen Komplex bildet. Die wässrige Phase, in der das Blei polarographisch bestimmt wird, ist am Ende klar und farblos.

Sehr oft ist es nötig, den Schwefelkohlenstoffgehalt im Urin oder im Blut zu bestimmen, da bei der Erzeugung von Kunstfasern leider noch immer Schwefelkohlenstoffvergiftungen vorkommen. In der Regel wird wie folgt verfahren. Der Schwefelkohlenstoff wird aus biologischen Flüssigkeiten mit Stickstoff ausgetrieben und in eine äthanolische Lösung von Diäthylamin überführt, wo in Gegenwart von Kupferacetat das gelb gefärbte Kupferdiäthyldithiocarbamat entsteht. Die Gelbfärbung der Lösung wird dann kolorimetrisch bestimmt. Manchmal ist es vorteilhafter, statt der kolorimetrischen die polarographische

Bestimmung zu verwenden, wobei Diäthyldithiocarbamat bestimmt wird, dessen anodische Stufe bei −0,62 V liegt (nach ZUMAN, ZUMANOVÁ und SOUČEK [4]). Der Vorteil der polarographischen Bestimmung besteht darin, dass der Schwefelkohlenstoff auch in Gegenwart von Schwefelwasserstoff, der eine gesonderte Stufe gibt, bestimmt werden kann. Bei der kolorimetrischen Bestimmung ist es nötig, den Schwefelwasserstoff vorher zu entfernen. Der Schwefelkohlenstoff wird nach unseren Versuchen im Urin nur in einem sehr kleinen Masse, d. h. in einer ungefähr 0,06 % des aufgenommenen Schwefelkohlenstoffes entsprechenden Menge ausgeschieden. Da seine Ausscheidung nach einer Exponentialkurve geschieht, kann der Schwefelkohlenstoff im Urin noch einige Tage nach der Beendigung der Exposition gefunden werden. Der Nachweis des Schwefelkohlen-

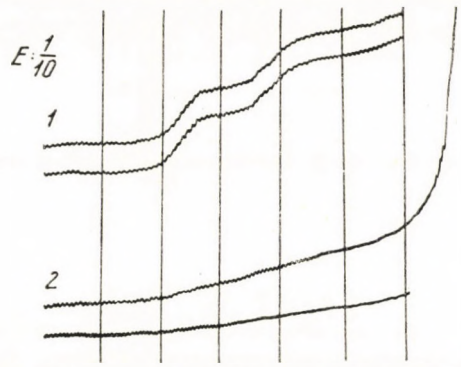


Abb. 3. Polarographische Bestimmung von Benzol als Dinitrobenzol im Urin. Kurven von 0 V, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 10. Die oberen Kurven entsprechen einer Benzolkonzentration von 126 μg/l im Urin. Im zweiten Falle ist kein Benzol im Urin wahrnehmbar

stoffes im Urin gibt uns ganz verlässlich an, ob eine Person in Berührung mit Schwefelkohlenstoff war. Bei dem Nachweis von einigen mg je Liter kann man voraussetzen, dass diese Exposition ziemlich bedeutend war. Mit Rücksicht darauf, dass der Schwefelkohlenstoff so gering im Urin ausgeschieden wird, ist es schwer, aus seinem Nachweis im Urin auf die Konzentrationshöhe in der Luft zu schliessen. Es ist selbstverständlich, dass die Bewertung der Ergebnisse nur in Zusammenhang mit dem klinischen Bild vorgenommen werden kann, diese Bestimmung hat jedoch schon in manchen Fällen ermöglicht, die richtige Diagnose zu treffen.

Hie und da kommen noch chronische oder akute Benzolvergiftungen vor. Öfter ist man gezwungen, eine kleine Benzolmenge in biologischen Flüssigkeiten zu bestimmen, um den Nachweis zu erbringen, ob eine Person mit Benzol arbeitet. Zum Benzolnachweis im Blut, im Urin oder in den Organen wurde vom Verfasser mit ŠKRAMOVSKÝ [5] eine polarographische Methode entwickelt. Zur Analyse werden in der Regel 5 ml Citratblut genommen, man kann jedoch auch mit einer kleineren Menge arbeiten. Der Probe werden 10—15 Tropfen einer

Ölsuspension von Calciumstearat zugesetzt, die ein übermässiges Schäumen verhindert. Zur Analyse des Urins werden 100—150 ml Urin verwendet. Das Benzol wird aus der biologischen Flüssigkeit mit Luft oder mit Sauerstoff ausgetrieben und in einen aus gleichen Volumina chemisch reiner Schwefelsäure (d : 1,82) und Salpetersäure (d : 1,50) bereiteten Nitriergemisch zur Umwandlung in m-Dinitrobenzol aufgefangen, das mit einer 40%igen Natriumhydroxydlösung gegen Tropaeolin O alkalisiert und nachher polarographiert wird. Alle Dinitrobenzol-Isomere werden an der Quecksilbertropfkathode in 2 Stufen bei — 0,55 V und — 0,70 V reduziert (gemessen gegen gesättigte Kalomelelektrode). Die polarographische Methode ist vorteilhafter als die laufend benützte chemische Methode mit Butanon (Methyl-Äthylketon), das mit dem gebildeten Dinitrobenzol in Berührung mit Lauge eine Farbreaktion gibt. Die letztgenannte Methode ist wegen des Ausschüttelns der Nitroverbindungen und ihrer Abtrennung komplizierter und erfordert noch andere delikate Behandlungen. Unseren Versuchen nach wird das Benzol im Urin des Menschen nur sehr gering, d. h. in einer Menge von 0,1—0,2 % des aufgenommenen Benzols ausgeschieden. Was die Durchführung betrifft, ist die Bestimmung im Urin vorteilhafter als im Blut, die festgestellten Werte sind meistens sehr klein (Hundertstel bis Zehntel mg je Liter), bei bedeutend exponierten Personen wurden jedoch noch höhere Werte, z. B. 3—4 mg je Liter gefunden. Ebenso wie bei dem Schwefelkohlenstoff, ist es auch hier nötig, das klinische Bild bei der Bewertung zu erwägen. Der Nachweis von Benzol im Urin oder im Blut gibt ganz bestimmt an, ob eine Person mit Benzol arbeitet. Der Nachweis von Benzol im Blut bei akuten tödlichen Vergiftungsfällen hat begreiflicherweise eine ausserordentliche Bedeutung.

Von den Benzol-Umwandlungsprodukten ist es möglich, Hydrochinon im Urin polarographisch zu bestimmen. Die Methode beruht auf der Überführung des Hydrochinons in Chinon durch Oxydation mit Cerisulfat ; das Chinon wird mit Wasserdampf destilliert und anodisch-kathodisch (nach BERGEROVÁ—ŠKRAMOVSKÝ [6]), gegen eine Merkurosulfat-Elektrode polarographiert. Die Hydrochinonbestimmung im Urin der Benzolarbeiter wird nur ausnahmsweise zum Zwecke einer genaueren Beurteilung von komplizierten Fällen vorgenommen. In der Regel kommt Hydrochinon im Urin normal nicht vor, bei den Benzolarbeitern wird es binnen 48 Stunden nach Beendigung der Exposition ausgeschieden. Hydrochinon im Urin wurde auch nach Genuss von Selchfleisch oder geräucherten Fischen bzw. von manchen Arzneien, wie z. B. *Fol. uvae ursi*, sogar in einer Menge von 1 mg je Liter, nachgewiesen [7].

Auf gleiche Weise, wie es bei Benzol beschrieben worden ist, ist es möglich, auch Toluol in biologischem Material zu bestimmen. Das Verfahren ist dasselbe, jedoch mit dem Unterschied, dass Toluol mit Luft in rauchende Salpetersäure, (d : 1,50) übergetrieben wird. Es entsteht überwiegend 2,4-Dinitrotoluol, dessen Doppelstufe bei — 0,58 V und — 0,76 V verzeichnet wird (Methode von SRBOVÁ [8]).

Zu den schnellsten polarographischen Methoden gehört die Bestimmung der aromatischen Nitroverbindungen im Blut. Solche Fälle kommen besonders bei Nitrobenzolvergiftungen vor. Die Analyse wird direkt im Serum vorgenommen, das mit gleichem Volumen einer Natriumchloridlösung verdünnt wird. Nach Durchleitung von Wasserstoff ist es möglich, die polarographische Bestimmung direkt vorzunehmen (TEISINGER [9]). Unter diesen Bedingungen ist das Abscheidungspotential von Nitrobenzol bei — 0,60 V und die Doppelstufe von Dinitrobenzol bei — 0,4 V und — 0,6 V, die Doppelstufe von Dinitrotoluol ist zu — 0,6 V und — 1,1 V verschoben. Es ist jedoch möglich, das gesamte Blut zu analysieren (ROUBAL, TUHÝ und POKORNY [10]). In diesem Falle ist es nötig,

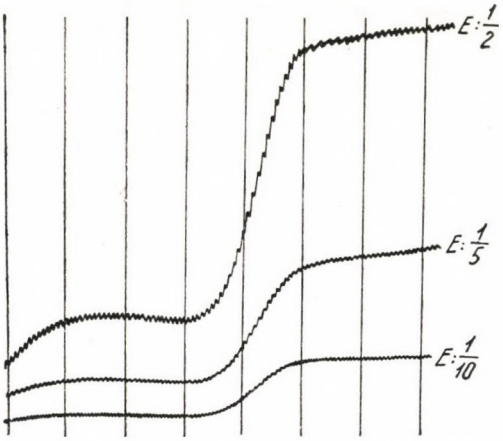


Abb. 4. Polarographische Bestimmung von Nitrobenzol im Serum. Kurven von 0 V, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 10, 1 : 5, 1 : 2. Nitrobenzolkonzentration beträgt 2037 μg/l

das Blut mit Saponin in wässriger Lösung zu hämolysieren, die Eiweissstoffe mit Sulfosalicylsäure auszufällen und das Filtrat nach Alkalisierung mit Natronlauge zu polarographieren. Bei der Untersuchung von Leichenblut auf Vorhandensein von Nitroverbindungen ist Vorsicht nötig, da in solchem Blut auch bei nicht exponierten Personen polarographische Wellen erscheinen, die die Anwesenheit von Nitroverbindungen vortäuschen.

Bei Trinitrotoluolarbeitern kann man im Urin dessen Umwandlungsprodukt, d. h. 2,6-Dinitro-4-aminotoluol, ermitteln (ROUBAL, ZDRAŽIL und PÍCHA [11]). Nach der durchgeführten Urinhydrolyse mit Salzsäure und folgender Alkalisierung durch Natriumhydrogencarbonat wird eine fraktionierte Extraktion mit Äther vorgenommen. Nach Abdestillieren des Äthers wird der Abdampfrückstand in 96%igem Äthanol gelöst und mit Wasser aufgefüllt. Bei der polarographischen Bestimmung des angeführten Umwandlungsproduktes wird eine Doppelstufe verzeichnet. Auf diese Weise haben die obenerwähnten

Autoren im Urin der Trinitrotoluolarbeiter 0,5—3,4 mg/Lit. des Umwandlungsproduktes nachgewiesen.

Es wurden einige Methoden angeführt, die vom Verfasser selbst oder von anderen tschechoslowakischen Autoren entwickelt wurden und über die Erfahrungen vorliegen. In der Literatur ist eine ganze Reihe von polarographischen Methoden zur Bestimmung der oben angeführten Stoffe beschrieben, die jedoch meistens eine Mineralisation von biologischen Flüssigkeiten oder komplizierte Behandlungen erfordern. Die beschriebenen Methoden können auch zur Bestimmung von Blei, Schwefelkohlenstoff und Benzol in der Luft verwendet werden, in welchen Fällen die Analyse allerdings einfacher ist. Ich bin der Meinung, dass die polarographischen Methoden sehr genau sind und dass sie die anderen, besonders die chemischen Methoden, in Empfindlichkeit und dauernder Anzeige überragen.

ZUSAMMENFASSUNG

Als Anwendungsgebiete der Polarographie in der klinischen und hygienischen Praxis werden angegeben: die Bleibestimmung ohne Mineralisation im Blut, im Urin und Stuhl, die Bestimmung von Schwefelkohlenstoff im Blut und Urin, die Bestimmung von Benzol im Blut, Urin und in den Organen nach Nitrieren, sowie von Benzolmetaboliten, wie Hydrochinon im Urin. Das Nitrobenzol und die Dinitrobenzole können polarographisch direkt oder im verdünnten Serum nachgewiesen werden.

LITERATUR

1. J. Teisinger: Z. exp. Medizin **98**, 520 (1936).
2. S. Škramovský und J. Srbová: Časopis lékarů českých **85**, 1016 (1946).
3. J. Teisinger und K. Rejsek: Časopis lékařů českých **80**, 1200 (1941).
4. P. Zuman, R. Zumanová und B. Souček: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **18**, 632 (1953).
5. S. Škramovský und J. Teisinger: Arch. Maladies profess. Méd. Travail Sécurité soc. **8**, 22 (1947).
6. V. Bergerová und S. Škramovský: Pracovní lékařství **4**, 64 (1952).
7. J. Teisinger, V. Fišerová und J. Kudrna: Pracovní lékarství **4**, 175 (1952).
8. J. Srbová: Pracovní lékařství **4**, 47 (1952).
9. J. Teisinger: Mikrochemie **25**, 151 (1938).
10. I. Roubal, K. Tuhý und F. Pokorný: Časopis lékařů českých **85**, 1002 (1946).
11. I. Roubal, J. Zdražil und G. Picha: Čs. Hyg., Epid., Mikrobiol. **2**, 300 (1953).

DISKUSSION

P. Zuman: Die Bestimmung des Bleis möchte ich ergänzen. Es ist sehr wichtig, dass bei diesen Bestimmungen das Blei aus der Lösung mit Salzsäure ausgeschieden werde. Die Zugabe der Salzsäure geschieht aus zwei Gründen. Einerseits soll das Blei aus der Bindung befreit, andererseits die Oberflächenaktivität der Proteine beseitigt werden.

Zu der Frage der Schwefelkohlenstoff-Bestimmung. Diese Analyse wird zur Prüfung der Luft von Viscose-Betrieben benutzt. Es wurde gefunden, dass in der Luft tatsächlich nur kleine Mengen solcher Stoffe zugegen sind, welche die Bestimmung des Kohlendisulfids stören. Prof. Teisinger meint, dass die

gemeinsame Bestimmung von Schwefelkohlenstoff und Schwefelwasserstoff möglich sei. Das stimmt nur dann, wenn die Analyse kurz nach der Probenahme durchgeführt wird. Die Probe wird in eine alkalische Lösung gegeben, die jedoch den Schwefelwasserstoff oxydiert. Wird die Lösung nur nach einigen Stunden oder Tagen analysiert, so wird in dieser alkalischen Lösung der Schwefelwasserstoff durch den Sauerstoff der Luft oxydiert, während der Schwefelkohlenstoffgehalt unverändert bleibt. Zur Bestimmung des Schwefelwasserstoffes soll also entweder eine andere Methode, z. B. die jodometrische benützt werden, oder die Analyse sofort im Betrieb durchgeführt werden.

Nach diesen zwei Bemerkungen möchte ich von Prof. TEISINGER Auskünfte über die Frage der Bestimmung des Dinitrobenzols im Blute bekommen. Es ist ganz sicher, dass die eine oder beide Nitrogruppen durch komplizierte Vorgänge reduziert werden. Wenn auch die Höhe der zweiten Stufe niedriger ist, ist sie messbar und sagt mehr als die quantitative Schätzung, die Prof. TEISINGER bescheiden erwähnte.

THE SIGNIFICANCE OF POLAROGRAPHY IN INDUSTRIAL TOXICOLOGY

J. Teisinger

(Institute of Industrial Hygiene and of Occupational Diseases, Prague)

Summary

Of the numerous fields of application of polarography in clinical and hygienical routine the followings are described : the determination of lead in blood without any mineralisation, the determination of lead in urine and faeces, and that of carbon disulphide in blood and urine. In addition to these, benzene in blood, urine and in various organs may simply be determined by polarography, subsequent to nitration, similarly to the determination of the metabolites of benzene, and, further, of hydroquinone in urine. Nitrobenzene and dinitrobenzenes may be detected in serum samples by polarography directly or subsequent to an adequate dilution.

Prof. Dr. Jaroslav TEISINGER Praha.

UNTERSUCHUNGEN IM SERUM VON SILIKOTIKERN

Frau L. STER

(Institut für Arbeitshygiene und Arbeitsmedizin, Budapest)

Als Ergänzung der in unserem Institute durchgeführten Untersuchungen über die Bluteiweisskörper von Silikotikern schien es der Mühe wert, diese auf polarographische Untersuchungen zu erstrecken, um so mehr da die Literatur in dieser Beziehung nur spärliche Angaben aufweist. Die polarographische Untersuchung wurde mittels Messung der durch BRDIČKA entdeckten katalytischen Doppelwelle durchgeführt. Zweck des Studiums war einesteils zu ermitteln, ob in Silikose eine Veränderung des auf die BRDIČKA-Reaktion [1] gegründeten Proteinindexes nach MÜLLER merkbar sei, andernteils zu untersuchen, ob ein qualitativer Unterschied in den Proteinfraktionen von Silikotikern im Vergleich zu Normalserenfraktionen feststellbar sei.

I. Die Messung des Proteinindexes wurde der Methodik MÜLLERS folgend durchgeführt. Jede in folgendem angeführte polarographische Messung erfolgte auf einem automatisch registrierenden Polarographen nach HEYROVSKÝ mit einer Tropfzeit von 2,3 Sek. und Ausströmungsgeschwindigkeit von 2,94 mg Hg/Sek. Die Messung der katalytischen Doppelwellen geschah mit Quecksilber als unpolarisierbarer Elektrode.

Aus 150 Normalseren ergab sich der durchschnittliche Normalwert des Proteinindexes zu 3,8. Demnächst wurde der Proteinindex im Blute von 50 Silikotikern und von 47 Personen, die einer Staubbeschädigung exponiert wurden, aber keine klinische Anzeichen der Silikose aufwiesen, bestimmt. Gegenüber dem Normalwert von 3,8 ergaben die Messungen einen Proteinindex von 5,1 bzw. 5,6 bei Silikose I. bzw. II. Bei den einer Staubbeschädigung ausgesetzten, aber noch keine klinische Anzeichen der Silikose aufweisenden Personen war der Durchschnittswert des Proteinindexes 5,0.

Für die Erhöhung des Durchschnittswerts bei Quarzexponierten, aber noch keine klinischen Anzeichen der Silikose aufweisenden Personen erteilt die vorliegende Untersuchung keine Erklärung, diese Frage benötigt nämlich weitere Untersuchungen.

Abb. 1 stellt das Polarogramm eines normalen und eines silikotischen Blutes dar (Methodik des Proteinindexes nach MÜLLER).

Die Erhöhung des Proteinindexes erfolgt zahlenmässig in keinem Falle in

so hohem Masse wie bei Krebskranken, es besteht aber zweifellos eine Erhöhung, die darauf hinweist, dass im Bluteiweiss von Silikotikern im Vergleich zu normalen Personen eine Veränderung vor sich geht.

Wie bekannt, wird der Wert des Proteinindexes nach MÜLLER durch eine willkürliche zahlenmässige Beziehung zweier polarographischer Reaktionen ermittelt. Hier spielt die Quantität oder Qualität des Proteins keine Rolle, es handelt sich vielmehr um einen Vergleich zwischen Verhältniszahlen des Bluteiweisses von normalen und pathologischen Seren unter besonderen experimentellen Bedingungen.

II. Im weiteren wurde der für die Erhöhung des Proteinindexes in den einzelnen Bluteiweissfraktionen verantwortliche Faktor untersucht. Gleich-

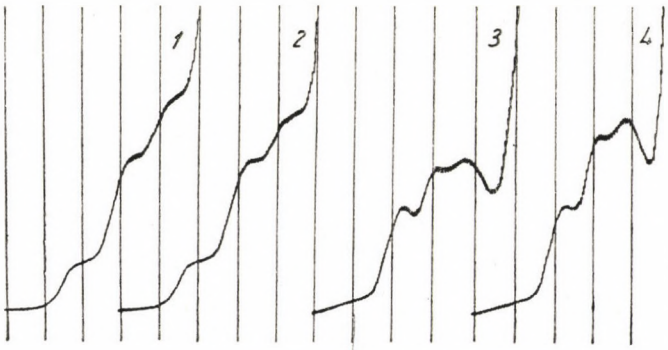


Abb. 1. 1. Normalblut, d Test, Galvanometer-Empfindlichkeit 1/500 — 2. Silikotisches Blut, d Test, Galvanometer-Empfindlichkeit 1/500 — 3. Normalblut, f Test, Galvanometer-Empfindlichkeit 1/300 — 4. Silikotisches Blut, f Test, Galvanometer-Empfindlichkeit 1/300

zeitig wurde versucht die Frage zu klären, ob ein qualitativer Unterschied unter den Eiweissfraktionen von normalen und silikotischen Seren bestehe.

Die polarographischen Untersuchungen erfolgten in den nativen und in den mit Alkali denaturierten Fraktionen. Die Trennung zu Fraktionen erfolgte durch Papierelektrophorese auf einem Papierstreifen Macherey-Nagel 214, von 310 mm Länge, 45 mm Breite, in einem Veronalpuffer vom pH 8,6. Ionenstärke : 0,1 bei einer Spannung von 100 Volt, Dauer der Elektrophorese : 20 Stunden.

Nach der Trennung — dem Verfahren von HOMOLKA folgend — wurde der Papierstreifen bei Zimmertemperatur getrocknet und ein Streifen von der Breite von 5 mm von der ganzen Länge des Streifens abgeschnitten. Durch Färben mit Amidoschwarz B und Entfärben durch Essigsäure-Methanol wurde die Lage der Fraktion nach Wanderung festgestellt ; nun wurde der gefärbte »Indikatorstreifen« dem Ungefärbten genau angepasst. Abweichend des weiteren von dem originellen Verfahren von HOMOLKA, wurden die unter den angegebenen Umständen mit gleicher Geschwindigkeit wandernden Fraktionen entsprechenden Querteile des Streifens derart abgeschnitten, dass zur weiteren Bearbeitung nur die farblosen Querstreifen zu Verfügung standen, die den meist intensiv gefärbten Stellen entsprachen. In dieser Weise wurde erzielt, womöglich ohne Nachschleppen, gut aufgetrennte Fraktionen zu erhalten. Um eine weitere Gleichmässigkeit zu sichern, wurde die Trennung eines jeden Serums in 3 Parallelen durchgeführt. Dadurch erhielt man genügendes Material zur weiteren Bearbeitung, die im gemeinsamen Eluat der betreffenden Papierquerschnitte geschah. Zu den einzelnen Trennungen wurde je 0,03 ml Serum angewandt. Da die Feststellung möglicher qualitativer Änderungen

nicht über die ganze Länge des Papierstreifens, sondern nur über die dem Ziele am besten entsprechenden Querausschnitte gewünscht war, kam die Notwendigkeit einer quantitativen Bestimmung der eluierten Eiweisslösungen auf. Zur Bestimmung des Eiweissgehaltes dieser Grössenordnung waren die zur Verfügung stehenden Verfahren zum Teil wenig empfindlich, zum Teil zu langwierig. Im Biuretreagens entsteht infolge der Reduktion des Kupfer-Ions eine polarographisch messbare Stufe. Im Gegenwart eines Biuret-Proteinats wird die Höhe der Stufe erniedrigt. Unter bestimmten Versuchsbedingungen ist die Abnahme der Stufenhöhe zur quantitativen Bestimmung des Proteins brauchbar. Die Abnahme der Stufe erfolgt durch Adsorption ; sie ist eine lineare Funktion der Eiweisskonzentration und nähert sich im Falle des Seralbumins und Globulins bei einer Konzentration von 210 γ/3,2 ml einem Grenzwert. Zur Herstellung des Biuretreagentes wurden 1,5 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ und 6 g Kaliumnatriumtartarat in 300 ml 10%iger kohlensäurefreier Natronlauge gelöst und mit kohlensäurefreiem destilliertem Wasser auf 1000 ml ergänzt.

Durchführung der Reaktion : 0,5 ml Biuretreagens wird einer Eiweisslösung von 0,5 ml Volumen zugefügt. Falls die zu bestimmende Eiweissmenge

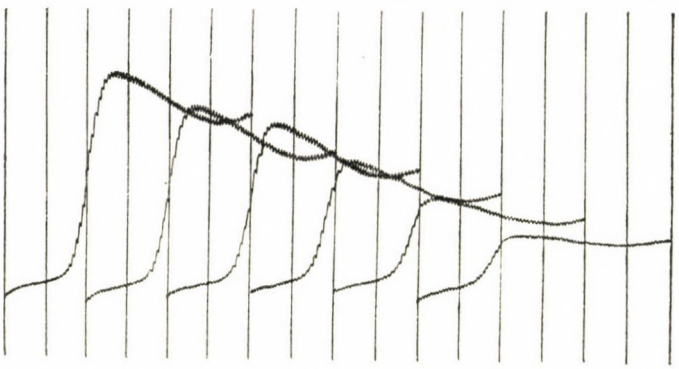


Abb. 2

in kleinerem Volumen enthalten ist, wird die Lösung mit einer physiologischen Kochsalzlösung auf 0,5 ml ergänzt. Nach einem energischen Durchschütteln lässt man die Lösung 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Nun wird sie mit 2 ml frisch verfertigter 10%iger Kaliumnatriumtartarat- und 0,2 ml Natriumsulfitlösung versetzt und nach einigen Minuten mit einer Akkumulatorspannung von 2 Volt gegen eine gesonderte Mercurosulfat-Elektrode polarographiert. Das Verfahren wurde mittels der Kjeldahl-Methode kalibriert. Abb. 2 stellt das Polarogramm einer Albuminbestimmung dar, die Kurven 1—6 beziehen sich auf eine steigende Konzentration von 35 γ/3,2 ml Reaktionsvolumen Albumin.

III. Es wurden polarographische Untersuchungen in den Eiweissfraktionen von 30 normalen bzw. 19 silikotischen Seren durchgeführt. Als Puffer diente eine Lösung von der Zusammensetzung 1/50 m Kobalthexamminchlorid, 2 m Ammoniumchlorid, 2 m Ammoniumhydroxyd.

Die Seren wurden nach einer papierelektrophoretischen Trennung mit physiologischer Kochsalzlösung eluiert und einheitlich in einer Konzentration von 80 γ/ml gegen eine Quecksilberbodenelektrode polarographisch, und zwar

die Albumin-, Alpha$_2$-, Beta- und Gammaglobulinfraktion in nativem Zustande und nach alkalischer Denaturierung untersucht. Die Ausmessung in nativem Zustand geschah unmittelbar nach dem Versetzen von 1,5 ml Eiweisslösung mit 0,1 ml Pufferlösung. Die Denaturierung durch Alkali erfolgte nach dem Versetzen von 1,5 ml Eiweisslösung mit 0,1 ml normaler Kalilauge ; nach 30 Minuten wurde der Lösung 0,1 ml Puffer zugesetzt und polarographiert. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen, auf eine Galvanometerempfindlichkeit von 1/100 berechnet, ergab die Albuminfraktion sowohl in normalen, wie auch in silikotischen Seren eine Wellenhöhe von durchschnittlich 150 mm, die Globulinfraktion 50—70 mm. Sowohl in den normalen wie auch in den silikotischen Seren war es zu ersehen, dass Eiweissfraktionen von der gleichen Gewichtskonzentra-

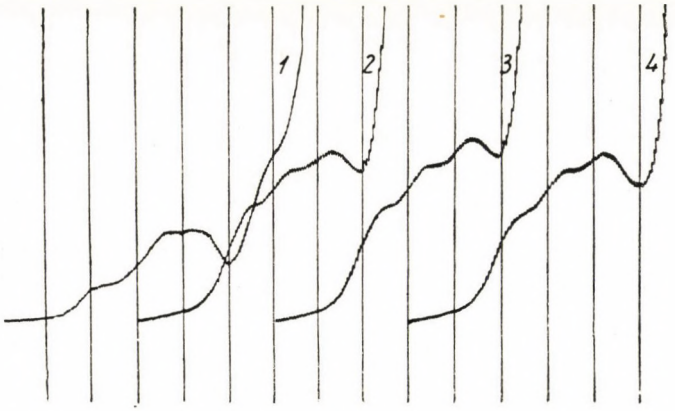


Abb. 3

tion einen erheblichen Unterschied in ihrer polarographischen Aktivität aufwiesen. Die polarographische Aktivität ist in der Höhe der katalytischen Welle in mm ausgedrückt. Abb. 3 und 4 stellen das Polarogramm der Fraktionen dar, die Zahlenreihe bezieht sich auf die Kurven der Albumin-, α_2, β- und γ-Globulinfraktionen, Abb. 3 in nativem Zustande, Abb. 4 nach Denaturierung durch Alkali. Die Galvanometerempfindlichkeit war bei den Albuminfraktionen 1/1000, bei den Globulinfraktionen 1/300. Die polarographische Aktivität der Albuminfraktion betrug etwa das 2,5fache der Globulinfraktionen. Die polarographische Aktivität der untersuchten Globulinfraktionen zerfällt in eine und dieselbe Grössenordnung mit gleichen Werten für α_2- und γ-Globulin und in einen wenig erhöhten Wert für β-Globulin. Bei der Ausmessung der Albuminfraktion war feststellbar, dass die erste und die zweite katalytische Welle bei einer Konzentration von 80 γ/ml gleich hoch sind. Es wurde festgestellt, dass die Oberflächenaktivität des Albumins erheblich grösser als die der Globuline ist. Die Albuminfraktion unterdrückt das Cobaltmaximum vollständig ; in gleicher Konzentration erfolgt die Unterdrückung bei den Globulinfraktionen nur unvoll-

ständig. Allerdings ist es hier zu beachten, dass die Eiweisslösungen zwar die gleiche Gewichtskonzentration besassen, aber die betreffenden Molekulargewichte nicht in Betracht genommen werden konnten.

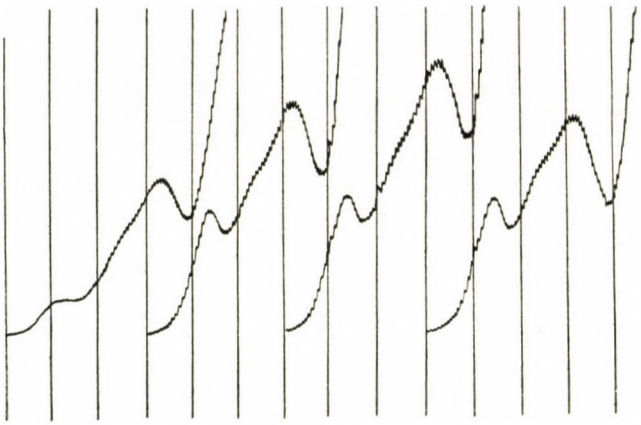


Abb. 4

Tabellen I und II zeigen im Mittelwert die Angaben der polarographischen Untersuchungen von 30 normalen und 19 silikotischen Seren uzw. im nativen Zustand und nach alkalischer Denaturation.

Tabelle I

Durchschnittswerte der I. und II. katalytischen Wellenhöhe in mm gemessen

Blutseren	Albumin				α_2 Globulin				β Globulin				γ Globulin			
	nat.		denat.		nat.		denat.		nat.		denat.		nat.		denat.	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
Normal	150	153	162	328	58	71	63	87	73	94	75	121	56	68	61	83
Silikotisch	150	150	150	289	60	75	78	110	67	88	85	131	52	71	71	100

Tabelle II

Prozentuale Erhöhungen der I. und II. katalytischen Welle nach der Denaturation im Vergleich zu den Nativwerten

	Albumin		α_2 Globulin		β Globulin		γ Globulin	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
Normal	9	113	8	24	15	31	9	23
Silikotisch	0	93	29	47	25	47	37	47

Die Untersuchung der Bluteiweissfraktionen in 30 normalen Seren zeigte, wie aus Tabelle I und II ersichtlich, folgendes Ergebnis :

Nach der alkalischen Denaturierung erfolgt eine Zunahme der Wellenhöhen in allen untersuchten Fraktionen ; in grösstem Masse in der Albuminfraktion, in geringerem und untereinander gleichem Masse in den Globulinfraktionen. Die Erhöhung ist besonders in der II. Welle ausgeprägt ; im Vergleich zum nativen Zustande beträgt die Erhöhung 113% bei der Albuminfraktion und 23—31% bei den Globulinfraktionen.

Dieser Umstand weist darauf hin, dass während der Denaturierung in allen Fraktionen schwefelhaltige Gruppen frei werden.

Aus der Untersuchung von 19 silikotischen Seren ist ersichtlich, dass die Höhen der katalytischen Doppelwellen durchschnittlich in die Grössenordnung der Normalseren fallen. Es war jedoch feststellbar, dass nach der Denaturierung durch Alkali die II. katalytische Welle des Albumins in jedem Falle niedriger als diejenige der Normalseren ist, wo auch in der I. Welle eine Erhöhung stattfand. Das mag bei Silikose darauf hindeuten, dass infolge der Denaturierung keine Veränderung innerhalb des Moleküls erfolgt und es werden beim Abbau schwefelhaltige Gruppen in kleinerem Masse frei wie bei Normalseren. Bei Silikose dürfte der Abbau der Albuminfraktion an einer von der Normalfraktion abweichenden Bindung erfolgen, oder aber enthält die silikotische Albuminfraktion bereits in nativem Zustand eine vom normalen abweichende Anzahl von schwefelhaltigen Gruppen.

Die Globulinfraktionen der Silikotiker zeigen infolge der alkalischen Denaturierung im Vergleich zu den normalen Globulinfraktionen einen erhöhten Anstieg beider katalytischen Wellen. Prozentuell ausgedrückt beträgt die Erhöhung der I. und II. Welle 25, bzw. 47% im Vergleich zu den normalen Werten von 8 und 25%. Daher mag man voraussetzen, dass infolge der Denaturierung einesteils eine Veränderung innerhalb des Proteinmoleküls entsteht, andernteils Globulinfraktionen Silikotiker entweder an einer von der normalen abweichenden Bindung abgebaut werden, oder bereits das Proteinmolekül im Gegensatz zum normalen eine erhöhte Anzahl von schwefelhaltigen Gruppen besitzt.

ZUSAMMENFASSUNG

In Blutseren von Silikotikern weist die Erhöhung des Proteinindexes und das nach alkalischer Denaturierung erfolgende Verhalten der verschiedenen Bluteiweissfraktionen darauf hin, dass im Vergleich zu Normalseren ein Unterschied besteht. Das abweichende Verhalten der Bluteiweissfraktionen deutet auf eine qualitative Änderung. Die Beobachtungen tragen zur Klärung einzelner Fragen des Pathomechanismus bei und bilden Anhaltspunkte für weitere Untersuchungen.

LITERATUR

1. R. Brdička : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **5**, 112 (1933).
2. O. H. Müller : J. Am. Chem. Soc. **71**, 3269 (1949).
3. J. Homolka : Časopis Lek. čes. **42**, 23 (1953).

DISKUSSION

M. BAUMANN : Ich möchte fragen, ob Sie die Denaturierung durch Alkali bei allen Seren unternommen haben? Die Denaturierung (ich weiss nicht, welche Methode Sie angewendet haben) weist ziemlich hohe Streuung auf und das Mass der Denaturierung wird von den fremden Stoffen des Eiweisses stark beeinflusst. Bei einigen Globulinfraktionen verursacht die Lipoidfraktion eine starke Änderung in dem Ergebnis der Denaturierung durch Alkali. Dabei variiert die Lipoidfraktion — unabhängig von der Silikose — stark wegen gewisser physiologischer Umstände. Der Vortrag überzeugt mich nicht, dass die Zunahme, oder überhaupt die Schwankung der Aktivität über die Fehlergrenze der Denaturierung durch Alkali wächst. Es ist bekannt, und auch ich habe während elektrophoretischer Untersuchungen beobachtet, dass die relative Menge der Eiweissfraktionen im Falle verschiedener Krankheiten recht verschieden sein kann, während die chemische Zusammensetzung sehr stabil ist. Beobachteten Sie während der Denaturierung durch Alkali ein verschiedenes Verhalten, so weist das auf eine Präformation in der Eiweissmolekel, die ich noch nie erfahren habe.

V. KALOUS : Wenn ich richtig verstanden habe, so bestimmten Sie die Konzentration der Eiweisse über den Kupferkomplex. Am Polarogramm ist eine Kupferwelle zu sehen, die nach Zugabe von Eiweiss kleiner wird. Ich glaube, diese Ergebnisse stehen mit den Ergebnissen von KAČENA, die neben ŠORM arbeitet, in Zusammenhang. Sie stellte fest, dass die Kupferkomplexe des Albumins kaum zu reduzieren sind. Die Abnahme der Kupferstufe kann also — meiner Meinung nach — der Entstehung eines unreduzierbaren Komplexes zugeschrieben werden. Allerdings müssen wir aber mit der Oberflächenaktivität der Eiweisse auch rechnen.

Der schöne polarographische Beweis des verschiedenen Verhaltens der einzelnen elektrophoretischen Serumfraktionen normaler und pathologischer Eiweisse ist sehr interessant.

Hinsichtlich der quantitativen Bestimmung der einzelnen Fraktionen möchte ich fragen, mit welchem Protein die Eichung der Methode durchgeführt wurde. Mit Albumin aus alkoholischer Lösung? Wurde auch der Stickstoffgehalt geprüft?

Aus den Versuchen geht hervor, dass die α-und β-Globuline ähnlich dem γ-Globulin mit Kupfer reagieren. Das wurde bisher so klar noch nicht festgestellt.

L. SÁSDI : Die Einstellung der Methode erfolgte mit kristallinem Albumin, bzw. γ-Globulin. Die Eichung stützt sich auf die Stickstoff-Bestimmung nach Kjeldahl.

Kollegen BAUMANN kann ich antworten, dem Vortrag lagen die Untersuchungen von Seren von 30 gesunden und 19 silikotischen Personen zu Grunde. Die Zahl erlaubt keine kritische Auswertung, die Beobachtungen weisen dennoch auf die kleinere polarographische Aktivität der elektrophoretisch hergestellten Albuminfraktion pathologischer Seren hin. DieDenaturierung mit 0,1n KOH dauerte eine halbe Stunde. Bei dem Albumin gesunder Seren betrug die Zunahme der II. Welle durchschnittlich 113%, während die der silikotischen Seren 93% war. Die Abweichung ist nicht gross, jedoch eindeutig. Im Falle der Globuline ist der Unterschied auffallender. Obzwar die Zahl der untersuchten Fälle nicht zu entsprechenden Folgerungen reicht, zeigen die Ergebnisse die Wichtigkeit der weiteren Forschung in Richtung der Sulfhydril-Aktivität an.

INVESTIGATIONS IN THE SERA OF SILICOTIC PERSONS

L. Ster

(Institute of Industrial Hygienics and Industrial Medicine, Budapest)

Summary

In the serum samples taken from persons suffering from silicosis, the increase of the protein index and the behaviour of the various fractions of blood proteins observed after an alkaline denaturation seem to indicate distinguishable differences between these sera and the normal ones. The differing behaviour of the fractions of blood proteins points to a qualitative change. These observations may serve to clear up certain problems of pathomechanism, and offer starting points for further investigations.

Frau Dr. Livia STER Budapest, IX., Nagyvárad tér 2.

DIE BEDEUTUNG DER POLAROGRAPHISCHEN UNTERSUCHUNG DER MUCOPROTEINE IN DER PNEUMOKONIOSE

M. TIMÁR und Frau L. STER

(Institut für Arbeitshygiene und Arbeitsmedizin, Budapest)

Vor allem möchte ich von den hier in Mehrzahl anwesenden Chemikern um Verzeihung bitten, weil ich in meinem Vortrag die Bedeutung der Untersuchung der Mucoproteine in der Silicose in erster Reihe von einem klinisch-pathologischen Gesichtspunkt aus behandeln werde. Ich nehme an, dass eine derartige Darstellung dieses Problems auch für den Chemiker von Interesse sein könnte, um so mehr, da manche Probleme, die die Chemiker anregten und untersuchten, auch für uns Ärzte sehr lehrreich sind.

In den letzten Jahren wurden in unserem Institut die Veränderungen der Bluteiweissstoffe von Arbeitern, die an Silicose erkrankt waren, mit Hilfe verschiedener Methoden untersucht [1]. Das Ziel war ein Verfahren auszuarbeiten, das die klinische Absonderung und die experimentelle Untersuchung von mit progredierenden und nicht progredierenden Fibrosen begleiteten Staubschädigungen ermöglicht.

Hier werden kurz die polarographischen Charakteristika der Bluteiweissstoffe in der Silikose mit besonderer Hinsicht auf die Untersuchung der Mucoproteine behandelt.

Einer von uns [2] hat in der Silicose mit Hilfe der durch MÜLLER modifizierten polarographischen Methode von BRDIČKA einen gegenüber den Kontrollpersonen erhöhten Proteinindex gefunden. Der Index der Kontrollpersonen betrug im Durchschnitt 3,8 gegen 5,0 von seit längerer Zeit in Quarzstaub arbeitenden, doch ohne eine Veränderung im Röntgenbild, oder sonstige klinische Veränderungen aufweisenden Personen und gegen 5,6 von Silicotikern.

Im weiteren wurde der Zusammenhang zwischen der Höhe des denaturierten Vollserums, bzw. der denaturierten Filtratwellen und der Änderung des Proteinindexes untersucht. Unsere Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt. Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass in der Silicose : 1. die Verminderung der D. Welle mit der Zunahme des Proteinindexes nur gering ist ; 2. die Änderungen der Filtratwelle viel ausgeprägter sind. In der Silicose steigt die Höhe der Filtratwelle parallel mit der Zunahme des Proteinindexes bedeutend an (153%). Bei den Kontrollpersonen wurden in 10,6%, bei Silicotikern in 64,6% der Fälle

Filtratwellen gefunden, die höher als 20 mm waren. PETRAČEK [3] hat in der Silicose gleichfalls höhere BRDIČKA-Filtratwellen beobachtet.

Die beträchtliche Zunahme der Filtratwelle ist also für die mit progredierender Fibrose auftretende Silicose charakteristisch, einigen anderen Krankheiten ähnlich, wie z. B. Carcinom, Sarcom, Tuberculose, febrile Entzündungen. Die Zunahme des Proteinindexes in der Silicose wird ausschlaggebend von der Höhe der Filtratwelle bestimmt. Im Studium der verschiedenen Fibrosen wurde das Serum von 9 an exsudativer und von 11 an fibrotischer Tuberculose erkrankter

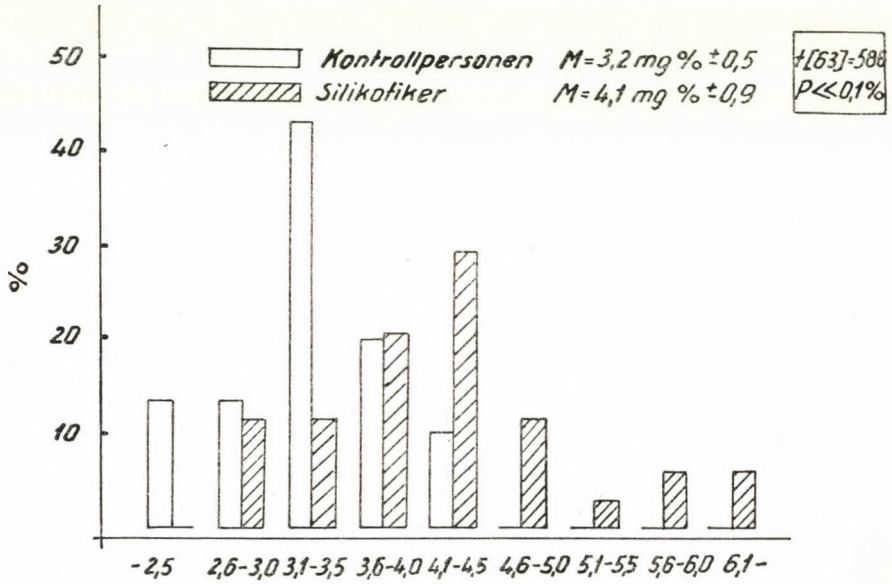


Abb. 1

Personen untersucht. Die D. Welle betrug in beiden Gruppen durchschnittlich 36 mm, die durchschnittliche Höhe der Filtratwelle war in der exsudativen Gruppe 20,5 mm, in der fibrotischen Gruppe 39 mm. In der fibrotischen Tuberculose wurden also ähnliche, aber noch höhere Filtratwellen als in der Silicose beobachtet. Die in der exsudativen Tuberculose gefundenen niedrigeren Filtratwellen beanspruchen weitere Untersuchungen.

Nachdem es geklärt wurde, dass in der Zunahme des silicotischen Proteinindexes die Erhöhung der Filtratwelle die Hauptrolle spielt, schien eine Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Erhöhung der Filtratwelle und dem Gehalt des Blutes an Mucoprotein begründet, um so mehr als in der Literatur keine Angaben bezüglich des Mucoproteingehaltes des Blutes in der Silicose gefunden wurden. Das Studium dieses Problems scheint auch von pathologischem Gesichtspunkt aus wichtig (Destruktion des Bindegewebes — gesteigerte Mucoproteinbildung).

Einer von uns [4] untersuchte daher im Laufe des Studiums der Veränderungen der Bindegewebe in der Silicose den Mucoproteingehalt des Serums mit Hilfe der von WINZLER ausgearbeiteten Methode [5]. Es wurde gefunden, dass in der mit progredierender Fibrose auftretenden Silicose die Menge des Mucoproteins im Serum erhöht ist. Der Mucoproteingehalt wird auf Tyrosin umgerechnet angegeben (Abb. 1). Das Verhältnis Tyrosin—Kohlenhydrat beträgt in den Kontrollfällen 3,40 mg %, in den Silicosefällen 3,61 mg %. In fibrotischer Tuberculose wurden noch höhere Mucoproteinwerte gefunden. In Fällen von mit einer progredierenden Fibrose nicht verbundenen Pneumokoniosen wie auch in exsudativer Tuberculose stimmen die Mittelwerte mit den bei den Kontrollpersonen gefundenen Werten überein.

Die Prozentzahl der Serummucoproteinwerte, die grösser als 3,7 mg % sind, beträgt bei den einzelnen Gruppen, wie folgt:

Kontrollpersonen	12,4% (34 untersuchte Fälle)
Silicose	76,4% (34 untersuchte Fälle)
Tbc. exsud.	22,2% (9 untersuchte Fälle)
Tbc. fibrotic.	90,9% (11 untersuchte Fälle)

Wenn man die Erhöhung der Filtratwellen in der Silicose bzw. in der Tbc. fibrotica mit dem Mucoproteingehalt des Serums vergleicht, so ist zu sehen, dass zwischen den beiden ein Zusammenhang besteht.

Höhe der Filtratwelle:	Durchschnittswert des Serummucoproteins:
12—20 mm	3,3 mg% (11 Fälle)
21—26 mm	3,9 mg% (16 Fälle)
27—59 mm	6,0 mg% (14 Fälle)

Der Meinung von MEHL und Mitarbeiter [6] nach wandern die Mucoproteine mit der α_1-Globulinfraktion. Wenn man den Gehalt des Serums von Silicotikern und Kontrollpersonen an Mucoprotein mit der α_1-Globulinfraktion vergleicht, so findet man bei einem höheren Mucoproteingehalt eine Zunahme des α_1-Globulins. Bei einem Durchschnittswert des Mucoproteins von 3,5 mg% beträgt der α_1-Globulingehalt im Durchschnitt 3,2% (30 Fälle), bei 4,7 mg% Mucoprotein 5,4% (20 Fälle). ZETTEL und Mitarbeiter [7] betonen in ihren Mitteilungen über die Veränderungen des Blutserums bei Lungenkrankheiten, dass sie im Lungencarcinom hohe α_1- bzw. α_2-Globulinwerte gefunden haben. Auffallend hoch war der α_1-Globulingehalt in Lungencarcinom (7,4 rel. %). Solche hohe Werte haben sie bei keiner anderen Lungenerkrankung beobachtet. Die Menge des α_1-Globulins war um so grösser, als der Zustand des an Carcinom Erkrankten vorgeschrittener war. Auch der α_2-Globulingehalt war in solchen Fällen hoch (13,6 rel.%). Bei Lungenentzündung und Lungentuberculose haben

sie, wenn auch in geringerem Masse, höhere α_1- bzw. α_2-Globulinwerte als das normale gefunden (ihrer Beobachtung nach hauptsächlich in der Entzündungsphase). Um die Frage, in welchem Masse die Menge des Mucoproteins eine Rolle in der Zunahme des α_1-Globulins spielt, zu klären, sind weitere Untersuchungen nötig.

Bevor wir auf die Besprechung unserer experimentellen Ergebnisse übergehen, möchten wir hier — ohne auf Vollständigkeit Anspruch zu erheben — die wichtigsten Meinungen über die Entstehung der Filtratwelle kurz besprechen. Sowohl BRDIČKA [8] in seinen früheren Versuchen, als auch zahlreiche andere Autoren schreiben die Erhöhung der Filtratwelle den Abbauprodukten der Serumproteine zu. WINZLER äussert in seinen älteren Mitteilungen eine ähnliche Meinung [9]. Er konnte in Tierexperimenten zeigen, dass zwischen dem Gehalt des Serums an Polypeptiden und der Höhe der Filtratwelle ein Zusammenhang besteht. In späteren Versuchen [5, 10], nach Bestimmung der charakteristischen Eigenschaften der Mucoproteine, stellt er fest, dass die in seinen älteren Untersuchungen nachgewiesenen Polypeptide mit den Mucoproteinen identisch sind. Auf Grund dieser letzteren Versuche nimmt er an — entgegen seiner früheren Angaben —, dass die Erhöhung der Filtratwelle durch die Mucoproteine verursacht wird. MÜLLER [11] zieht aus seinen Untersuchungen über die Plasmaproteinfraktionen den Schluss, dass in der Entstehung und in dem Wachsen des »Filtratkörpers« die α- und β-Globuline, sowie auch einige Polypeptide der Albuminfraktion eine Rolle spielen. HOMOLKA [12] beobachtete im sulfosalicylsauren Filtrat des im Laufe seiner papierelektrophoretischen Untersuchungen aus dem Bereich der α- bzw. β-Globuline gewonnenen Proteins eine grössere polarographische Aktivität. KALOUS [13] fand im sulfosalicylsauren Filtrat des Blutserums — den Angaben von MEHL und Mitarbeitern ähnlich [6] — drei Eiweisskomponenten, die er mit MP_1, MP_2 und MP_3 bezeichnete. Diese Komponenten sind auch im Blut von sowohl gesunden als auch an Carcinom erkrankten Personen vorhanden. Im Blut der an Carcinom erkrankten Personen konnte die Zunahme des Komponenten MP_1 beobachtet werden; die Erhöhung der polarographischen Stufe hängt wahrscheinlich mit der Zunahme des MP_1 zusammen.

In der uns bekannten Literatur wurden bezüglich des schon erwähnten Zusammenhanges zwischen der Höhe der Filtratwelle und dem Gehalt des Serums an Mucoprotein keine klinischen Angaben gefunden. Unsere klinischen Untersuchungen — nach denen zwischen der Höhe der Filtratwelle und der Zunahme des Mucoproteingehaltes ein Zusammenhang nachzuweisen ist — unterstützen die Annahme des MÜLLERschen Proteinindexes (unseren Erfahrungen nach wird die Zunahme des Proteinindexes in der Silicose entscheidend durch die Erhöhung der Filtratwelle bestimmt), dass der Gehalt des Serums an Mucoprotein von entscheidender Bedeutung ist. Unsere Erfahrungen stehen mit den tierexperimentell gewonnenen Angaben WINZLERS und mit den an Krebskran-

ken durchgeführten zahlreichen Untersuchungen, in denen einzelne Autoren hohe Filtratwellen, andere wieder erhöhte Serummucoproteinwerte gefunden haben, in vollem Einklang. Sie stimmen weiter mit den Angaben von GREENSPAN und DREILING [14] und von LAMM [15] überein, von denen die ersteren Auto-

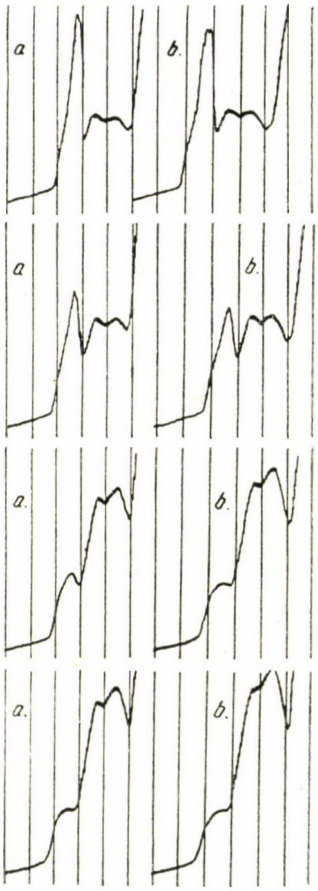


Abb. 2. Polarographische Wellen von Mucoprotein (aus 0,5, 1,0, 2,0 bzw. 3,0 ml Serum isoliert) F-Test. (Empf.: 1/300)
a) In ursprünglichem Zustand
b) Nach einer 30 Minuten langen Behandlung mit Alkali

ren bei Hepatitis niedrige Serummucoproteinwerte, der letztere dagegen niedrige Filtratwellen beobachten konnten.

Wir versuchten unsere an klinischem Material festgestellten Ergebnisse mit einigen Experimenten zu unterstützen. Wir nahmen daher Polarogramme mit verschiedenen Mengen von nach der WINZLERschen Methode isolierten Mucoproteinen, sowohl von nach der Isolierung mit Alkali behandelten Mucoproteinen, als auch von denaturiertem Albumin auf.

1. Wenn man die Filtratreaktion mit einem aus 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 ml Serum mit Hilfe der WINZLERschen Methode isoliertem Mucoprotein bzw. mit einem nach der Isolierung 30 Minuten lang mit Alkali behandelten Mucoprotein durchführt, so entstehen Filtratwellen, die dem Mucoproteingehalt gemäss erhöht sind und deren Charakter mit der Filtratwelle des Serums übereinstimmt (Abb. 2). Bei einer geringen Konzentration des unbehandelten, bzw. mit Alkali behandelten Mucoproteins ist eine Differenz der Höhen der Filtratwellen kaum zu vermerken, bei grösserer Konzentrationen gibt aber das mit Alkali behandelte

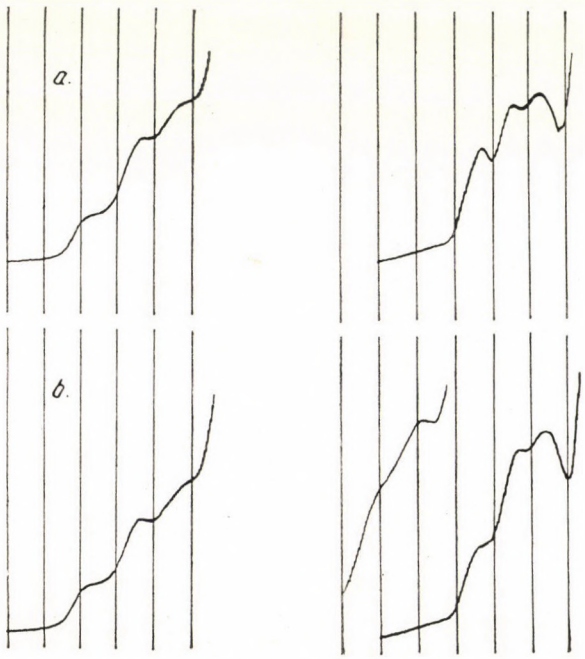


Abb. 3. Polarographische Wellen von Serum und Mucoprotein
a) Serum
b) Serum + 2 ml Mucoproteinlösung. D-Test. (Empf.: 1/300) und F-Test. (Empf.: 1/500)

Mucoprotein eine höhere Welle. Die Filtratwellenhöhe (16 mm) des aus 0,5 ml Serum gewonnenen Mucoproteins stimmt mit der bei den Kontrollpersonen gefundenen durchschnittlichen Filtratwellenhöhe überein (13—17 mm).

2. Wenn man einer Serumprobe eine aus 2 ml Serum gewonnene Mucoproteinmenge zufügt und dadurch den Gehalt des Serums an Mucoprotein auf das vierfache erhöht, vermindert sich die D. Welle, die Filtratwelle dagegen nimmt bedeutend zu (Abb. 3).

3. 3 mg Albumin (das vielfache der im ersten Versuch aus 0,5 ml Blut gewonnenen Mucoproteinmenge) gibt nach einem 5 bis 120 Minuten lang dauernden Denaturieren mit Alkali keine Filtratwelle (Abb. 4).

4. 20 mg Albumin (entspricht ungefähr einer aus 0,5 ml Serum gewonnenen Albuminmenge) gibt keine Filtratwelle (Abb. 5). Diese Tatsache, verglichen mit der 16 mm hohen Filtratwelle des aus 0,5 ml Serum gewonnenen Mucoproteins, lässt darauf schliessen, dass in der Entstehung der Serumfiltratwelle die Menge des Mucoproteins eine entscheidende Rolle spielt.

5. Die Serumfiltratwelle und die Filtratwelle des aus derselben Serummenge gewonnenen Mucoproteins sind annähernd gleich hoch (Abb. 6).

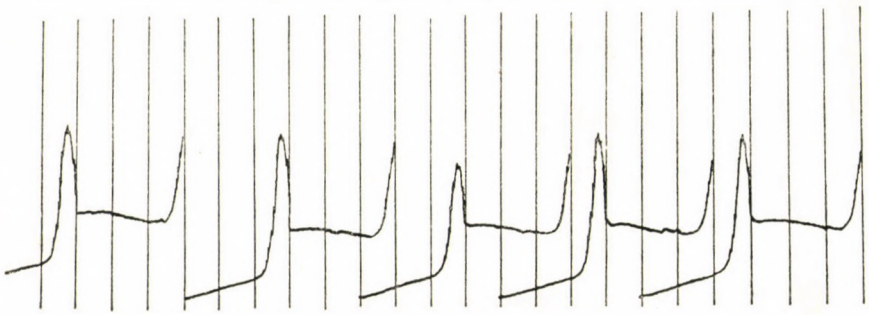


Abb. 4. F-Test (Empf.: 1/300) von 5, 30, 60, 90 bzw. 120 Minuten lang denaturiertem Albumin (3 mg)

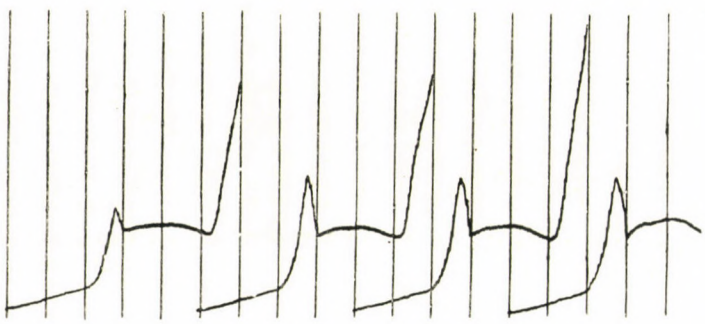


Abb. 5. F-Test von 10, 20, 30 bzw. 40 mg Albumin (Empf.: 1/300)

Die Schlussfolgerungen sowohl unserer klinischen Untersuchungen als auch unserer mit isolierten Mucoproteinen durchgeführten Versuche können wie folgt zusammengefasst werden:

1. Der Mucoproteingehalt des Serums ist in der Silicose sowohl für die Höhe der Filtratwelle als auch für die Zunahme des Proteinindexes entscheidend verantwortlich.

2. Die Höhe der Filtratwelle wird ausschlaggebend von der Menge des im ursprünglichen Zustand anwesenden Mucoproteins bestimmt; die Behandlung des Mucoproteins mit Alkali spielt in der Erhöhung der Filtratwelle eine nur untergeordnete Rolle.

3. Die im Laufe der Denaturierung der Serumproteine frei werdenden — SH-Gruppen spielen in der Entstehung der Serumfiltratwelle in der Silicose eine wichtige Rolle.

4. Die erhebliche Vergrösserung des Mucoproteingehalts ruft eine Verminderung der D. Welle hervor. Die Klärung der Frage, ob der hohe Mucoproteingehalt des Serums im Carcinom in der erheblichen Verminderung der D. Welle von Bedeutung sei, beansprucht weitere ausführliche Untersuchungen.

5. Unsere Versuche unterstützen unsere im Laufe der klinischen Beobachtungen gewonnenen Erfahrungen.

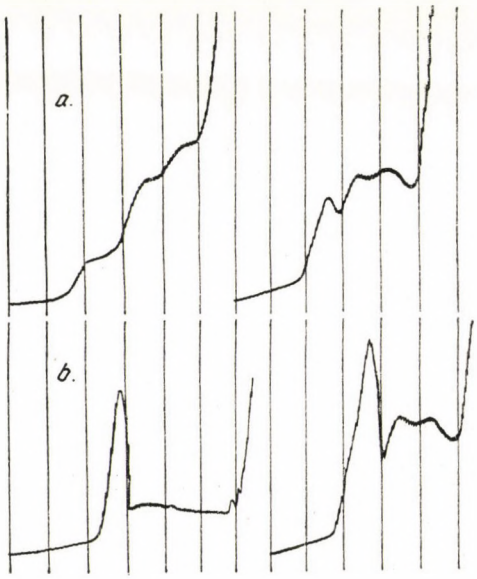


Abb. 6. a) D-Test (Empf.: 1/500) und F-Test (Empf.: 1/300) von Serum
b) D-Test (Empf.: 1/500) und F-Test (Empf.: 1/300) von Mucoprotein (aus 0,5 ml Serum isoliert)

6. In der Silicose ist eine grössere Menge von Mucoprotein im Blut; es kann angenommen werden, dass dies infolge des durch die Einwirkung des Quarzes veränderten Stoffwechsels der Bindegewebe entsteht. Es kann weiters angenommen werden, dass in der mit einer progredierenden Fibrose nicht verbundenen Pneumokoniose diese Stoffwechseländerung der Bindegewebe nicht zustandekommt. Unsere schon erwähnten und einstweilen noch in einer geringen Zahl zur Verfügung stehenden Beobachtungen weisen darauf hin, dass in solchen Fällen normale Mucoproteinwerte und Filtratwellen zu vermerken sind. Insofern es uns gelingen wird diese letzteren Beobachtungen an Hand einer grösseren Zahl von Versuchen zu bestätigen, so wird sich eine neue Möglichkeit zur klinischen und experimentellen Absonderung der sowohl mit Fibrose verbundenen als auch der mit einer progredierenden Fibrose nicht verbundenen Pneumoko-

Tabelle I

Proteinindex	Zahl der Fälle						Höhe der D-Welle mm									Höhe der F-Welle mm								
	Kontroll pers.		In Quarzstaub Arbeitende Sil. neg.		Silicotiker		Kontroll pers.			In Quarzstaub Arbeitende Sil. neg.			Silicotiker			Kontroll pers.			In Quarzstaub Arbeitende Sil. neg.			Silicotiker		
	Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100	M	±S	$\frac{S}{M}$ 100
2,1—3	22	29,3	—	—	—	—	41	5,0	12,2	—	—	—	—	—	—	13	1,8	13,8	—	—	—	—	—	—
3,1—4	31	41,4	7	15,2	13	12,4	42	4,8	11,4	40	3,8	9,5	39	3,7	9,5	17	2,5	14,7	16	2,6	16,2	16	1,9	11,9
4,1—5	14	18,7	13	28,2	24	22,9	39	3,6	9,2	38	4,5	11,8	38	5,0	13,2	19	1,7	8,9	18	2,0	11,1	20	2,3	11,5
5,1—6	4	5,3	18	39,2	36	34,3	38	—	—	36	2,0	5,6	38	5,3	13,9	23	—	—	21	2,2	10,5	25	3,2	12,8
6,1—7	4	5,3	8	17,4	25	23,8	39	—	—	34	6,9	20,3	38	6,3	16,6	31	—	—	30	3,7	12,3	30	5,6	18,7
7,1—8	—	—	—	—	5	4,7	—	—	—	—	—	—	35	—	—	—	—	—	—	—	—	29	—	—
Höher als 8,1 ..	—	—	—	—	2	1,9	—	—	—	—	—	—	28	—	—	—	—	—	—	—	—	33	—	—
Summe	75	100,0	46	100,0	105	100,0																		

niosen darbieten. Nachdem eine höhere Filtratwelle auch bei den schon seit längerer Zeit in Quarzstaub arbeitenden, aber noch keine pathologische Veränderungen im Röntgenbild aufweisenden Personen nachzuweisen ist (es kann daher angenommen werden, dass die Veränderungen des Bindegewebestoffwechsels früher erscheinen als die durch das Röntgenbild nachweisbare Fibrose), sei hier erwähnt, dass mit Hilfe dieser Untersuchungsmethode vielleicht die Ausarbeitung einer diagnostischen Methode ermöglicht wird, die das frühzeitige Erkennen der durch einem quarzhältigen Staub verursachten Veränderungen der Bindegewebe erlaubt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Erhöhung der Serumfiltratwelle ist in der Silicose einigen anderen Krankheiten ähnlich charakteristisch. Die Veränderung der D. Welle ist nur gering. Es wurde durch die Bestimmung des Mucoproteins im Serum mit der WINZLERschen Methode festgestellt, dass der Gehalt des Serums an Mucoprotein in der Silicose zunimmt. Zwischen der Höhe der Filtratwelle und dem Mucoproteingehalt besteht ein Zusammenhang. Auf Grund klinischer Untersuchungen wird — in Übereinstimmung mit WINZLER — vorausgesetzt, dass in der Erhöhung der Filtratwelle die Menge des Serummucoproteins eine ausschlaggebende Rolle spielt. Es wird versucht die klinischen Feststellungen experimentell zu beweisen. Durch die polarographische Untersuchung von isoliertem Mucoprotein gelang es, einige Gesetzmässigkeiten der Entstehung der D. bzw. der Filtratwelle experimentell aufzuklären. Die Versuche stimmen überein und bestätigen die klinischen Beobachtungen.

Weitere Beobachtungen, die auf Grund dieser Versuche zu unternehmen sind, werden uns vielleicht zur Ausbildung der für verschiedene Staube charakteristischen pathologischen und klinischen Krankheitsbilder und zur Erklärung der noch offenen Fragen der Diagnose sowie der Prognose als auch der Klassifizierung der Pneumokoniosen verhelfen.

LITERATUR

1. M. TIMÁR : Гигиена и санит. (Hygiene und Gesundheitswesen) **7**, 25 (1955).
2. L. SÁSDI : Acta Chim. Hung. **9**, 241 (1956).
3. E. PETRÁČEK : Pracovní lékařství. **5**, 313 (1952).
4. M. TIMÁR : Die arbeitshygienische Konferenz in Dresden, 1955. In Vorbereitung.
5. R. J. WINZLER, A. W. DEVOR, J. W. MEHL und I. M. SMYTH : J. Clin. Invest. **27**, 609 (1948).
6. J. W. MEHL, J. HUMPHREY und R. J. WINZLER : Proc. Soc. exp. Biol. Med. **72**, 106 (1949).
7. H. ZETTEL, M. KNEDEL, M. ENDRESS und H. ENDRESS : Z. Klin. Med. **153**, 134 (1955).
8. R. BRDIČKA : Acta Union internat. contra Cancer. Louvain, Belgique **3**, 12 (1938).
   R. BRDIČKA, F. V. NOVÁK und J. KLUMPAR : Acta radiol. et. cancerol. Bohemiae et Moraviae. **2**, 27 (1939).
9. R. J. WINZLER und D. M. BURK : J. Nat. Cancer Inst. **4**, 417 (1944).
10. H. E. WEIMER, J. W. MEHL und R. J. WINZLER : J. biol. Chemistry **185**, 561 (1950).
11. O. H. MÜLLER : Federation Proc. **10**, 95 (1951).
12. J. HOMOLKA : Časopis lékařů českých **92**, 633 (1953).
13. V. KALOUS : Collection Czechoslov. Chem. Communs. **19**, 1039 (1954).
14. E. M. GREENSPAN und D. A. DREILING : A. M. A. Arch. intern. Med. **91**, 474 (1953).
15. GY. LAMM : Orvosi Hetilap (ungarisch) **21**, 581 (1954).

DISKUSSION

N. NOVOTNÝ : Ich hätte einige Fragen in Verbindung mit dem interessanten Vortrag. Erste Frage : durch welchen physiologischen Mechanismus kann es erklärt werden, wie die Mucoproteine in den Kreislauf gelangen ? Spielt hier ausschliesslich der Mechanismus des Abbaues, oder spielen auch andere

Faktoren eine Rolle? Die folgenden Fragen sind überwiegend methodische Probleme. Wurde die Lokalisation der Mucoproteine verfolgt, wenn ja, dann mit welcher Methodik? Durch Papier-Elektrophorese oder durch Tiselius-Elektrophorese? Haben sie α-Globuline isoliert, und wenn ja, dann mit welcher Methode wurde der Mucoproteingehalt bestimmt? Schliesslich eine Frage: mit welcher Methode wurde die Zunahme der α-Globuline untersucht?

V. KALOUS: Der α_1-Globulingehalt der Sera wurde durch Papierelektrophorese bestimmt. Die Menge wurde mit der Menge der Mucoproteine verglichen. Zwischen diesen Mengen besteht in normalen und silicotischen Fällen ein Zusammenhang. Ich glaube, das ist eine etwas grobe Methode. Beim Albumin wurde keine Filtratwelle beobachtet. Auch wir haben Albumin elektrophoretisch isoliert und keine Welle erhalten. HOMOLKA untersuchte die Stufen der einzelnen Fraktionen und stellte fest, dass α- und β-Globulinfraktionen polarographisch aktiv seien und eine Filtratwelle geben. Französische Forscher trennten die Eiweisskomponenten papierelektrophoretisch, bestimmten kolorimetrisch die Mucoproteine und stellten fest, dass alle, besonders die α_1 und β_1-Mucoproteine Fraktionen enthalten.

Die statistischen Versuche über normale und silicotische Fälle stimmen mit den Erfahrungen WINZLERS und seiner Mitarbeiter über andere Krankheiten überein.

Der Zusammenhang zwischen dem Mucoproteingehalt und der Höhe der Filtratwelle ist sehr wichtig. Ich möchte ihre graphische Darstellung gern sehen. Solche Versuche nämlich vor 4 Jahren durch meine Kollegen SLAVIK und MICHALECZ durchgeführt wurden. Sie bestimmten den Mucoproteingehalt bei verschiedenen Krankheiten, die Messpunkte streuten jedoch so weit, dass kein Zusammenhang erkannt werden konnte. Es ist möglich, dass im Falle der Silicose ein besserer Zusammenhang besteht. Ist dieser streng, so bedeutet es, dass das Verhältnis der MP_1, MP_2, MP_3 Komponenten immer gleich bleibt. Die Streuung der Punkte weist eventuell auf das verschiedene Verhältnis der Komponenten hin.

G. LAMM: Ich habe zum interessanten Vortrag von dr. TIMÁR eine Frage und eine Bemerkung. Wie, bzw. in welchem Lösungsmittel haben Sie die Mucoproteine nach der Ausfällung gelöst? Was für eine Lösung haben Sie erhalten, eine klare oder eine suspensionartige? Die Bemerkung bezieht sich auf die interessante Beobachtung über die exsudative bzw. fibrotische Tuberculose. Im Falle einer exsudativen Tuberculose nehmen der Mucoproteingehalt und die Filtratwelle nicht dermassen zu, wie bei der fibrotischen Tuberculose. Ich möchte erwähnen, dass in der Literatur der letzteren Monate mehrere Mitteilungen erschienen sind, die beschreiben, dass in 70% der exsudativen, also toxischen Tbc Fälle, auch die Leber von der Krankheit angegriffen wird. Durch funktionelle Leberuntersuchungen können daher Lebererkrankungen bewiesen werden. Das Ausbleiben der Zunahme des Mucoproteingehaltes kann also vielleicht der Erkrankung der Leber zugeschrieben werden. GREENSPAN und DREILIG, und auch andere Autoren stellten nämlich fest, dass der Mucoproteingehalt der Sera während der Lebererkrankung abnimmt.

Ich möchte zu den HOMOLKAschen Versuchen erwähnen, dass auch wir einige Versuche durchführten. Wir stellten fest, dass im Falle der Lebererkrankungen während der Untersuchung der Filtratwelle durch eine Behandlung mit p-Chlormercuribenzoat viel mehr SH-Gruppen blockiert wurden, als in den normalen Fällen. Man kann also annehmen, dass bei solchen Erkrankungen

die SH-Gruppen besser »aufgeschlossen« werden, als in normalen Eiweissen.

M. TIMÁR: Wir wissen nichts sicheres über die Entstehung der Mucoproteine in der Silicose. Mit den charakteristischen Zügen der Mucoproteine in den einzelnen Eiweissfraktionen befassten wir uns nicht.

Darüber sprach gestern Kollege KALOUS ausführlich. Im isolierten α_1-Globulin wurde die Menge des Mucoproteins nicht bestimmt. Die Isolierung der Eiweissfraktionen erfolgte nach der GRASSMANschen Methode.

Dr. LAMM danke ich für die wertvolle Bemerkung über den Zusammenhang des Mucoproteinwertes und der Tuberculose bzw. Lebererkrankungen. Das isolierte Mucoprotein wurde nach der Methode MÜLLER untersucht, wir erhielten eine klare Lösung.

Kollegen KALOUS danke ich für die wertvollen Bemerkungen über die Detailfragen der Mucoproteinkomponenten. Wir befassten uns mit diesbezüglichen Untersuchungen nicht, wir studierten die Bedeutung des Gesamtmucoproteins in der Silicose, mit der polarographischen und auch mit anderen Methoden, vom klinischen und pathologischen Standpunkt.

Der Zusammenhang zwischen der Mucoproteinmenge und Wellenhöhe zeigt in der graphischen Darstellung bei Tuberculose eine unbedeutende, bei der Silicose eine etwas grössere Streuung. Der Zusammenhang zwischen der Zunahme der α_1-Globulinfraktion, und des Mucoproteins wurde von uns als ein klinisch-diagnostischer Zusammenhang erwähnt. Die von uns benützte Methode ist unserer Meinung nach zu einer genauen Untersuchung der Lokalisation der Mucoproteine ungeeignet. Das war aber auch nicht unser Ziel.

THE IMPORTANCE OF THE POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF MUCOPROTEINS IN PNEUMOCONIOSIS

M. Timár and *L. Ster*

(Institute of Industrial Hygienics and of Industrial Medicine, Budapest)

Summary

The increase of wave height of sera in silicosis is characteristic of this disease just as of certain other diseases. The change of the D-wave is very slight. The determination of the content of mucoproteins in the serum proved by the Winzler method that sera of silicotic persons show increased levels of mucoproteins. A correlation exists between the wave height of filtrate and the content of mucoproteins. On the basis of the clinical investigations carried out, it is assumed — in accordance with Winzler — that in the increase of height of the filtrate wave the quantity of mucoproteins in the serum takes a decisive part. Experiments were conducted to confirm clinical experiences. Polarographic studies into separated mucoproteins making possible to evolve experimentally certain regularities in the formation of D-waves and filtrate waves, respectively, are described. The experiments carried out yielded agreeing results confirming the clinical observations.

Investigations planned in continuation of the present work may perhaps help the authors to establish the pathological and clinical pictures of diseases characteristic of the different types of industrial dusts and in solving various unsettled questions in the diagnosis and prognosis, as well as in the classification of pneumoconioses.

Dr. Miklós TIMÁR
Frau Dr. Livia STER } Budapest, IX., Nagyvárad tér 2.

ARBEITSMETHODEN ZUR POLAROGRAPHISCHEN BESTIMMUNG EINIGER AROMATISCHER NITROVERBINDUNGEN IM DIENSTE DER ARBEITSHYGIENISCHEN UNTERSUCHUNGEN

I. AJTAI und GY. CSÁNYI

(Institut für Arbeitshygiene und Arbeitsmedizin, Budapest)

In vorliegender Arbeit berichten wir über drei praktische Bestimmungsmethoden aus der analytischen Praxis der Arbeitshygiene, und zwar 1. über die Bestimmung von wasserdampfflüchtigen aromatischen Nitroverbindungen im Harn, 2. über die polarographische Bestimmung von Tri-o-cresylphosphat in Luft und 3. über den Nachweis und Bestimmung von Benzol in Benzin.

Im Prinzip beruhen alle drei Verfahren auf der wohlbekannten und vorteilhaften polarographischen Bestimmungsmöglichkeit der aromatischen Nitroverbindungen, doch führen wir einige neue Änderungen in die erste Methode, in der Vorbereitung der Probe für die polarographische Analyse und in die zweite bzw. dritte Methode, durch die Anwendung der Polarographie auf die betreffenden Untersuchungsmaterialien ein.

I. Die Bestimmung von wasserdampfflüchtigen aromatischen Nitroverbindungen im Harn

Die polarographische Analysenmethode ist in der gewerbehygienischen Untersuchung des Gehaltes an aromatischen Nitroverbindungen in der Luft verbreitet und auch bei uns eingeführt. Was die Bestimmung im biologischen Material anbelangt, sei hier daran erinnert, dass Prof. TEISINGER — ein Teilnehmer unserer Sitzungen — mit der Bestimmungsmethode von Nitrobenzol im Blut [1] als erster die polarographische Arbeitsmethode in das arbeitshygienische Laboratorium eingeführt hat.

Die polarographische Literatur [2] berichtet über die Untersuchung des Harns auf toxische aromatische Nitroverbindungen in Fällen akuter Vergiftungen, wo die Nitroverbindungen in so grosser Konzentration im Harn erscheinen, dass die polarographische Analyse sich nach einer geeigneten Verdünnung direkt im Harn durchführen lässt. Unsere Aufgabe war eine solche Methode auszuarbeiten, die in der Gewerbehygienepraxis im Falle subakuter Vergiftungen für Untersuchungszwecke geeignet ist. Deshalb trachteten wir die polarographisch höchsterreichbare Empfindlichkeit für Nitroverbindungen (10^{-5}—10^{-6} mol im Harn) zu erreichen. Unseren Erfahrungen nach lässt sich die Analyse

direkt aus Harn mit grösseren Galvanometerempfindlichkeiten wegen der störenden Wirkung einiger normaler Harnbestandteile nicht durchführen. Um diesen störenden Einfluss zu beseitigen, wurde versucht, die wasserdampfflüchtigen Nitroverbindungen durch Destillation zu trennen. Eingehende Versuche führten zur Feststellung, dass das aus einer schwach sauren gepufferten Verdünnung des Harns erhaltene Destillat die flüchtigen aromatischen Nitroverbindungen, die im Harn vorhanden waren, praktisch quantitativ und zugleich von den störenden Harnsubstanzen befreit enthält. Diese günstige Erfahrung wurde kontrolliert und mit mehr als 50 Normalharnuntersuchungen bestätigt. Es hat sich gezeigt, dass der Normalharn — wie bekannt — keine flüchtigen aromatischen Nitroverbindungen enthält und dass das Destillat bei der polarographischen Analyse in dem Spannungsbereich von 0 bis —1 Volt einen ungestörten stufenfreien Grundstrom liefert. Es ist noch zu bemerken, dass ein aus stark saurem oder alkalischem Milieu erhaltenes Harndestillat für die polarographische Analyse ungeeignet ist.

Zu den wasserdampfflüchtigen aromatischen Nitroverbindungen gehören ausser Nitrobenzol noch viele andere, auch technisch verwendete, hauptsächlich Mononitroderivate. Wie unsere Versuche zeigten, lassen sie sich sämtlich aus schwach angesäuerter Lösung destillieren. Die qualitative Unterscheidung der einzelnen Verbindungen ist aber auf polarographischem Wege — wegen der Übereinstimmung ihrer Halbstufenpotentiale — erschwert und praktisch nicht durchführbar.

In der Praxis arbeiten wir nach der folgenden Vorschrift: 25 ml Harn werden aus einem 500 ml Rundkolben nach Zugabe von 10 ml Kaliumdihydrogenphosphat-Pufferlösung (gesättigt), unter behutsamer Luftheizung langsam so lange destilliert, bis 20 ml Flüssigkeit übergehen. Dem Destillat werden 5 ml einer Grundlösung von 5% Kaliumchlorid und 5% Natriumcitratgehalt zugegeben. Nach Filtrieren wird die Lösung mit einer geeigneten Galvanometerempfindlichkeit zwischen 0 und —1 Volt polarographiert. Die quantitative Auswertung des Polarogramms erfolgt nach der Zusatz- oder Vergleichsmethode mit einer bekannten Standardlösung der betreffenden Nitroverbindung. Bei Serienuntersuchungen ist auch ein Eichdiagramm zweckdienlich. Dieses Harnuntersuchungsverfahren wurde in unserem Institut in der Praxis und besonders im Laufe einer gewerbehygienischen Studiumarbeit, namentlich für die polarographische Bestimmung einiger aromatischer Nitroverbindungen aus Harn (Nitrobenzol, Nitroäthylbenzol, p-Nitrotoluol, Monochlornitrobenzol, Nitroanisol und Nitrophenetol) mit gutem Erfolg angewandt.

II. Die polarographische Bestimmung von Tri-o-cresylphosphat

Tri-o-cresylphosphat hat als Lösungsmittel und Weichmacher eine technische Bedeutung. Sein o-Isomer zeigt eine besonders starke toxische Wirkung.

Die folgende Bestimmungsmethode wurde — im Dienste toxikologischer Experimente — für Luftuntersuchungen entwickelt. Bei dieser Methode wird das Nitrierungsprodukt von Tri-o-cresylphosphat (T-oCP) polarographisch bestimmt.

Bekanntlich führt die Nitrierung aromatischer Verbindungen — in Abhängigkeit von der Stärke der Nitriersäure und der Reaktionstemperatur — gemäss dem Nitrierungsgrad zu verschiedenen Nitroderivaten. Unsere Aufgabe war die Ausarbeitung einer praktischen Bestimmungsmethode. Deshalb trachteten wir ein gut reproduzierbares und auch in seiner Stufenform gut polarographierbares Nitroderivat herzustellen.

Unsere Versuche mit verschiedenen Nitriersäuregemischen wiesen darauf hin, dass für die gegebene Aufgabe ein Gemisch von Eisessig—rauchender Sal-

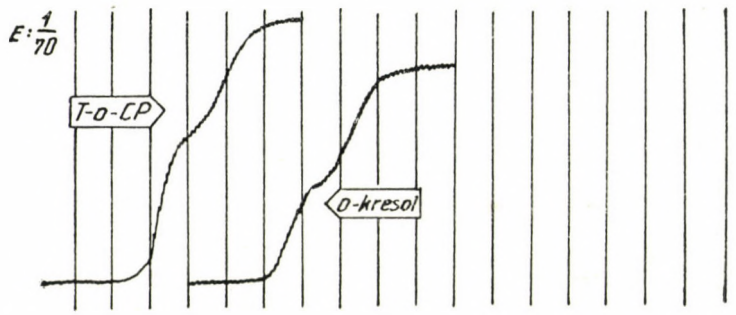


Abb. 1. Polarogramme von nitriertem T-oCP und nitriertem o-Cresol in äquimolekularen $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ m Lösungen. Akkum. 2 Volt, vom Spannungsnullpunkt an aufgenommen

petersäure am geeignetsten war. Einerseits ist Eisessig ein gutes Lösungsmittel für T-oCP, andererseits führt die Nitrierung in 1 : 1 Eisessig-Salpetersäure zu einem sehr gut reproduzierbaren Dinitroderivat.

In der Luftuntersuchung wird das in Alkohol aufgenommene T-oCP durch Eintrocknen am Wasserbad vom Alkohol befreit. Das im Rückstand verbleibende T-oCP wird mit 0,5 ml Eisessig in Lösung gebracht und nach Zugabe von 0,5 ml Salpetersäure (d : 1,52) bei Zimmertemperatur über 12 Stunden nitriert. Am nächsten Tag werden der Probe weitere 2 ml Eisessig zugefügt ; dann folgt die Neutralisation mit 4—5 ml konz. Ammoniak bis zu einer schwach alkalischen Reaktion. Das Volum wird mit Wasser auf 10 ml eingestellt, und das Polarogramm nach Entlüftung zwischen 0 und —1 Volt registriert. Die Vergleichslösung zur Auswertung der Konzentration des T-oCP bereitet man aus einer T-oCP Standardlösung in Eisessig. Sie wird in gleicher Weise, wie die unbekannte Probe, nitriert und weiter behandelt. Die Methode ist einfach und hat hinreichende Empfindlichkeit, denn es lassen sich noch 10 γ T-oCP in einer Luftprobe nachweisen.

Bei der polarographischen Analyse zeigt das T-oCP Nitroderivat ein regelmässig ausgebildetes Zweistufenpolarogramm (Abb. 1 und 2), das — bezüglich der Form und des Abscheidungspotentials — eine sehr grosse Ähnlichkeit mit dem Polarogramm des Dinitro-o-Cresols aufweist, das sich durch dieselbe Nitrierungsmethode aus o-Cresol herstellen lässt. Auf die chemische Identifizierung des T-oCP Dinitro-Derivates wurde verzichtet. In dieser Hinsicht wäre

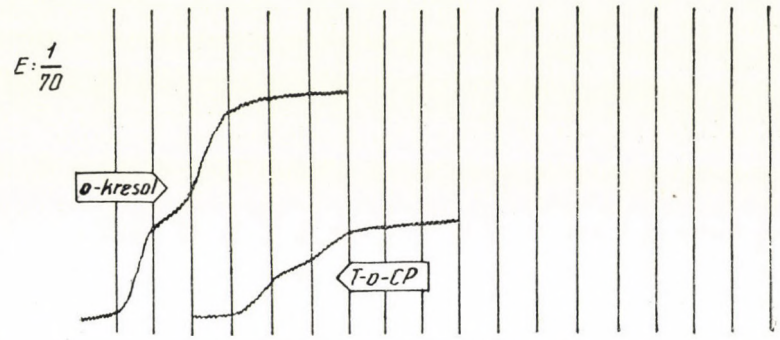


Abb. 2. Polarogramme von nitriertem o-Cresol und T-oCP in Lösungen gleicher (25 mikrogramm/ml) Konzentration. Akkum. 2 Volt, vom Spannungsnullpunkt an aufgenommen

diese Arbeit mit weiteren chemischen und polarographischen Versuchen zu ergänzen.

III. Die Bestimmung von Benzol in Benzin

Die Frage des Benzolgehaltes von technischen Benzinen und Benzol-Benzingemischen hat in der praktischen Arbeitshygiene deshalb Bedeutung, weil Benzol eine viel stärkere toxische Wirkung als Benzin aufweist. Benzinanalysen werden oft verlangt.

Für praktische Zwecke sind die einfachen kolorimetrischen Verfahren im Gebrauch, da die einwandfreie absorptionspektralanalytische Messmethode eine teuere apparative Einrichtung benötigt. In dem von uns modifizierten kolorimetrischen Verfahren von WEBER [3] wird das Benzol mit Nitriersäure zu m-Dinitrobenzol nitriert, letzteres gibt dann, aus alkalischer Lösung mit Amylalkohol ausgeschüttelt, mit Aceton eine konzentrationsproportionale permanganatviolette Farbenreaktion.

Da sich das Benzol bei der polarographischen Analyse ebenfalls durch Überführung in m-Dinitrobenzol bestimmen lässt, lag der Gedanke an Hand, die zur kolorimetrischen Analyse vorbereitete Lösung auch polarographisch zu untersuchen. Unseren Versuchen nach zeigt ein analysenreines, mit Nitriersäure behandeltes Benzin weder die beschriebene Farbenreaktion, noch eine polarographische Aktivität im Potentialgebiet der Nitroverbindungen. Ein

nitriertes benzolhaltiges Benzin gibt jedoch bei der polarographischen Analyse das Zweistufenpolarogramm des m-Dinitrobenzols.

Unserer Arbeitsvorschrift nach werden 0,5 ml der Benzinprobe zu 5 ml der Nitriersäure zugemischt. Die Nitriersäure besteht aus 2 : 1 konz. Schwefelsäure (d : 1,84) und konz. Salpetersäure (d : 1,42). Nach einem 2—3 stündigen Stehen bei Zimmertemperatur werden aus dem Reaktionsgemisch 0,5 ml in 100 ml dest. Wasser tropfenweise eingebracht. Nun folgt die Neutralisierung bzw. Alkalisierung mit 9 Pastillen NaOH (der pH-Wert steigt über 11). Die erhaltene Lösung dient zur Durchführung der kolorimetrischen und polarographischen Analyse.

Zum kolorimetrischen Verfahren werden 10 ml der Untersuchungslösung in einem Scheidetrichter mit 10 ml Isoamylalkohol ausgeschüttelt. Die amylalkoholische Phase wird in einem Reagenzglas nach Zugabe von 3 ml Aceton und 2 Pastillen NaOH gut vermischt und die Farbentiefe nach einer Wartezeit von 15 Minuten im Pulfrich-Stufenphotometer (S 53) gegen eine bekannte Standardlösung bestimmt.

Im Laufe der polarographischen Analyse wird das Polarogramm des m-Dinitrobenzols mit einer geeigneten Galvanometerempfindlichkeit und 2 Volt Akkumulator-Spannung vom Spannungsnullpunkt an registriert. Wenn z. B. eine Benzinprobe mit 10 vol % Benzol vorliegt, ist nach der angeführten Vorschrift eine Empfindlichkeit von 1/200 zur Messung geeignet. Zur quantitativen Auswertung des Benzolgehaltes wurde die erste grosse Nitrostufe benützt, und auf derselben Aufnahme auch das Polarogramm der bei der kolorimetrischen Analyse schon benützten Vergleichslösung registriert. Die Vergleichsprobe wird aus p. a. Benzin mit bekanntem Benzolgehalt bereitet, parallel mit der zu untersuchenden Probe nitriert und weiter behandelt. Das polarographische Verfahren zeigte mit dem kolorimetrischen eine praktisch genügende Übereinstimmung (Fehlergrenze binnen 10%).

Methanol und Äthanol, sowie Trichloräthylen stören die Bestimmung nicht, aber das Vorhandensein der Benzolhomologen Toluol und Xylol bedeutet weitere analytische Schwierigkeiten. In Abhängigkeit vom relativen Mengenverhältnis der Homologen und Benzol wird die Auswertung des Benzolgehalts erschwert oder unsicher. Es wurden Versuche in Gang gesetzt, um die Möglichkeit einer Unterscheidung des Benzols von Toluol und Xylol mit Hilfe der kolorimetrisch-polarographischen Parallelbestimmungsmethode näher zu studieren. Diese Arbeit ist noch nicht beendet, doch möchten wir vorläufig über folgendes berichten : für praktische Zwecke lässt sich das Benzol mit dieser Methode auch in Anwesenheit von Homologen verlässlich bestimmen. Die gesonderte Bestimmung von Toluol und Xylol in Mischungen ist aber auf diesem Wege noch nicht möglich.

In diesem Zusammenhang ist also der kolorimetrische Nachweis von Benzol nur in dem Sinne eindeutig, dass die Empfindlichkeit der Farbenreaktion von

Toluol 25—30mal geringer ist. Das durch eine blaue Verfärbung erkennbare Xylol stört die kolorimetrische Benzolbestimmung nur dann, wenn seine Menge die des Benzols übertrifft.

Die polarographische Reaktion ist weniger eindeutig; sie ist bei den untersuchten Nitroderivaten Benzol, Toluol und Xylol identisch, auch fallen die Abscheidungspotentiale praktisch zusammen und die Polarogramme überdecken sich. Doch sind einige Unterschiede in den Stufenformen, namentlich bei unserer Arbeitsmethode so ausgeprägt, dass man sie zur Identifizierung benüt-

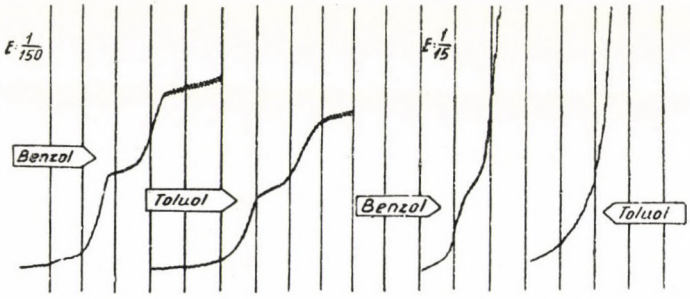


Abb. 3. Polarogramme von Dinitrobenzol und Dinitrotoluol in alkalischen, 4.10^{-4} m Lösungen der Nitroderivative. Akkum. 2 Volt vom Spannungsnullpunkt an aufgenommen

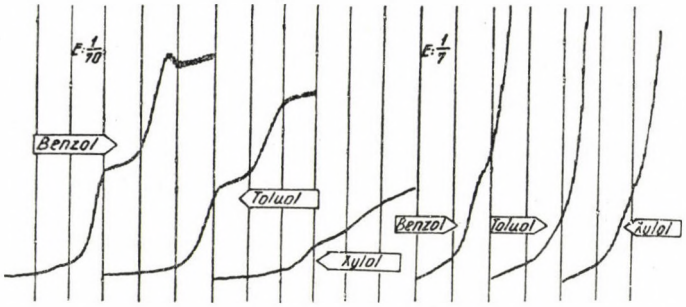


Abb. 4. Polarogramme von nitriertem Benzol, Toluol und Xylol. Konzentration der Lösungen $2 \cdot 10^{-4}$ m. Akkum. 2 Volt, vom Spannungsnullpunkt an aufgenommen

zen kann. Abb. 3 und 4 zeigen die Polarogramme der entsprechenden Nitroverbindungen von Benzol, Toluol und Xylol.

Aus den Abbildungen ist ersichtlich, dass auf dem Polarogramm des m-Dinitrobenzols vor der regelmässigen m-Dinitrobenzolstufe eine kleine Vorstufe erscheint. Mit einer 10fachen Galvanometerempfindlichkeit aufgenommen lässt sich auch die Stufenhöhe dieser Vorstufe gut ausmessen. Das Dinitroderivat des Toluols zeigt ein gut ausgebildetes Zweistufenpolarogramm, aber keine Vorstufe. Benzol und Toluol lassen sich dadurch in reinen Lösungen sicher unterscheiden. Das Polarogramm des Xylolnitroderivates ist, wie ersichtlich, flach und verschwommen.

Da die Vorstufe im m-Dinitrobenzolpolarogramm von benzolhaltigen Benzinen — unserer Erfahrung nach — immer erscheint, ist sie zum Nachweis von Benzol auch in Mischungen der Homologen geeignet. Aus Untersuchungen von Konzentrationsreihen künstlicher benzolhaltiger Benzinproben (2—25% Benzolgehalt) ging hervor, dass auch die Vorstufe konzentrationsproportional ist, dass das Höhenverhältnis der ersten grossen Nitrostufe und der Vorstufe konstant bleibt und zahlenmässig im Durchschnitt 13,5 beträgt. Wenn in unseren Versuchen auch Toluol vorhanden war, ergab sich die Verhältniszahl je nach der Toluolzugabe immer grösser. Auch die Menge des Toluols lässt sich schätzungsweise berechnen.

Um das Zustandekommen der Vorstufe im m-Dinitrobenzolpolarogramm theoretisch zu erklären, kann man mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass es den o- und p-Dinitrobenzolisomeren zuzuschreiben ist, denn es ist einerseits eine aus der organischen Chemie bekannte Tatsache, dass bei der Benzolnitrierung über 90 % die m-Dinitrobenzolverbindung und nur 5—8 % der anderen Isomere entstehen, anderseits weist HOLLECK [4] in seinen eingehenden Untersuchungen über das polarographische Verhalten der einzelnen Dinitrobenzolisomeren darauf hin, dass die Halbstufenpotentiale der ersten Welle der o-, p- und m-Verbindungen in Lösung von pH 11—12 (wir arbeiten auch in diesem pH-Bereich) am weitesten auseinander liegen, namentlich beim o- und p-Isomer um 0,1 Volt positiver als beim m-Isomer sind.

Bei der praktischen Bestimmung von Benzol in Benzin halten wir es — auf Grund unserer Untersuchungen — für zweckmässig, die parallele kolorimetrisch-polarographische Bestimmungsmethode anzuwenden. Die polarographische Analyse ist immer mit Rücksicht auf die Vorstufe des m-Dinitrobenzolpolarogramms mit der Kontrolle der Verhältniszahl der Stufenhöhen durchzuführen. Wenn die Verhältniszahl 14 übersteigt, ist eine Aromatenmischung vorhanden. Toluol lässt sich halbquantitativ aus der gesamten Stufenhöhe der ersten grossen Nitrostufe — nach Abzug der Stufenhöhe des Benzolderivates berechnen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden polarographische Methoden beschrieben, die zur Bestimmung der wasserdampfflüchtigen aromatischen Nitroverbindungen aus Harn, zur Bestimmung von Benzol in Benzin geeignet sind. Tri-o-cresylphosphat kann nach Nitrierung durch ein Gemisch von Eisessig- und rauchender Salpetersäure (1 : 1) polarographisch bestimmt werden.

LITERATUR

1. J. TEISINGER: Mikrochemie **25**, 328 (1938).
2. M. BŘEZINA und P. ZUMAN: Polarographie v lékařstvi, biochemii a farmacii (Zdravotnické nakladetelstvi, Praha) 1952, S. 183.
3. H. H. WEBER: Chemiker Ztg. **55**, 261 (1931).
4. L. HOLLECK und H. J. EXNER: Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. **56**, 677 (1952).

DISKUSSION

M. TEISINGER: Die Bestimmungsmethoden des Vortrages von Frau AJTAI bedeuten wertvolle Fortschritte in der Methodik der Arbeitshygiene. Eine ganz ähnliche Methode für die Bestimmung des Benzols in Benzin wurde zufälligerweise auch von tschechoslowakischen Autoren entwickelt. Ich möchte bemerken, dass sowohl meiner, wie auch anderer Autoren Meinung nach zur Nitrierung des Benzols nur eine rauchende, 100%ige Salpetersäure geeignet ist. Die 65%igeSäure ist zur volkommenen Nitrierung ungenügend.

Frau AJTAI: Ich betonte in meinem Vortrag, dass die Methode für praktische Zwecke, für Bestimmung des Benzols in Benzin entwickelt wurde. Im Falle von Gemischen, z.B. in Anwesenheit von Benzol und Toluol ist sie nur halbquantitativ und muss noch mit viel Mühe vervollkommnet werden. Ich fand die 65%ige Salpetersäure zur Untersuchung der Benzine (in einem wasserfreien Medium) als genügend. Es ist sehr verständlich, dass sich auch die tschechoslowakischen Kollegen mit dieser Methode beschäftigen.

METHODS OF THE POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF CERTAIN AROMATIC NITROCOMPOUNDS IN THE SERVICE OF INVESTIGATIONS OF INDUSTRIAL HYGIENICS

I. Ajtai and *Gy. Csányi*

(Institute of Industrial Hygienics and Industrial Medicine, Budapest)

Summary

Polarographic methods suited for the determination of volatile aromatic nitrocompounds in urine and of benzene in gasolene are described. Tri-o-cresyl phosphate may be analysed by polarography, subsequent to nitration by a mixture of glacial acetic acid : nitric acid *fumans* (1 : 1).

Frau Dr. Ilona RADICS-AJTAI
György CSÁNYI
Budapest, IX., Nagyvárad tér 2.

ÜBER DIE POLAROGRAPHIE DES CHLORAMPHENICOLS UND DER ZWISCHENPRODUKTE DER VITAMIN A-SYNTHESE AUS CITRAL

E. KNOBLOCH

(Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Prag)

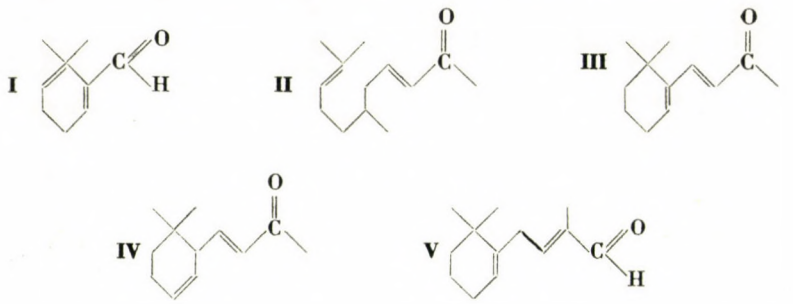
Im nachfolgenden Referat werden zwei Beispiele für die Anwendung der polarographischen Methode in der pharmazeutischen Industrie :

A) die polarographische Bestimmung der Zwischenprodukte der Vitamin A-Synthese aus Citral, und

B) die Polarographie des synthetischen Antibioticums Chloramphenicol besprochen.

A)

Das Ausgangsprodukt der Vitamin A-Synthese nach ISLER [1, 2] ist Citral **(I)** und die wichtigsten Zwischenprodukte sind Pseudojonon **(II)**, β-Jonon **(III)** und ein von β-Jonon abgeleiteter Aldehyd **(V)** (Aldehyd C_{14}).



Zur Wahl der polarographischen Methode veranlasste uns die Erkenntnis, dass sie spezifischer und für Reihenbestimmungen geeigneter als alle früher angewandten Methoden ist. Mit der Polarographie von Terpenaldehyden und -ketonen befassten sich systematisch SCHWABE [3, 4, 5] sowie FIELD und Mitarbeiter [6]. Ungesättigte Terpenketone werden bei einem Gesamtverbrauch von 2 Elektronen in zwei Stufen reduziert, wobei die zweite Stufe nur in Tetraäthylammoniumbromid-Medium sichtbar ist. Die Reduktion von Terpenaldehyden erfolgt ebenfalls in zwei Stufen. Der Reaktionsmechanismus der Reduk-

tion an der Quecksilbertropfelektrode ist noch nicht völlig geklärt. Mit der analytischen Anwendung der polarographischen Methode befassten sich die sowjetischen Autoren KUSNETZOWA, NEIMAN [7], OGRIN und BRAUN [8] und die tschechischen Autoren BITTER [9] und ŠANTAVY. Orientierungsweise beschäftigten sich ČERNOCH und Mitarbeiter [10] mit der Polarographie der Zwischenprodukte der Vitamin A-Synthese aus Citral.

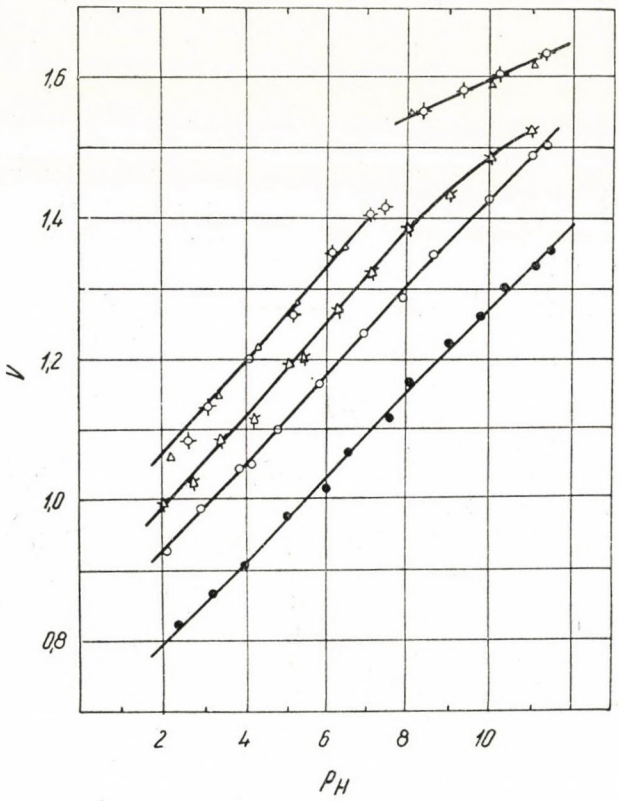


Abb. 1. pH-Abhängigkeit der Reduktionspotentiale des Citrals (△), β-Jonon (○), α-Jonon (◇), Aldehyd C_{14}, (△) und Pseudojonon (☆). BRITTON-ROBINSONscher Universalpuffer mit 40% Äthanol (Potential gegen die SKE)

Zum Studium benützten wir in unserem Institute hergestellte und auf Reinheit mittels der UV- und UR-Spektren geprüfte Präparate. Das Ziel unserer Arbeit war die Entwicklung einer quantitativen Bestimmungsmethode, deshalb war unsere Aufmerksamkeit in erster Linie auf die Ablesbarkeit und Reproduzierbarkeit der polarographischen Kurven gerichtet. Wie aus eigener Erfahrung und aus der zitierten Literatur erkannt, wird der Verlauf der polarographischen Kurven der Terpenaldehyde und Ketone durch das Auftreten von Maxima gestört, die die Ablesbarkeit wesentlich verschlechtern. Dieser Nachteil wurde auf

einfache Weise durch Zusatz von Gelatine in geeigneter Konzentration beseitigt, wobei glatt verlaufende und gut reproduzierbare Kurven erhalten wurden. Es wurde im Medium gepufferter alkoholischer Lösungen, bzw. in einer 0,1n Ammoniumchloridlösung gearbeitet. Zur quantitativen Bestimmung wurde die positivere Stufe verwendet. Um die Optimalbedingungen für die Bestimmung feststellen zu können, wurde die Abhängigkeit des Charakters der Reduktion vom

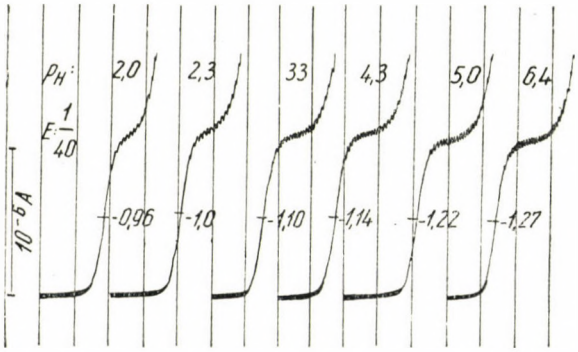


Abb. 2a. Die Abhängigkeit der polarographischen Reduktion des Citrals vom pH-Wert. BRITTON-ROBINSONscher Universalpuffer mit 40% Äthanol. Konzentration des Citrals 2 mg in 10 ml, Gelatine 0,01%; 200 mV/Absz., SKE

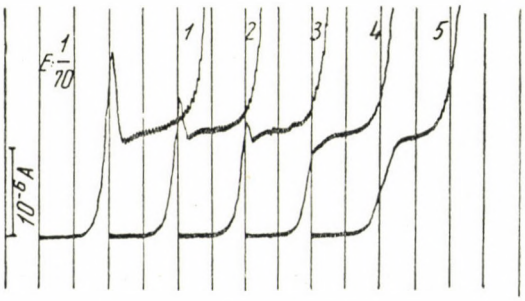


Abb. 2b. Der Einfluss der Gelatine auf den Charakter der polarographischen Reduktion des Citrals im BRITTON-ROBINSONschen Puffer pH 6,0 mit 40% Äthanol. Hinzugefügt 0, 1, 2, 4, 8 Tropfen 1% Gelatinelösung. Anfang der Kurven bei — 0,8 V gegen SKE, 200 mV/Absz.

pH-Wert der Grundlösung studiert (Abb. 1). Aus der Abhängigkeit der Reduktionspotentiale des Citrals, β-Jonons, α-Jonons, des Aldehyds C_{14} und des Pseudojonons vom pH-Wert ist es ersichtlich, dass Pseudojonon am positivsten reduziert wird, dann folgen β-Jonon, Citral, α-Jonon (IV) und bei fast demselben Potentiale Aldehyd C_{14}. Diese pH-Abhängigkeit der Reduktionspotentiale ermöglicht die verschiedenen Zwischenprodukte auch nebeneinander zu bestimmen (Abb. 2, 3, 4). Zur Bestimmung des Citrals allein im Lemongrasöl wird ein Medium

von Zitronensäure oder 0,1n Salzsäure empfohlen, da es die Bestimmung des Citrals neben dem eventuell anwesenden Citronellal ermöglicht. Pseudojonon verhält sich ähnlich wie β-Jonon (Abb. 5) an der Quecksilbertropfelektrode, nur sind die Kurven in den positiveren Bereich verschoben. Diese Verschiebung kann durch den stabilisierenden Einfluss des Jononringes erklärt werden. Das Reduktionsbild des α-Jonons, eines einfach konjugierten Ketons (Abb. 6) unterscheidet sich beträchtlich von demjenigen des β-Jonons. Ein sehr ähnliches

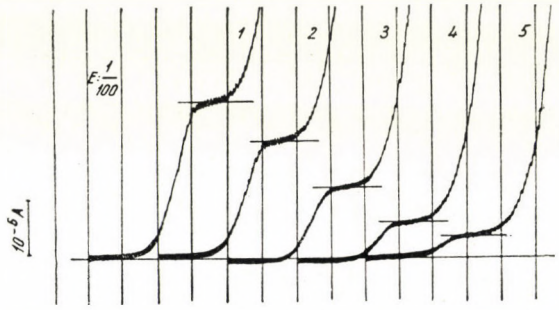


Abb. 3. Das Eichpolarogramm von Citral im Medium von 0,1n NH_4Cl mit 50% Äthanol. Konzentration des Citrals in 10 ml Lösung : 4 mg, 3 mg, 2 mg, 1 mg, 0,5 mg (Kurven 1—5)

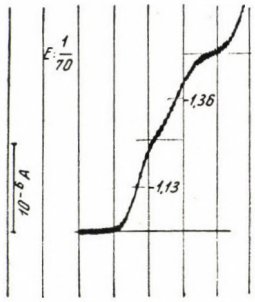


Abb. 4. Bestimmung des Citrals neben Pseudojonon in 0,1n NH_4Cl mit 40% Äthanol; 2 mg Pseudojonon und 2 mg Citral in 10 ml Grundlösung; 200 mV/Absz., SKE

Reduktionsbild weist der Aldehyd C_{14} auf, der ebenfalls eine einfach konjugierte Aldehydgruppe besitzt (Abb. 7). Das Bild der polarographischen Reduktion des Aldehyds C_{14} stimmt gut mit der Struktur eines α—β-ungesättigten Aldehyds überein, die Cheesman und Mitarbeiter [11] dieser Verbindung zuschreiben. Zur quantitativen Bestimmung wurde ein 40% Äthanol enthaltender schwach saurer Acetatpuffer als Medium gewählt (Abb. 8).

Die Genauigkeit der polarographischen Bestimmung der Zwischenprodukte ist durch die Ablesbarkeit der Wellenhöhe der polarographischen Kurve begrenzt, genügt aber den praktischen Anforderungen der Synthese.

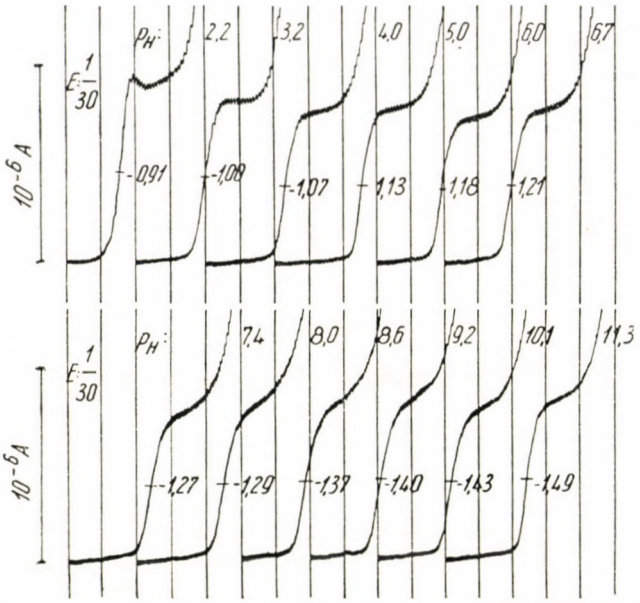


Abb. 5. Das Polarogramm des β-Jonons in Abhängigkeit vom pH-Wert. BRITTON-ROBINSONscher Puffer mit 40% Äthanol. Konzentration des β-Jonons 2 mg/10 ml; 200 mV/Absz., SKE

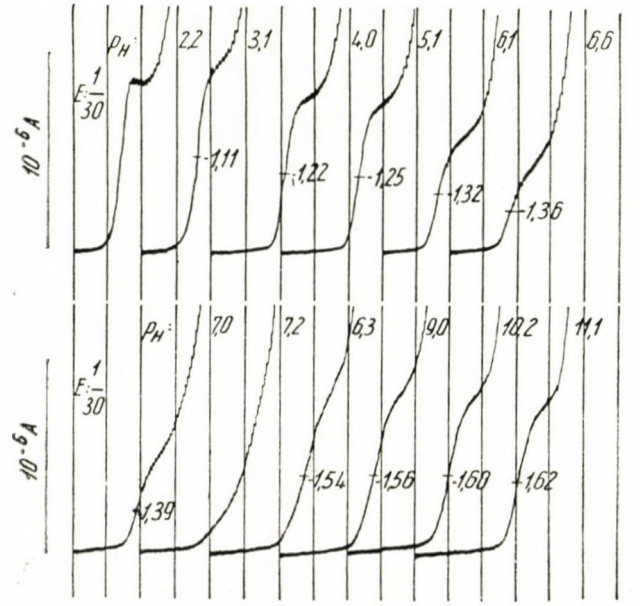


Abb. 6. Abhängigkeit der polarographischen Reduktion des α-Jonons vom pH-Wert. Im BRITTON-ROBINSONschen Puffer mit 40% Äthanol. Konzentration 2 mg/10 ml; 200 mV/Absz., SKE.

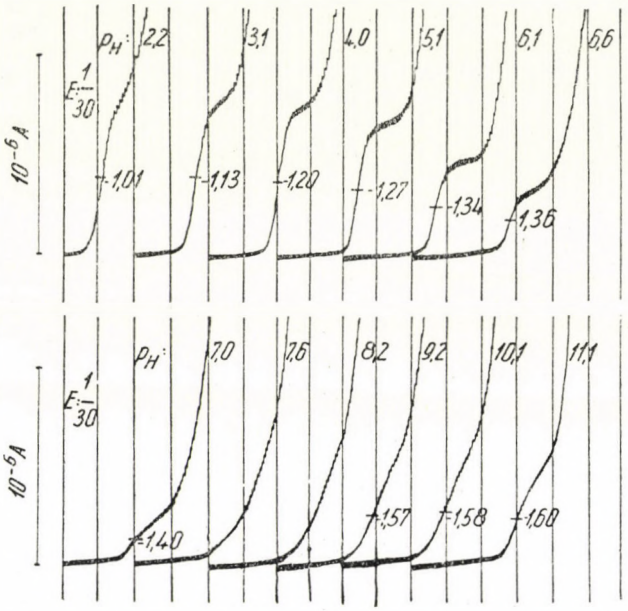


Abb. 7. Die Abhängigkeit der polarographischen Reduktion des Aldehyd C_{14} vom pH-Wert. Im BRITTON-ROBINSONschen Universalpuffer mit 40% Äthanol. Konzentration 2 mg/10 ml; 200 mV/Absz., SKE

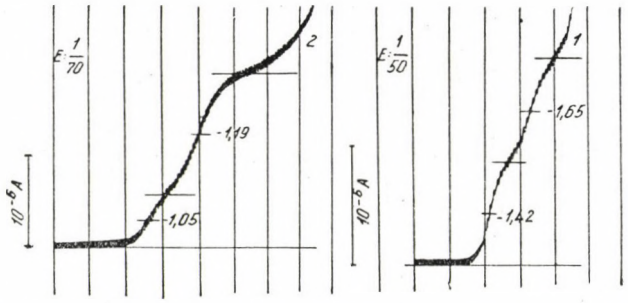
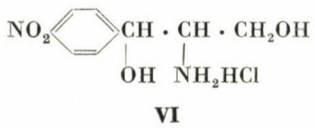


Abb. 8. Polarographische Bestimmung von α-Jonon neben β-Jonon (1) im Medium vom BRITTON-ROBINSONschen Universalpuffer pH 9,5 und der Bestimmung des Aldehydes C_{14} neben β-Jonon im Acetatpuffer vom pH 5,3 [2]. Beide Puffergemische mit 40% Äthanol; 200 mV/Absz., SKE

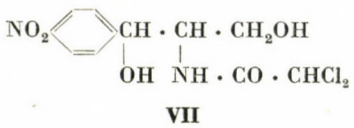
B)

Der zweite Teil des Referates berichtet über die Anwendung der polarographischen Methode zur Bestimmung des synthetischen Antibioticums Chloramphenicol. In Zusammenhang damit wurde das polarographische Verhalten einer ganzen Reihe substituierter Nitroverbindungen studiert und mit Hilfe dieser

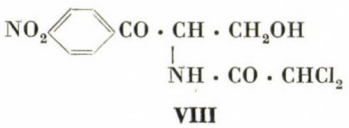
Ergebnisse die polarographische Kurve des Chloramphenicols erklärt. Die Aufmerksamkeit wurde hauptsächlich dem Einfluss der Substitution auf das Reduktionsbild der Nitrogruppe zugewandt. Es wurde das Verhalten von p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-propandiol (**VI**), Chloramphenicol (**VII**), α-Dichloracetamino-β-oxy-p-nitropropiophenon (**VIII**), p-Nitroacetophenon, p-Aminoacetophenon, verschiedener chlorierter Chloramphenicolderivate usw. untersucht.



VI



VII



VIII

Zur Unterdrückung der Maxima an den polarographischen Kurven von Nitroverbindungen wird gewöhnlich Gelatine oder Thymol verwendet. Da wir

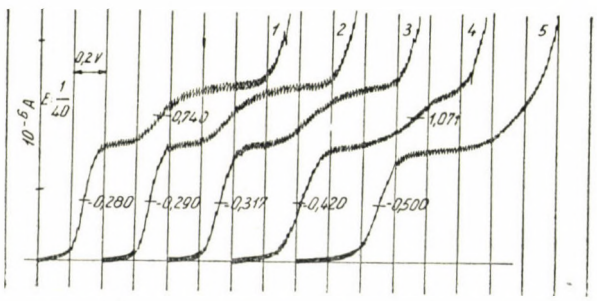


Abb. 9. Abhängigkeit der Reduktionsstufen des p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-propandiols (**V**) von der Gelatinekonzentration. 10 ml BRITTON-ROBINSON Pufferlösung pH 3,2 mit $5 \cdot 10^{-4}$ m Verbindung (**VI**). Kurve (1) 0,0 ; (2) 0,05 ml ; (3) 0,15 ml ; (4) 0,3 ml ; (5) 0,6 ml 0,5%iger Gelatinelösung; 200 mV/Absz., SKE

beobachteten, dass diese Stoffe einen beträchtlichen Einfluss auf den Reduktionsverlauf der studierten Nitroverbindungen haben und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beeinträchtigen können, widmeten wir unsere Aufmerksamkeit in erster Reihe diesem Einfluss.

Nach Durchführung unserer Versuche mit dem Einfluss der Gelatine auf die Stufen der Nitroverbindungen (Abb. 9) wurde für die weitere Arbeit eine Gelatinekonzentration von ungefähr 0,005% gewählt, durch die der Charakter der Reduktion von Nitroverbindungen nicht wahrnehmbar beeinflusst wird.

p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-propandiol (Abb. 10—1) weist eine einfache zweistufige Reduktion der Nitrogruppe auf, wobei in der ersten Stufe 4 Elektronen und in der zweiten, in der Hydroxylaminstufe, 2 Elektronen verbraucht werden. Die Kurve des Chloramphenicols (Abb. 10—2) weist im sauren Bereiche

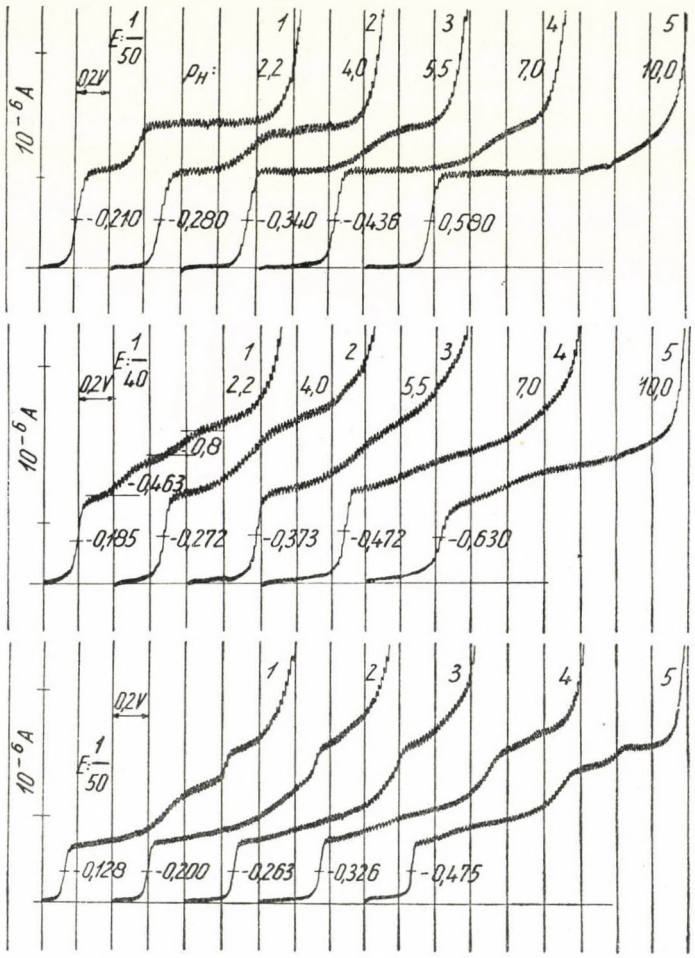


Abb. 10. Reduktionsverlauf der Verbindungen. p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-propandiol (1), Chloramphenicol (2) und α-Dichloracetamino-β-hydroxy-p-nitropropiophenon (3) an der Quecksilbertropfelektrode in einer Pufferlösung nach BRITTON-ROBINSON vom pH 2,2; 4,0; 5,5; 7,0 und 10,0. Gelatinekonzentration 0,001%. Konzentration des Depolarisators $2 \cdot 10^{-4}$m; 200 mV/Absz., SKE

drei Stufen auf, deren erste der 4-Elektronenreduktion der Hydroxylaminstufe der Nitrogruppe und die dritte, praktisch vom pH unabhängige Stufe wahrscheinlich der Reduktion des Chloracetylrestes entspricht, was durch Vergleich mit Mono-, Di- und Trichloroacetylreste enthaltenden Modellverbindungen

bestätigt wurde. Ein nicht komplizierteres Bild weist α-Dichloracetamino-β-hydroxy-p-nitropropiophenon **(VIII)** (Abb. 10—3) auf, das in p-Stellung zur Nitrogruppe eine Ketogruppe besitzt, die gleichfalls reduzierbar ist und deren Reduktion im alkalischen Bereiche besonders gut wahrnehmbar ist. Hierbei macht sich wahrscheinlich noch die undissoziierte Form der Hydroxylaminstufe geltend. Dieses Verhalten stellt eine Abweichung von demjenigen der einfachen Nitroverbindungen dar, die diese Stufe nicht aufweisen. Zur Lösung dieses Reduktionsbildes wurden p-Nitroacetophenon und p-Aminoacetophenon als Modellsubstanzen benützt. Der Vergleich ist aus Abb. 11 ersichtlich.

Vor uns beschäftige sich HESSE [12] orientierungsweise mit der Polarographie des Chloramphenicols. Seine gezeichneten Polarogramme unterschei-

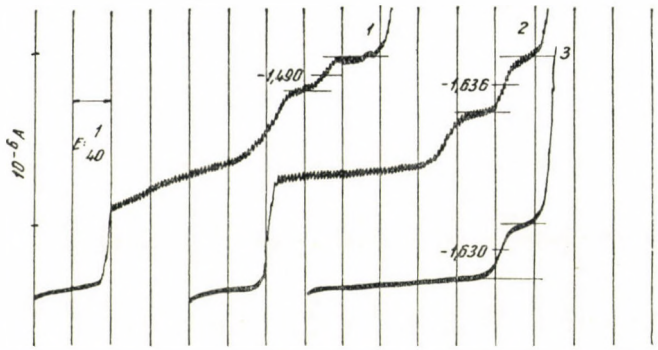


Abb. 11. Reduktionsverlauf der Verbindungen p-Aminoacetophenon (1), p-Nitroacetophenon (2) und Ketoderivat (3) **(VIII)** an der Quecksilbertropfelektrode in einer Pufferlösung nach BRITTON-ROBINSON vom pH 2,4 mit Gelatinekonzentration 0,005%; 200 mV/Absz.

den sich jedoch beträchtlich von unseren Ergebnissen. Diese Unterschiede führen wir auf die grössere Thymolmenge zurück, die er zur Unterdrückung der Maxima benützte (keine Konzentrationsangaben; er schüttete das Thymol direkt in die polarographierte Lösung). Davon zeugen auch die von HESSE angegebenen Potentialwerte, die viel negativer als die von uns gemessenen Werte sind.

Aus der Abhängigkeit der Reduktionspotentiale der von uns studierten Verbindungen vom pH-Wert (Abb. 12) geht hervor, dass Nitroverbindungen mit einer Carbonylgruppe in p-Stellung zur Nitrogruppe um 100 mV positiver als die entsprechenden Alkohole oder die unsubstituierten Nitroverbindungen reduziert werden. Auf Grund dieser Beobachtung wurde es möglich, die angeführten Verbindungen polarographisch zu trennen. Praktisch wurde davon bei der Bestimmung von Ketoderivaten als Verunreinigungen in racemischem Chloramphenicol Gebrauch gemacht, das nach dem von ŠORM [13] modifiziertem Verfahren nach TROUTMAN und LONG hergestellt wurde. Die polarographische Methode als einziges Verfahren ermöglichte die Durchführung der quantitativen Bestimmung dieser Ketoderivate bei Gehalten von nur einigen Bruchteilen von Prozen-

ten im Rohprodukt und wurde als Kontrollmethode auch in die neue Ausgabe des Tschechoslowakischen Arzneibuches aufgenommen. Die Polarographie des Chloramphenicols und seiner Derivate wurde von KNOBLOCH und Mitarbeiter [14, 15] ausführlich beschrieben.

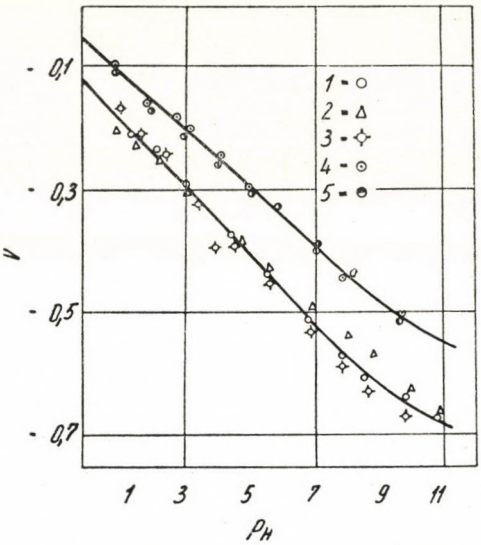


Abb. 12. Abhängigkeit der Reduktionshalbstufenpotentiale der Verbindungen Chloramphenicol (○), p-Nitrophenyl-2-amino-1, 3-propandiol (☆) und α-Dichloracetamino-β-hydroxy-p-nitropropiophenon (⊙) vom pH-Wert

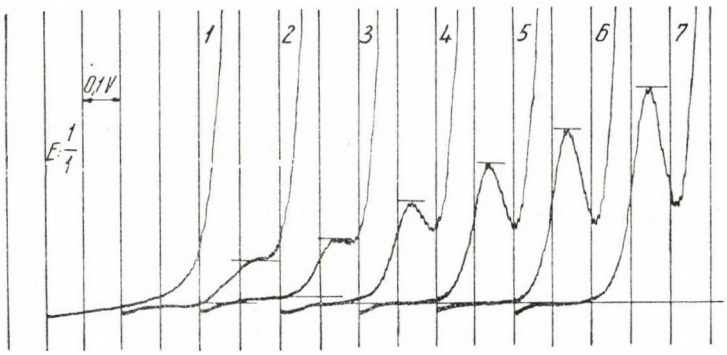


Abb. 13. Eichpolarogramm von Ketoderivaten in 100fachem Überschuss von Chloramphenicol in Pufferlösung vom pH 7,0 mit 10% Äthanol. Konzentration der Ketoderivate in mg in 10 ml Pufferlösung (1) 0,0; (2) 0,049; (3) 0,099; (4) 0,196; (5) 0,291; (6) 0,389; (7) 0,476. 100 mV/Absz. Ableitungsschaltung

Zur Bestimmung kleiner Mengen der Ketoderivate in einem Überschuss von Chloramphenicol wurde die Ableitungsschaltung benützt (Abb. 13, 14). α-Dichloracetamino-β-hydroxy-p-nitropropiophenon kann ebenso in hundertfachem Überschuss von Chloramphenicol bestimmt werden. Chloramphenicol kann auch

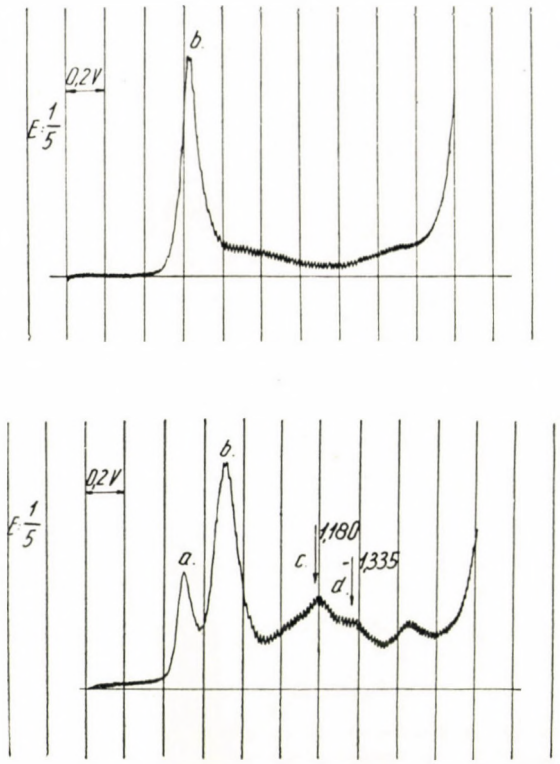


Abb. 14. Bestimmung der Ketoderivate neben Chloramphenicol mit der Methode der Ableitungspolarographie. Polarogramm (1) reines Chloramphenicol, Polarogramm (2) Chloramphenicol verunreinigt mit den Ketoderivaten. Im BRITTON-ROBINSON-Puffer vom pH 9,0

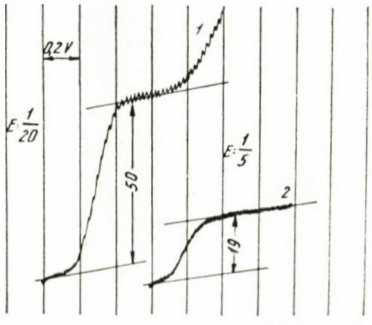


Abb. 15. Bestimmung von Chloramphenicol in menschlichem Blut und Harn bei 1 g Tagesdosis. (1) Bestimmung im Harn im Medium von 0,5 n NaOH. Im Blut gefunden 0,008 mg/ml, im Harn 0,740 mg/ml

im Blut und Harn von Personen, denen dieses Arzneimittel verabreicht wurde, polarographisch bestimmt werden (Abb. 15) und mittels dieser Methode kann die Ausscheidung und der Blutspiegel beobachtet werden. Im Harn erfolgt die Bestimmung nach blossem Verdünnen mit 0,5 n NH_4Cl und im Blut nach einer Mischung mit 0,5n NaOH im Verhältnis 1 : 1. Der normale Blutspiegel von Chloramphenicol beträgt ungefähr 0,01 mg pro ml Blut; im Harn ist eine bedeutend höhere Konzentration vorhanden.

ZUSAMMENFASSUNG

Als Beispiel der Anwendung der Polarographie zur Kontrolle der Zwischenprodukte bei Erzeugung der Arzneimittel wird die Synthese von Vitamin A aus Citral und von Chloramphenicol besprochen. Im ersten Falle sind die Zwischenprodukte Jononderivate, im zweiten ein toxisches Derivat des Nitropropionphenons. Das Chloramphenicolniveau im Harn und Blut ist polarographisch bestimmbar. Auch Tocopherolbestimmungen im Weizenkeimöl, Rimifon, Conteben und Pentothal werden besprochen.

LITERATUR

1. O. Isler, M. Kofler und W. Huber: Experientia **2**, 31 (1946).
2. O. Isler, W. Huber, A. Ronco und M. Kofler: Helv. Chim. Acta **30**, 1911 (1947).
3. K. Schwabe und H. Berg: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **56**, 952 (1952).
4. K. Schwabe, G. Ohloff und H. Berg: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **57**, 293 (1952).
5. K. Schwabe und H. Berg: Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. physik. Chem. **57**, 961 (1952).
6. M. Fields und E. R. Blout: J. Amer. Chem. Soc. **70**, 930 (1948).
7. M. I. Gerber, Z. Kusnetzowa und M. B. Neiman: Ж. анал. хим. (Z. anal. Chemie) **2**, 103 (1949).
8. B. Ogrin und A. A. Braun: Зав. лаб. (Fabrikslabor.) **10**, 467 (1941).
9. B. Bitter: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **15**, 677 (1950).
10. M. Černoch, J. Dokoupil und B. Chutný: Chem. Listy **47**, 269 (1953).
11. G. W. H. Cheesman und I. Heilbron: J. Chem. Soc. **1949**, 1516.
12. G. B. Hess: Anal. Chem. **22**, 649 (1950).
13. F. Šorm, J. Gut, M. Suchý et al.: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **16**, 501 (1951); J. Sicher, J. Farkaš und F. Šorm: Chem. Listy **46**, 483 (1952).
14. E. Knobloch und M. Svátek: Chem. Listy **49**, 37 (1955).
15. E. Knobloch und E. Svátek: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **20**, 1117 (1955).

DISKUSSION

B. Kelentey: Die polarographische Bestimmung des Chloramphenicols besitzt unserer Meinung nach auch unter unseren Verhältnissen eine grosse Bedeutung. In Debrecen werden Fermentierungsversuche mit Chloramphenicol durchgeführt. Die erwähnte Methode wäre für die augenblickliche Bestimmung des Chloramphenicols im Fermentsaft sehr geeignet. Die biologischen Titrationen erfordern ziemlich viel Zeit (18—24 Stunden), um die entsprechenden Mengen des Chloramphenicols nachzuweisen. Die besprochene Methode besitzt also eine grosse industrielle Bedeutung. Meine zweite Frage ist, ob die tschechoslowakischen Kollegen Chloramphenicol ausser im Blut und Harn auch in anderen Körperflüssigkeiten, wie z. B. in der Galle von typhusresistenten Personen bestimmt haben.

E. KNOBLOCH : Bei den biologischen Bestimmungen ist die kleinste nachweisbare Menge des Chloramphenicols 5 γ/ml. Die polarographischen Bestimmungen bieten die gleiche Genauigkeit, haben aber den Vorteil der schnelleren Durchführung, man muss nämlich die 18 Stunden-Periode nicht abwarten.

P. ZUMAN : Ich hätte eine theoretische Bemerkung zum Vortrag des Kollegen KNOBLOCH und diese bezieht sich auf das Verschwinden der Stufe der C_{14}-Aldehyde im Falle des β-Jonons. Diese Erscheinung war bei einer steigenden C-Zahl auch bei den α, β und γ ungesättigten Ketonen, bei den Steroid-Aldehyden und beim 3-Steroid-Keton zu beobachten. Hier ist vielleicht derselbe Fall. Es handelt sich hier um eine Dissoziation einer Säure. Bei der polarographischen Bestimmung der ungesättigten Carbonylverbindungen bilden sich starke Säuren, die nur in ultraviolettem Licht und in konzentrierter Schwefelsäure zu studieren sind. Bei polarographischen Messungen kommt es vor, dass irgendeine Dissoziation, die bei pH 1 oder pH 0 oder bei noch kleineren pH-Werten liegt, hier bei einem viel höherem pH abläuft, da an der Oberfläche der Elektrode eine Rekombination der basischen Form mit den Protonen auftritt. Im Falle des β-Jonons ist bei pH 7 oder pH 8 eine Dissoziationskurve zu beobachten, die als Folge der Rekombination in vielen Säurelösungen nach den höheren pH-Werten verschoben wird.

Ich möchte hier die Aufmerksamkeit auf die polarographische Methode lenken, mit der die basische und Aci-Form einer Verbindung nachzuweisen sind, die unter normalen Verhältnissen nicht zu den sauren Verbindungen gerechnet werden. Als Beispiel seien α- und β-ungestättigte Aldehyde erwähnt.

E. KNOBLOCH : Ich halte die Bemerkung ZUMANS von theoretischer Hinsicht als sehr treffend.

G. BARTA : Nachdem mit dem interessanten Vortrag von Herrn Kollegen KNOBLOCH die Serie der Vorträge über polarographische Bestimmung pharmazeutischer Produkte seinen Abschluss fand, möchte ich die Aufmerksamkeit auf ein biochemisches Produkt lenken : es handelt sich nämlich um das Coenzym-A. Das Produkt ist ein wichtiger Katalysator im aeroben Respirationssystem und Phosphorstoffwechsel der tierischen Zelle, es kommt aber auch in Mikroorganismen vor. Es scheint, dass dieses Produkt polarographisch gut fassbar sein könnte ; es enthält Adenosyl, an das sich ein Molekül Pantothensäure bindet. Und jetzt kommt das polarographisch Interessante : an die Säureamidgruppe bindet sich ein Thiacetanolaminrest mit einer freien SH-Gruppe- Auf Grund dessen müsste das Produkt eine Oxydationsstufe bei ungefähr 0,5 Volt haben, was bezüglich der Polarographie ein günstiges Spannungsgebiet wäre.

Das Produkt kann vorderhand aus Hefe und aus einer Art Streptomyces rein hergestellt werden. Es scheint nicht ausgeschlossen, dass das Produkt demnächst auch klinische Bedeutung erlangen wird und die pharmazeutischen Fabriken sich dafür interessieren werden. ATP hat man auch jahrzehntelang gekannt, bevor es ein industriell hergestelltes pharmazeutisches Produkt wurde. Ich glaube, es würde sich lohnen, eine polarographische Methode zur Bestimmung des Coenzyms-A auszuarbeiten.

ON THE POLAROGRAPHY OF CHLORAMPHENICOL AND OF THE INTERMEDIATES OF THE SYNTHESIS OF VITAMIN A FROM CITRAL

E. Knobloch

(Research Institute of Pharmacology and Biochemistry, Prague)

Summary

As a characteristic example of the application of polarography in the control of intermediates in the production of therapeutics, the synthesis of vitamin A from citral and of chloramphenicol are described. The intermediates are in the first case ionone derivatives, in the latter, in turn, toxic derivatives of nitropropiophenone. The chloramphenicol level in urine and blood may be readily determined by polarography. The possibilities of determining tocopherol in wheat germ oil, Rimifon, Conteben and Pentothal are discussed.

Dr. Eduard KNOBLOCH Praha.

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG DES GLUCOSAZONS

B. JÁMBOR und L. MESTER

(Institut für Pflanzenphysiologie der L. Eötvös Universität, Budapest, und Institut für Organische Chemie der Technischen Universität, Budapest)

Von den im Laufe der Zeit für die Struktur des D-Glucosazons beantragten zahlreichen Formeln fand MESTER [1] auf Grund der Reaktion der Formazanbildung die FISCHERsche offenkettige Struktur für richtig mit der Ergänzung, dass in derselben der durch FIESER und FIESER [2] vorausgesetzte Chelatring anwesend ist. Im Verlaufe weiterer Untersuchungen fanden MESTER und MAJOR [3] Beweise dafür, dass von den Strukturen mit Chelatringen die A-Formeln dem tatsächlichen Zustand am besten nahekommen, weswegen die Genannten für die Bezeichnung der Struktur des D-Glucosazon die A-Formeln beantragen.

Im Laufe der Untersuchung des sogenannten gemischten A-Osazons (D-Glucose-1-methylphenylosazon) fanden MESTER [1] bzw. MESTER und MAJOR [4], dass diese Verbindung eine von der obigen Chelatring-Formel ableitbare 1-Methylphenyl-2-Phenylosazon-Struktur hat.

Die Verfasser dieser Mitteilung haben die polarographische Untersuchung der behandelten Osazone zur Unterstützung der auf chemischen Wegen erhaltenen Ergebnisse wie auch zur Feststellung dessen, in welchem Masse die Klärung der feineren Struktur solcher organischen Verbindungen komplizierten Aufbaues auf polarographischem Wege möglich ist, durchgeführt.

Beschreibung der Versuche

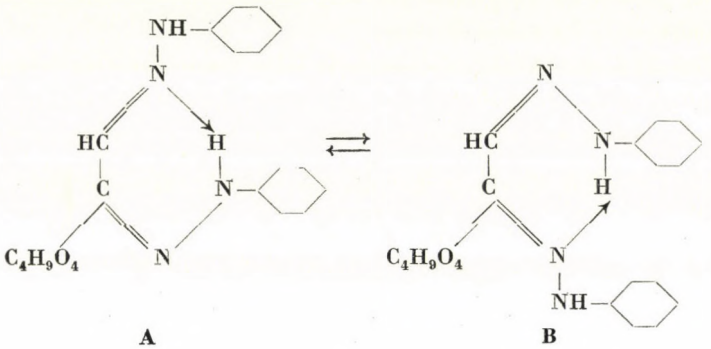
Die Polarogramme wurden im allgemeinen in 30%igem Alkohol aufgenommen; der pH-Wert der Lösungen wurde mit einem acetat- und phosphathältigen Puffer eingestellt.

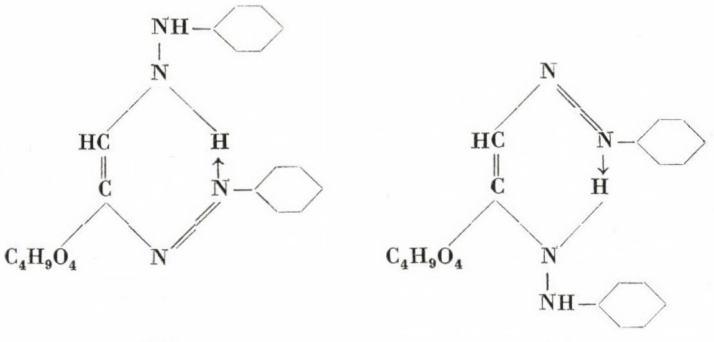
Dieser Puffer ist eine Modifikation des BRITTON—ROBINSON-Puffers, aus dem die Borsäure weggelassen wurde um die mit dem Zuckerteil eintretende Komplexbildung zu vermeiden.

Die Endkonzentration des Puffers in den Lösungen war 0,025 M. Die Anwendung einer grösseren Pufferkonzentration war aus Gründen der Löslichkeit nicht möglich, wogegen infolge der geringen Konzentration der polarographierten Osazone (10^{-4} M) die Pufferkapazität sich als genügend erwies. Die angegebenen pH Werte der polarographierten Lösungen wurden durch Messung mit einer Glas-Elektrode, die der alkalischen Lösungen mit einer n-Wasserstoff-Elektrode bestimmt. Die Aufnahme der Polarogramme geschah mit einem Polarograph System-HEYROVSKÝ, Fabrikat Zbrojovka Brno in KALOUSEKschem Gefäss; als Gegenelektrode diente eine n-Kalomel-Elektrode.

Es wurde das D-Glucosazon, das sogenannte gemischte A-Osazon und das D-Glucose-bis-Methylphenyl-Osazon untersucht. Die bei verschiedenen pH-

Werten erhaltenen Polarogramme sind auf Abb. 1—3 ersichtlich. Das Glucosazon und das gemischte A-Osazon zeigen um 0 Volt eine anodische Stufe an. Die anodische Stufe des bis-Methylphenyl-Osazons ist in Abb. 3 nicht wahrnehmbar,





Struktur der Osazone nach FIESER und FIESER [2].

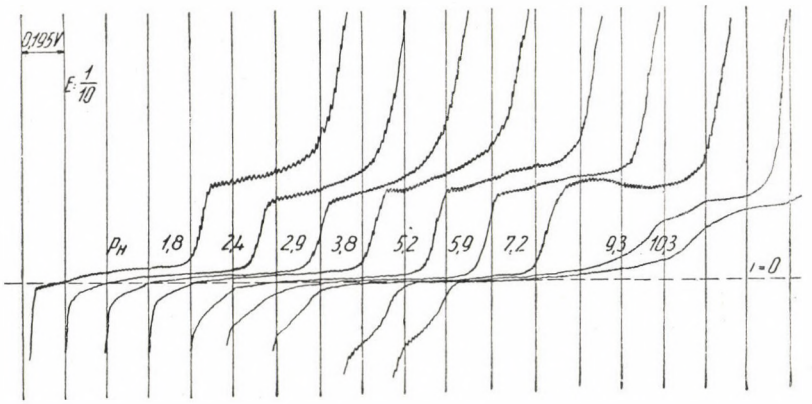


Abb. 1. Polarogramme von 10^{-4}M Glucosazon, aufgenommen in einem Acetat-Phosphat-Puffer enthaltenden 30%igen Alkohol

weil sie mit dem die anodische Lösung des Quecksilbers zeigenden Teil des Polarogramms verschmolzen ist. An einigen hier nicht dargestellten Polarogrammen war dennoch entschieden erkennbar, dass auch diese Verbindung über eine Oxidationsstufe, jedoch im Vergleich mit den Vorangehenden bei einem mit etwa 200 mV positiveren Potential verfüge.

Bei den drei untersuchten Osazonen folgt nach der Oxydationsstufe um 1 V eine hohe Reduktionsstufe, die bei den ersten zwei Osazonen in alkalischem

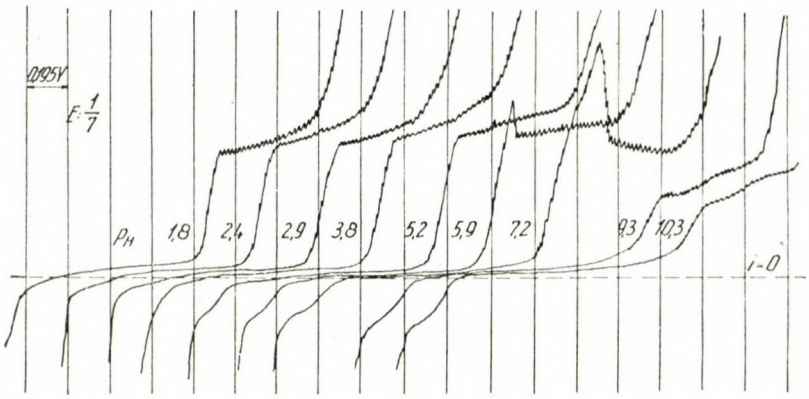


Abb. 2. Polarogramme »gemischten A-Osazons«, wie Abb. 1

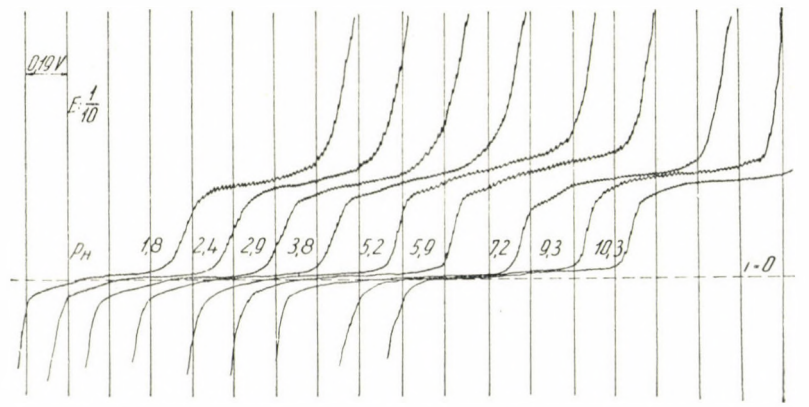


Abb. 3. Polarogramme von Bis-Methylphenyl-Glucosazon, wie Abb. 1

Medium allmählich kleiner wird. Diese Änderung ist reversibel: wird die Lösung wieder angesäuert, bekommt man das ursprüngliche Polarogramm.

Im sauren Medium ist am Scheitelpunkt der Reduktionsstufe bei Bis-Methylphenyl-Osazon eine gut ausgeprägte, bei den beiden anderen eine kaum wahrnehmbare kleine Stufe vorhanden. Ihre relative Höhe nimmt unter Einwirkung von Wärme zu (Abb. 4).

Die Höhe der grossen Reduktionsstufe zusammen mit der erwähnten kleinen Stufe entspricht bei allen 3 Osazonen der Aufnahme von 4 Elektronen, was auf Grund der ILKOVIČ-Gleichung, durch Vergleich mit Stoffen bekannter Diffusität festgestellt wurde.

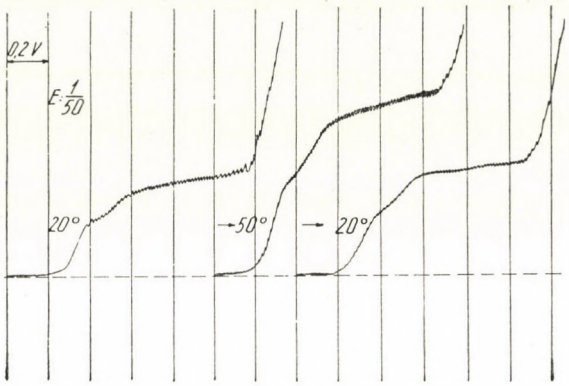


Abb. 4. Polarogramm von $4 \cdot 10^{-4}$m Bis-Methylphenyl-Glucosazon, pH 6,5, zuerst bei 20°, dann bei 50°, schliesslich wieder auf 20° abgekühlt aufgenommen

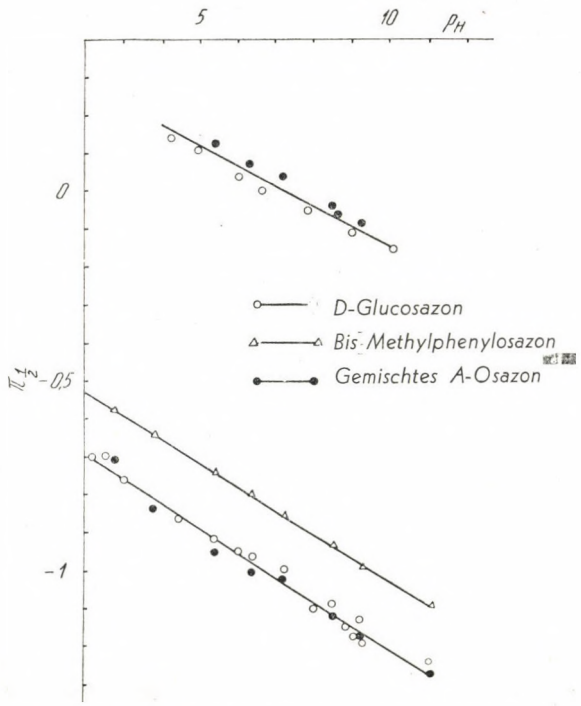


Abb. 5. $\pi_{1/2}$-pH Kurven der untersuchten Osazone

Aus Abb. 5, die die $\pi_{1/2}$ Werte der anodischen und der grossen Reduktionsstufe als eine Funktion der pH-Werte angibt, ist es ersichtlich, dass die Oxydations- und Reduktionsstufe des Glucosazons und des A-Osazons innerhalb der Versuchsfehler gleiche Potentiale aufweisen und dass ihr Neigungswinkel bei 60 mV ist. Denselben Neigungswinkel zeigte auch die entsprechende Kurve des Bis-Methylphenyl-Osazons, doch ist dieser bei einem um 200 mV positiveren Potential feststellbar.

Die anodische Stufe des Glucosazons entspricht in alkalischem Medium der Abgabe von 2 Elektronen. In saurem oder neutralem Medium nimmt die Höhe der anodischen Stufe ab. Ebenso ist die Höhe der Stufe im Falle von gemischtem A-Osazon und von Bis-Methylphenyl-Osazon kleiner.

Besprechung

Der Umstand, dass die Reduktion der drei untersuchten Osazone am Polarogramm an einer einzigen Stufe mit 4 Elektronen erscheint, zeigt an, dass zwei gleichwertige, somit annehmbar gleiche Bindungen gleichzeitig reduziert werden, d. h. die Annahme ist begründet, dass im Glucosazon zwei C-N Bindungen vorhanden sind. Dies gilt für die drei untersuchten Osazone.

Das Bis-Methylphenyl-Osazon ist für Chelatbildung ungeeignet und ist wahrscheinlich in Form eines offenkettigen Bis-Hydrazons anwesend. Hieraus kann erklärt werden, dass einerseits das Polarogramm des Glucosazons von Chelatstruktur sowie des gemischten A-Osazons in alkalischem Medium eine Änderung aufweist, anderseits die Reduktion des Bis-Methyl-Phenyl-Osazons in saurem und alkalischem Medium gleich vor sich geht.

Die Beobachtung, dass die Reduktion des chelatfreien Bis-Methylphenyl-Osazons in saurem Medium — von der Potentialverschiebung abgesehen — der Reduktion der zwei Chelat-Osazone ähnlich ist, deutet darauf hin, dass die Struktur der beiden letzteren der Struktur des A-Chelat-Bis-Phenylhydrazons nahe steht.

Der Auftritt der anodischen Stufe steht im Zusammenhange mit der im Zuckerteil eintretenden Änderung. Auf die chemische Erörterung dieser Vorgänge kommen wir in einer späteren Mitteilung zurück.

Der Umstand, dass einerseits das Potential der Reduktionsstufe des Glucosazons und des gemischten A-Osazons gleich, andererseits, dass jenes des Bis-Methylphenyl-Osazons um etwas 200 mV positiver ist, bestätigt die Chelat-Struktur der erstgenannten beiden Osazone (grössere Stabilität), wie auch deren Mangel im letzteren (leichtere Reduzierbarkeit). Im ersten Falle ist die Chelat-Ringschliessung für die Stabilität verantwortlich, während bei dem letzteren die Chelat-Struktur sich deshalb nicht ausbilden kann, weil beide für die

Chelatbildung in Betracht kommenden Wasserstoffatome durch Methylgruppen ersetzt sind. Den Mangel an Chelatstruktur zeigt übrigens auch die tiefere Farbe des MethylphenylOsazons.

Die in negativerem Potential befindliche (auf Erwärmung zunehmende) kleine Reduktionsstufe deutet darauf hin, dass alle drei Osazone in der Lösung in zweierlei Modifikationen anwesend sind. Ob die Abweichung von der Hauptmasse der Materie im Zuckerteil zu suchen ist oder aber ob von einer Mischung der A- und B-Form der Chelat-Struktur die Rede sein kann, in dieser Frage können wir beinahe sicher behaupten, dass der Unterschied in der Lage des Chelatwasserstoffes der zweierlei Form der Materie nicht zugeschrieben werden kann, ist doch die erwähnte kleine Reduktionsstufe auch beim Bis-Methylphenyl-Osazon vorhanden (diese ist eben beim letzteren am grössten) ; und hier ist die Chelat-Struktur ausgeschlossen. Somit erübrigt sich anzunehmen, dass der Zuckerteil für die kleine Stufe verantwortlich ist.

Der Umstand wieder, dass die Reduktionsstufe des gemischten A-Osazons auf gleichem Reduktionspotential mit dem Glucosazon ist, macht es wahrscheinlich, dass die Chelat-Ringschliessung im Sinne der A-Struktur besteht ; denn es kann nur so erklärt werden, dass wenn man am NH des ersten Kohlenstoffatoms das H durch CH_3 ersetzt, die Reduzierbarkeit sich nicht ändert. In diesem Fall kommt die B-Struktur gar nicht in Frage, worauf wir auf Grund chemischer Untersuchungen an anderer Stelle hingewiesen haben [1, 3].

ZUSAMMENFASSUNG

Die polarographische Untersuchung von D-Glucosazon (I), D-Glucos-1-Methylphenyl-2-Phenyl-Osazon (II) und D-Glucos-Bis-Methyl-phenyl-Osazon (III) hat zu nachstehenden Feststellungen geführt.

1. Alle drei Osazone ergeben zwei elektronige Oxydations- und vier elektronige Reduktionsstufen. Erstere ist in alkalischem Medium am grössten. Die Reduktionsstufe bei I und II nimmt in alkalischem Medium ab.

2. I und II haben die gleiche Chelat-Struktur. Bei III fehlt diese. Die gleichen Reduktionspotentiale bei I und II deuten auf die Anwesenheit von A-Chelat hin.

3. Das Reduktionspotential von III ist um etwa 200 mV positiver als bei I und II. Dies ist der Abwesenheit einer Chelat-Struktur, somit der Abnahme der Stabilität zuzuschreiben.

4. Alle drei Osazone sind in zweierlei Modifikationen in der Lösung vorhanden. Das Verhältnis der in kleinerer Menge anwesenden Modifikation steigt durch Erwärmung in einer reversiblen Weise. Für beide Modifikationen scheint der Zuckerteil verantwortlich zu sein.

LITERATUR

1. L. Mester : J. Am. Chem. Soc. **77**, 4301 (1955).
2. L. F. Fieser und M. Fieser : Organic Chemistry. (D. C. Health and Co.) Boston, 1944.
3. L. Mester und Á. Major : A Magyar Tud. Akad. Kémiai Tud. Oszt. Közl. im Druck.
4. L. Mester und Á. Major : A Magyar Tud. Akad. Kémiai Tud. Oszt. Közl. **6**, 213 (1955).

DISKUSSION

P. ZUMAN: Ein sehr interessantes Gebiet der organischen Polarographie ist jenes, auf dem die Struktur der organischen Verbindungen auf polarographischem Wege erforscht wird. Die polarographischen Ergebnisse müssen jedoch sehr sorgfältig diskutiert werden. Ich habe einige Bemerkungen, die beweisen, dass auch im Falle solcher interessanter Verbindungen oder der Komplexe, die hier gezeigt wurden, verschiedene Meinungen bestehen können.

1. Über die Frage des Einflusses des pH-Wertes der Lösung, folglich über die Frage der Chelatbildung und des Einflusses der Chelatbildung auf das polarographische Verhalten. Die an den Polarogrammen beobachtete Erscheinung, also die Abnahme der Stufenhöhen im alkalischen Medium wird durch zahlreiche organische Verbindungen gezeigt. Sie wird bei organischen Verbindungen beobachtet, bei denen die Möglichkeit einer Dissoziation besteht. Wenn eines der Wasserstoffatome dissoziiert wird, so tritt bei einem alkalischen pH eine Dissoziationskurve auf, die Stufenhöhen nehmen ab. Sind beide Atome mit Methylgruppen substituiert, so bleibt die Stufe im ganzen pH-Bereich konstant.

Die Abnahme der Stufenhöhe bei alkalischen pH-Werten zeigt also nicht notwendigerweise eine Chelatbildung an, vielmehr kann sie einer Dissoziation zugeschrieben werden.

Die Rolle des Wasserstoffes in dem polarographischen Vorgang wurde oft diskutiert. Die Wasserstoffbrücke ist weit nicht so aktiv, wie es bisher angenommen wurde. Ihre Energie ist ja gering, es handelt sich um einige Zehntel Kg-Calorien, die keine Änderungen an den polarographischen Kurven hervorrufen können. Sie verursachen eine Verschiebung des Halbstufenpotentials mit höchstens 10—15 mV.

Viele Fälle sind bekannt, in denen eine der Stufen infolge der Dissoziation abnimmt, während der Reduktion der Oxime vermindert sich zum Beispiel die erste Stufe. In solchen Fällen kann der kinetische Charakter nur bei Stufen bewiesen werden, die niedrig, also etwa 10% der gesamten Stufenhöhe sind. Nur solche Stufen sind von der Behälterhöhe unabhängig. Was die Ursache dieser Stromverminderung sei, ist zur Zeit unbekannt, man meint, dass sie einer Änderung der Rekombinationsgeschwindigkeit auf Einwirkung des elektrischen Feldes zugeschrieben werden kann. Übrigens ist das ein neuer Beweis für die Möglichkeit der Dissoziation bei höheren pH-Werten.

Hier wurde behauptet, dass die Reduktion über vier Elektrone verläuft. Das ist leicht möglich. In jedem Oxim verläuft die Reduktion z. B. auch unter der Annahme von 4 Elektronen, in einem Schritt mit der Aminogruppe. Damit befasst sich die Arbeit von PŘIBIL aus dem Jahre 1953. Das Verhalten der Osazone ist sehr ähnlich, zwar spielt sich die Dissoziation hier nur oberhalb des pH-Wertes 3—4 ab, was leicht verständlich ist, da die kathionide Form der Osazone viel saurer ist, als die der Oxime.

Das war meine Bemerkung zur Frage des Elektrodenvorganges. Ich glaube, die Frage wird am besten gelöst, wenn die Osazone und Hydrazone verglichen werden. Man kann dann leicht beurteilen, ob es sich hier um eine Dissoziation handelt, da die Möglichkeit einer Chelatbildung bei letzterer Gruppe wegfällt.

2. Über die Frage der zwei Stufen, die hier gezeigt wurden. Wenn man annimmt, dass es sich hier um eine Tautomerie handelt, so muss entschieden werden, ob die zwei Stufen diffusionsbedingt sind oder nicht. Das erfolgt am

leichtesten, indem man die Abhängigkeit der Stufenhöhe von der Konzentration bzw. der Behälterhöhe untersucht.

Was die anodische Stufe betrifft, entspricht meiner Meinung nach die hier vorgetragene Behauptung, die Stufe entspreche dem Glucosereste, am ehesten der Wahrheit. Im alkalischen Bereich wurden solche Stufen der Glucose beobachtet, und der Bildung von Endiolen zugeschrieben.

3. Die Frage der Borsäurederivate. Die Borsäure hat hier zweierlei Rollen. Einerseits wirkt sie auf das Halbstufenpotential, anderseits auf die Höhe der Stufe. Auch die letztere Wirkung kann zweierlei sein. Es kann eine neue Reduktionsstufe gebildet werden, wie im Falle des Juglons, oder verschwindet die Stufe allmählich in Anwesenheit von Borsäure. Das ist der Fall z. B. beim Ninhydrin.

Ich möchte noch behaupten, dass die Oxydation der Endiole bei den anodischen Stufen des Zuckers, z. B. der Glukose in der Zeit beobachtet werden kann. Die Verfolgung der anodischen Stufe der alkalischen Lösungen von Osazonen in der Zeit wäre sehr vorteilhaft.

B. JÁMBOR: Ich danke für die Bemerkung über die Dissoziation. Diese Frage wurde von uns bisher nicht untersucht, wir befassten uns hauptsächlich mit dem Verhalten in saurem Gebiet. In der Frage der Chelatbildung bin ich anderer Meinung als ZUMAN, da es sich hier um eine Chelatbildung durch Ringschliessung handelt, deren Energie auf etwa 10 Kilocalorien geschätzt werden kann, der einer Verschiebung des Potentials einer 4 Elektronen-Stufe von mehr als 100 mV entspricht.

Selbstverständlich haben Potentialverschiebungen — besonders bei irreversiblen Stufen — auch zahlreiche andere Ursachen.

POLAROGRAPHIC INVESTIGATION OF GLUCOSAZONES

B. Jámbor and *L. Mester*

(Institute of Plant Physiology, L. Eötvös University, Budapest, and Institute of Organic Chemistry, Technical University, Budapest)

Summary

The polarographic investigation of D-glucosazone (I), D-glucose-1-methylphenyl-2-phenyl-osazone (II) and D-glucose-bis-methylphenyl-osazone (III) led to the following statements.

1) All three osazones gave two electronic oxidation waves and four electric reduction waves. The oxidation waves were highest in an alkaline medium. The reduction waves of I and II decreased in an alkaline medium.

2) Compounds I and II showed the same chelate structure whereas no such structure was found in III. The identity of the reduction potential with I and II indicates the presence of an A-chelate structure.

3) The reduction potential of III was by about 200 mv. more positive than that of I or II. This may be explained by the decrease of stability, due to the lack of chelate structure.

4) All three osazones were present in the solutions in two modifications, the ratio of which changed by heating in that the quantity of the component of an originally lower ratio increased in a reversible way. The existence of the modifications may be explained by an action of the sugar portion of the molecule.

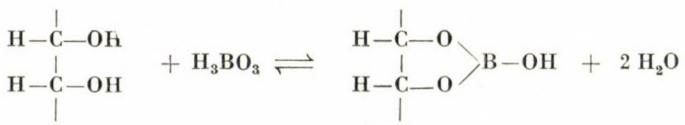
Doz. Dr. Béla JÁMBOR Budapest, VIII., Múzeum körút 4/a.
Doz. Dr. László MESTER Budapest, XI., Gellért tér 4.

EINFLUSS DER BORSÄURE AUF DAS POLAROGRAMM DER D-GLUCOSAZONE

B. JÁMBOR und Frl. K. KISBÁN

(Pflanzenphysiologisches Institut der L. Eötvös Universität, Budapest)

Bekanntlich tritt die Borsäure mit benachbarten OH Gruppen enthaltenden organischen Verbindungen in Komplex.



Die Wirkung dieser Erscheinung auf das polarographische Verhalten von Colchicinderivaten wurde von BRDIČKA [1] studiert. JÁMBOR und MESTER [2] haben die Wirkung auf Zuckerformazanen beschrieben. In unserer vorangehenden Mitteilung [3] haben wir das polarographische Verhalten von D-Glucosazonen behandelt. In Zusammenhang damit entstand die Frage, ob wir bei den Untersuchungen den zwischen den pH-Werten 1—13 anwendbaren BRITTON—ROBINSONschen Puffer benützen können, der bekanntlich auch Borsäure enthält. Die vorläufigen Untersuchungen begründeten unsere Annahme und es erwies sich, dass die Borsäure das polarographische Verhalten der D-Glucosazonen beeinflusst. Da diese Einwirkung mehrere interessante Erscheinungen verursacht, haben wir diese Frage eingehender studiert.

Beschreibung der Versuche

In methodischer Hinsicht wurde wie in unserer vorangehenden Mitteilung vorgegangen. Auch diesmal wurden folgende Osazone untersucht: D-Glucosazon (I), D-Glucose-1-Methylphenyl-2-Phenylosazon oder gemischtes **A**-Osazon (II), und D-Glucose-bis-Methylphenylosazon (III). Unsere, in Anwesenheit von Borsäure-enthaltenden Puffer erhaltenen Polarogramme haben gezeigt, dass die Borsäure die Potentialwerte der Stufen nicht beeinflusst, wie es beim Vergleich der Abb. 1 mit Abb. 5 unserer vorangehenden Mitteilung [3] ersichtlich ist.

Die Höhe der anodischen Stufe wurde demgegenüber durch die Borsäure auf etwa ein Drittel vermindert, wie es auf der mit den Werten der Polarogramme gezeichneten Abb. 2 gezeigt ist. Es ist ersichtlich, dass eine äquivalente Borsäuremenge die Höhe der anodischen Stufe noch nicht beeinflusst. Bei der Er-

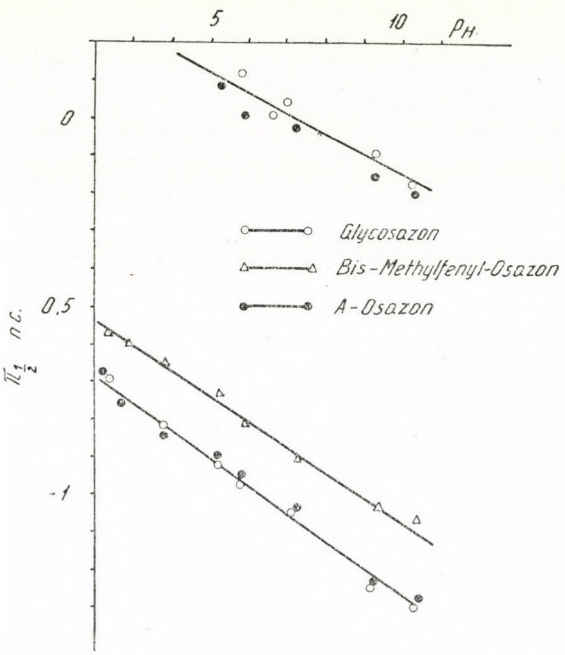


Abb. 1. Die $\pi_{1/2}$/pH-Kurven der untersuchten Osazone, auf Grund der in Gegenwart von Borsäure aufgenommenen Polarogramme

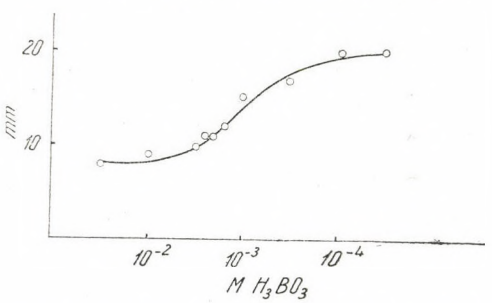


Abb. 2. Die Höhe der anodischen Stufe des Glucosazons auf Einwirkung von verschiedenen Mengen von Borsäure

höhung der Konzentration der Borsäure nimmt aber die Höhe der Stufe ab und nähert den Endwert, den Drittelteil der ursprünglichen Höhe asymptotisch an. Die Stufenhöheänderung als Funktion des Logarithmus der Borsäurekonzentration gibt eine S-förmige Kurve. Die minimale Höhe wird, wie ersichtlich, bei einem ungefähr hundertfachen Äquivalenzverhältnis erreicht.

Eine weitere, sehr interessante Wirkung der Borsäure ist die ausgeprägte Welle hinter der grossen Reduktionsstufe von **I** und **II**. Diese Welle entsteht nur in alkalischem Medium und ist den meisten katalytischen Wellen ähnlich. Sie tritt bei **III** nicht auf. Das Polarogramm der drei Osazone in Anwesenheit von Borsäure in alkalischem Medium ist in den Abb. 3—5 gezeigt. Es ist interessant, dass die Wellen bei einer Polarographie in 70% Alkohol nicht auftreten,

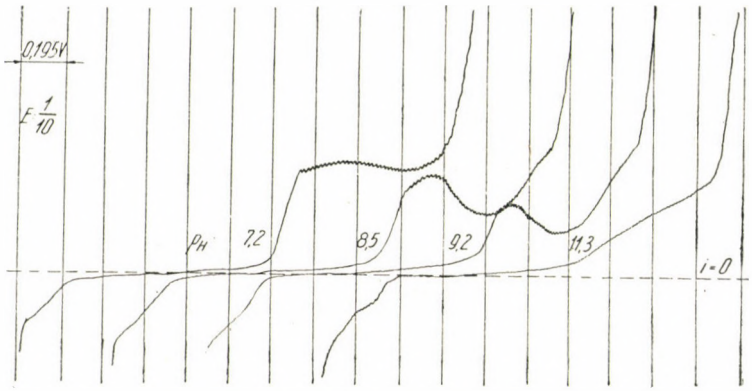


Abb. 3. Das Polarogramm des 10^{-4} M Glucosazons in einem, auf verschiedene pH-Werte eingestellten BRITTON-ROBINSON-Puffer, in 30%igem Alkohol aufgenommen

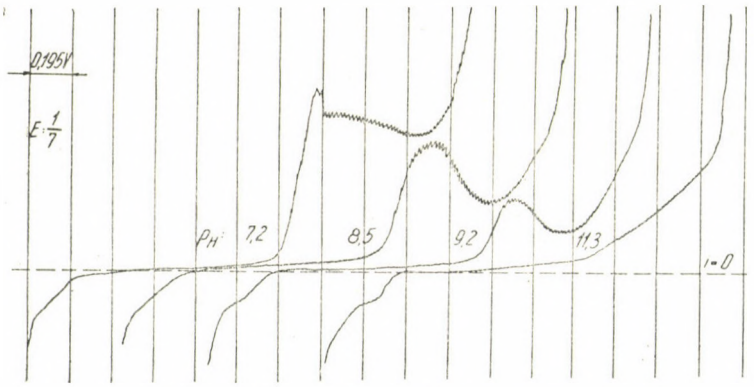


Abb. 4. 10^{-4} M gemischtes A-Osazon, wie bei Abb. 3

anderseits dass sie keine Höhe, sondern eine »Tiefe« haben : nach der Erreichung der ursprünglichen Höhe der Reduktionsstufe sinkt die Kurve und auf diese Weise schreibt sie die Welle ab. Auf die übliche Untersuchung der katalytischen Welle, namentlich auf die Feststellung des Zusammenhanges der Stufenhöhe mit der Konzentration des Stoffes wurde eben darum verzichtet. Die Welle unterscheidet sich von den katalytischen Wellen, indem ihre Tiefe mit der Änderung des Quecksilberniveaus proportional zunimmt und dass sie nach Zugabe von Gelatine nicht eliminiert wird (Abb. 6). Die natur dieser Welle ist also unsicher.

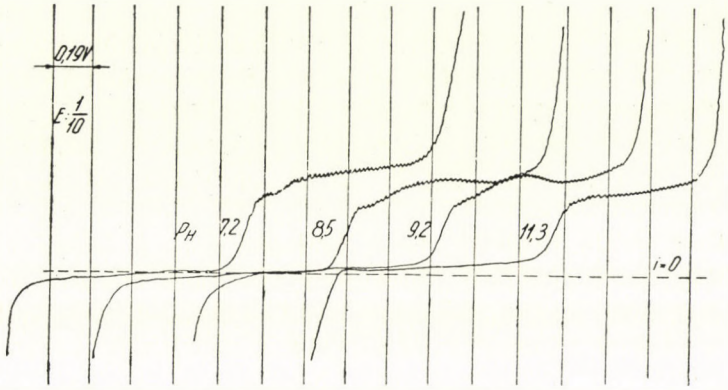


Abb. 5. 10^{-4} M bis-Methylphenyl-Osazone, wie bei Abb. 3

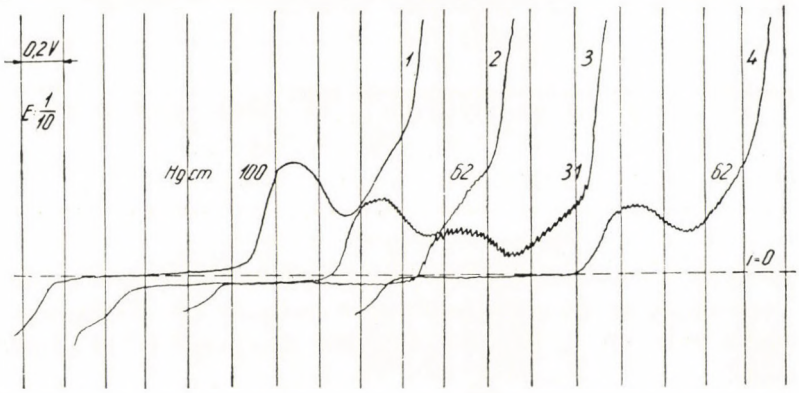


Abb. 6. Das Polarogramm des 10^{-4} M Glykosazons in einem auf pH 8,8 eingestellten BRITTON-ROBINSON-Puffer, aufgenommen in 30%-igem Alkohol bei verschiedenem Hg-Niveau (1—3) und bei Zugabe von Gelatine (4)

Besprechung

Es ist verständlich, dass die Komplexbildung mit der Borsäure das Potential der Reduktionsstufe wahrnehmbar nicht beeinflusst, da die Reduktion im Osazonteil, die Borsäurekomplexbildung dagegen im Zuckerteil vor sich geht.

Da andererseits die Oxydation im Zuckerteil abläuft [3], ist es verständlich, dass die Borsäure darauf schon eine grössere Wirkung ausübt. Es kann angenommen werden, dass die Wirkung darin besteht, dass ein Teil der anodischen Stufe in positiver Richtung verschoben wird. Eine ähnliche Erscheinung wurde schon von BRDIČKA beschrieben [1]. Dieser, in positiver Richtung verschobene Teil fällt mit dem Anfang des Polarogramms zusammen, ist daher nicht zu sehen. Das auffallende bleibt nur die Verminderung der Höhe der ursprünglichen Stufe [4]

Zwar übt die Komplexbildung auf den Osazonteil, wie es gezeigt wurde, keine starke Wirkung aus, ruft sie doch hervor, dass dort die Energie einer Wasserstoffbindung, also der saure oder basische Charakter dermassen verändert wird, dass die Bedingungen der Entstehung der katalytischen Welle bestehen.

Da die Welle nur bei **I** und **II** mit Chelatstruktur auftritt, kann angenommen werden, dass sie der Energieänderung der Chelat-Wasserstoffbindung zuzuschreiben ist. Die Richtung dieser Änderung könnte infolge der komplizierten Zusammensetzung der Verbindung nur nach langwierigen Untersuchungen festgestellt werden. Bezüglich der Gleichgewichtskonstante der Entstehung des Boratkomplexes kann aus Abb. 2 festgestellt werden, dass die Hälfte des 10^{-4} M Glucosazons als Boratkomplex entsteht, wenn in der Lösung 10^{-3} M Borat vorhanden ist.

$$K = \frac{[\text{gl—B}]}{[\text{gl}] \cdot [\text{B}]} = \frac{0{,}5}{0{,}5 \cdot 10} = 0{,}1 \ .$$

Die freie Energie der Komplexbildung ist also :

$$\Delta G_0 = -1363 \cdot \log K = +1363 \text{ cal.}$$

Die Entstehung des Boratkomplexes im Falle des Glucosazons ist also danach ein energieverbrauchender Prozess. Nach Angaben von Brdička [1] über γ-Thujaplicin folgt, dass zur Komplexbildung der hälften Menge des Thujaplicins ungefähr äquivalente Menge Borsäure nötig ist. Der Wert von K ist dementsprechend ungefähr 1, also ΔG_0 ungefähr 0, es handelt sich also in diesem Falle um keinen endothermen Prozess. Die angegebenen Zahlen sind nur von annäherndem Charakter, da bei ihrer Berechnung angenommen wurde, dass das Verhältnis der polarographischen Stufen dem Verhältnis der Zusammensetzung der Lösung entspricht. Bekanntlich ist dies nicht immer der Fall (kinetisch begrenzte Stufen). Auf die Klarlegung dieser Frage breiteten wir unsere Untersuchungen z. Z. nicht aus.

ZUSAMMENFASSUNG

Während der Untersuchung des polarographischen Verhaltens des D-Glucosazons (**I**), des D-Glucose-1-Methylphenyl-Osazons (**II**), und des D-Glucose-Bis-Methylphenyl-Osazons (**III**) in Anwesenheit von Borsäure stellten die Verfasser folgendes fest :

1. Das Potential der Reduktionsstufen wird durch Borat nicht beeinflusst, da die Komplexbildung mit Borat im Zuckerteil des Osazonmolekuls, also fern vom Osazonteil stattfindet.
2. Die Höhe der die Oxydation anzeigenden Stufe wird jedoch, vielleicht durch die positive Verschiebung eines Teiles der Stufe vermindert.
3. In alkalischem Medium entsteht nach den Reduktionsstufen von **I** und **II** möglicherweise eine Welle, deren Eigenschaften sich von den üblichen katalytischen Wellen unterscheiden. Es kann angenommen werden, dass der Chelat-Wasserstoffatom für die Stufe verantwortlich sei, da die Welle bei Abwesenheit des letzteren bei **III** fehlt.
4. Im Falle des Glucosazons ist die Komplexbildung ein endothermer Prozess, ihre Gleichgewichtskonstante ist etwa 10^{-1}.

LITERATUR

1. R. BRDIČKA : Ark. Kem. Mineralog. Geol., Ser. B. **26**, No 19 ; 1 (1948).
2. B. JÁMBOR und L. MESTER : Acta Chim. Hung. **6**, 263 (1955).
3. B. JÁMBOR und L. MESTER : Acta Chim. Hung. **9**, 485 (1956).

EFFECT OF BORIC ACID ON THE POLAROGRAM OF D-GLUCOSAZONES

B. Jámbor and K. Kisbán

(Institute of Plant Physiology, L. Eötvös University, Budapest)

Summary

On investigating the polarographic behaviour of D-glucosazone (**I**), of D-glucose-1-methylphenyl-2-phenylosazone (**II**) and of D-glucose-bis-methylphenyl-osazone (**III**) in the presence of boric acid, the following results were attained.

1. The formation of borate does not affect the potential of the reduction waves since the complex formation with borate takes place in the sugar portion of the molecule of osazone, *i. e.* far from the osazone portion.

2. The height of the wave indicating oxidation is reduced possibly by the positive shift of one portion of the wave.

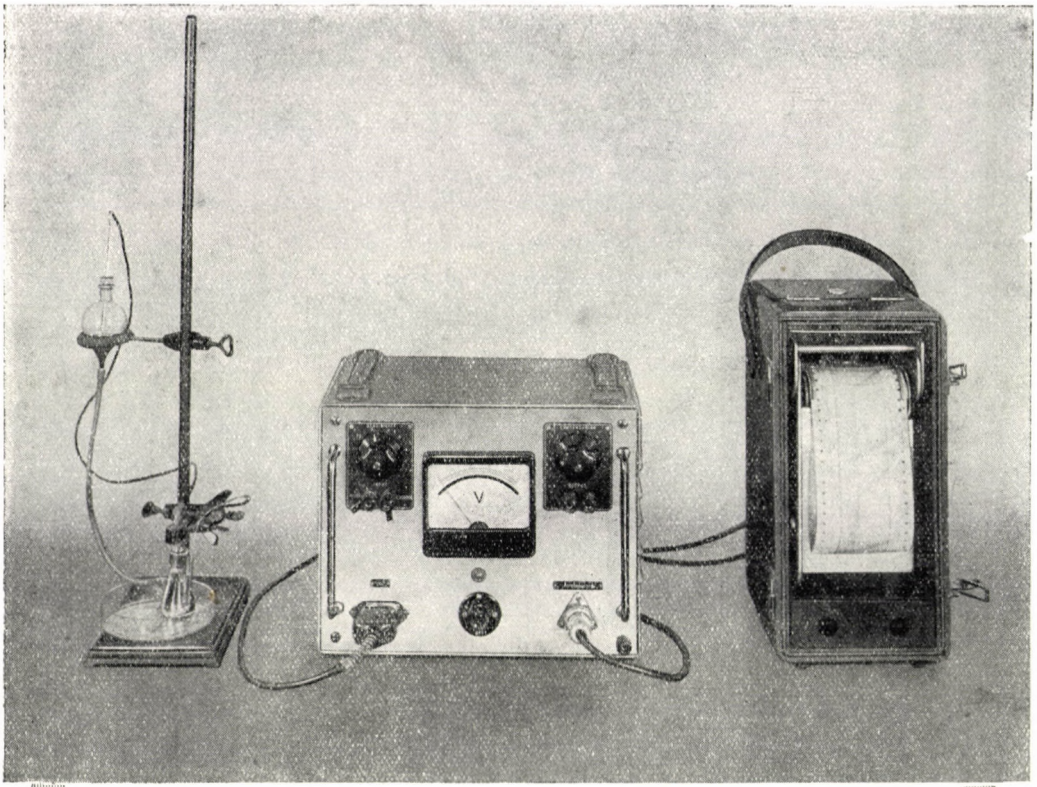
3. In an alkaline medium the reduction waves of compounds **I** and **II** are followed by a wave of properties differing from those of usual catalytic waves. It may be presumed that this wave is due to the presence of a chelate hydrogen because the wave does not appear in the case of compound **III** where this hydrogen is absent.

4. In the case of glucosazone the complex formation is an endothermic process, with an equilibrium constant of about 10^{-1}.

Dozent Dr. Béla JÁMBOR
Frl. Klára KISBÁN
Budapest, VIII. Múzeum körút 4/a.

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója Műszaki felelős : Farkas Sándor
A kézirat nyomdába érkezett : 1956. VIII. 16. — Terjedelem : 44 (A/5) ív, 353 ábra

40440/57 — Akadémiai Nyomda Budapest — Felelős vezető : Puskás Ferenc



POLAROGRAPH

for determining the quantity, the quality and the utilization in steeper bath of cations, organic compounds or paints. Six-step pre-amplifier stage, drip mercury cathode, instrument for taking direct readings, self-contained or integrated with a recorder.

The device has been elaborated by the Textile Research Institute in Budapest

Exporters:

METRIMPEX

Hungarian Trading Company for Instruments
Budapest 62, P. O. B. 202
Cables: INSTRUMENT, Budapest

Instruments for laboratories and research institutes

centrifuges
high-pressure autoclaves
spectroscopes for material testing
balances
- micro-analytical balances
- analytical balances
- torsion balances
- taring balances

bacteriological thermostats
- ultrathermostats

analysers
- electrolysers
- Warburg apparatus
- viscosimeters
- flash-point testers
- electrodes

calorimeters (Berthelot—Mahler—Kröcker type)

colorimeters
- Duboscq type colorimeter
- polyphotometer with one or with two photo-electric cells

mechanical laboratory implements
- oil air pumps
- shaking machines
- mixing motors

Exporters

METRIMPEX

Hungarian Trading Company for Instruments

Letters: Budapest 62, P. O. B. 202

Telegrams: Instrument Budapest

INDEX

Tom. 9., Fasc. 1—4.

I. Ungarisch-tschechoslowakische Polarographische Konferenz Veszprém, August 1955

J. Proszt: Geleitwort 1

J. Heyrovský: Neuere Richtungen in der Polarographie 3

L. Erdey: Die Entwicklung der Polarographie in Ungarn 17

K. Győrbíró, L. Poós und *J. Proszt:* Die Polarographie des Magnesiums 27

J. V. A. Novák: Polarographische Daueranalysatoren 37

L. Erdey und *A. Karsay:* Die polarometrische Bestimmung der Eisen(III)-Ionen mit Ascorbinsäure 43

I. Rusznák, K. Fukker und *I. Králik:* Polarographische Untersuchung hochmolekularer Stoffe mittels Maximadämpfung 49

I. Rusznák, I. Králik und *K. Fukker:* Polarographische Bestimmung der Methylenblauzahl an hoch carboxylierten regenerierten Zellulosen mittels der Unterdrückung des Sauerstoffmaximums 59

J. Heyrovský: Allgemeines über oszillographische Polarographie 73

R. Kalvoda: Quantitative oszillographische Analyse 93

J. Szonntagh und *J. Rozmanith:* Die polarographische Untersuchung des Galliums ... 99

J. Mašek: Polarographisches Verhalten und Bestimmungsmöglichkeiten einiger anorganischer Stickstoffverbindungen 105

J. Kůta: Über die Einflüsse der Elektrolytlösungen bei der Reduktion der Oxalsäure 119

J. Dévay: Wirkung des Viereckimpulses und des Sinusstroms auf den Diffusionsstrom der Quecksilberionen an ruhender Quecksilberelektrode 135

E. Juhász: Amperometrische Titrationen mit Wechselstrom 145

J. Říha und *L. Šerák:* Zwei neue tschechoslowakische Polarographenn 153

J. Paulik und *J. Proszt:* Eine neue Methode zur Derivation von Polarogrammen... 161

M. Spálenka: Polarographie in der metallurgischen Praxis 171

Z. Ferenczy, A. Almásy und *G. Szádeczky-Kardoss:* Die polarographische Bestimmungsmöglichkeiten des Magnesiums 179

K. Győrbíró und *L. Poós:* Eine verbesserte polarographische Zelle mit strömender Quecksilberelektrode 185

J. Proszt und Frl. *J. Kis:* Auswertung von Papierchromatogrammen auf polaro-coulometrischem Wege (Vorläufige Mitteilung) 191

I. Bozsai: Die Anwendung amperometrischer Titrationen in der Metallanalyse ... 195

J. Volke: Polarographie der N-haltigen heterocyclischen Verbindungen 223

V. Volková: Die Anwendungsmöglichkeiten der Polarographie in der Pharmazie... 247

Frau *G. Bozsai:* Einige Anwendungen des amperometrischen Titrationsverfahrens in der Arzneimittelanalyse 265

L. Molnár: Die quantitative oszillographische Polarographie einiger Alkaloide.... 273

P. Zuman: Polarographische Bestimmung der Vitamine 279

P. Spanyár, M. Kiszel und *E. Kevei:* Verfahren zur Isolierung und polarographischen Bestimmung der in den Lebensmitteln in geringer Konzentration vorhandenen biologisch-aktiven Stoffe 295

V. Kalous: Erfahrungen über die polarographische Eiweissreaktion 301

Gy. Lamm: Polarographische Eiweiss-Untersuchungen von Serum und Leber bei Leberschädigungen 311

M. Baumann und *B. Jámbor:* Polarographische Untersuchung der Muskelproteine .. 319

E. Cságoly: Eine neue Auswertungsmethode der katalytischen Proteinwelle. Zusammenhang zwischen der polarographischen Sulfhydryl-Aktivität des Blutserums und der Röntgenstrahlenempfindlichkeit 335

K. Lindner: Polarographische Beurteilung des biologischen Wertes der Eiweissstoffe... 353

J. Koryta: Polarographie der Komplexverbindungen und ihre analytischen Anwendungen 363

E. Bodor: Polarographische Untersuchung von organischen Metallkomplexen des Chinalizarins 375

V. Cieleszky, Frau *A. Dénes* und *E. Sándi:* Polarographische Untersuchungen über das Kupfer- und Eisenaustauschverhältnis in Hydroxamsäurekomplexen und dessen biologische Bedeutung 381

Gy. Josepovits: Die Änderung der Gestalt von Polarogrammen bei Gegenwart einiger Maximadämpfer 397

M. Březina: Sauerstoffbestimmungen 407

F. Péter: Die polarographische Untersuchung des Natriumdithionits 421

J. Teisinger: Die Bedeutung der Polarographie in der Gewerbetoxikologie.... 435

Frau *L. Ster:* Untersuchungen im Serum von Silikotikern 443

M. Timár und Frau *L. Ster:* Die Bedeutung der polarographischen Untersuchung der Mucoproteine in der Pneumokoniose 451

Frau *I. Ajtai* und *Gy. Csányi:* Arbeitsmethoden zur polarographischen Bestimmung einiger aromatischer Nitroverbindungen im Dienste der arbeitshygienischen Untersuchungen 463

E. Knobloch: Über die Polarographie des Chloramphenicols und der Zwischenprodukte der Vitamin A-Synthese aus Citral 471

B. Jámbor und *L. Mester:* Polarographische Untersuchung des Glucosazons 485

B. Jámbor und Frl. *K. Kisbán:* Einfluss der Borsäure auf das Polarogramm der D-Glucosazone 493

The Acta Chimica publish papers on chemistry in English, German, French and Russian.

The Acta Chimica appear in parts of varying size, making up one volume.

Manuscripts should be addressed to

Acta Chimica
Budapest 62, Postafiók 440.

Correspondence with the editors should be sent to the same address.

The rate of subscription to the Acta Chimica is 110 forints a volume. Orders may be placed with „Kultura" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les Acta Chimica paraissent en français, allemand, anglais et russe, et publient des mémoires du domaine des sciences chimiques.

Les Acta Chimica sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en un volume.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante:

Acta Chimica
Budapest 62, Postafiók 440.

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «Kultura» (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Compte-courant No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Chimica*» издает трактаты из области химической науки на русском, немецком, английском и французском языках.

«*Acta Chimica*» выходит отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Chimica
Budapest 62, Postafiók 440.

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции.

Подписная цена «*Acta Chimica*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «Kultura» (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

126,— Ft