

### 37. Über die Oxydation von Ascorbinsäure durch salpetrige Säure Teil I: Stöchiometrie und kinetische Messtechnik

13. Mitteilung über Reduktone und 1,2,3-Tricarbonylverbindungen<sup>1)</sup>

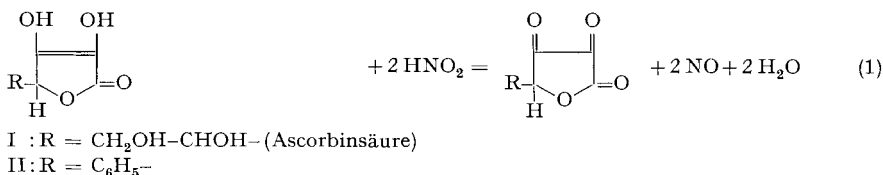
von **H. Dahn, Lotte Loewe, E. Lüscher** und **R. Menassé**

(19. XI. 59)

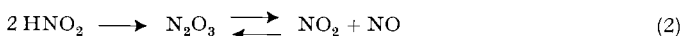
Die Darstellung unserer Untersuchung der Reaktion zwischen Ascorbinsäure und salpetriger Säure<sup>1a)</sup> beginnt mit den experimentellen Grundlagen: Teil I, Stöchiometrie und Messtechnik; Teile II bis V, die kinetischen Analysen in verschiedenen pH-Gebieten sowie bei Zusatz von Azid-Ionen. Der abschliessende Teil VI bringt die zusammenfassenden Diskussionen der Ergebnisse mit mechanistischen Interpretationen.

Bald nach Entdeckung der Ascorbinsäure erhob sich die Frage, ob sie an der Reduktion von Nitrat- und Nitrit-Ionen zu Ammoniak in der Pflanzenzelle beteiligt sei. Bei Versuchen *in vitro* fanden KARRER & BENDAS<sup>2)</sup> indessen, dass Nitrit und Ascorbinsäure bei pH 6–9 erst bei mehrstündigem Kochen 50–70% d. Th. an NO bilden. LEMOIGNE *et al*<sup>3)</sup> beobachteten bei 20° und pH 4,5 als Reaktionsprodukt «salpetrige Dämpfe», in sehr verdünnter Lösung jedoch Hydroxylamin. Andererseits fanden wir, dass in ca. 0,01 M. Säure die NO-Bildung aus Nitrit und Ascorbinsäure (I) oder anderen Reduktonen wie 4-Phenyl-hydroxytetronsäure (II) sehr rasch erfolgt. Mit Hilfe des Massenspektrometers konnte C. A. BUNTON (noch unveröffentlicht) qualitativ nachweisen, dass sich hierbei ausser NO kein anderes Gas bildet.

**Stöchiometrie.** Um festzustellen, ob die Reaktion zwischen I bzw. II und salpetriger Säure quantitativ nach Gleichung (1) verläuft, wurde eine gegebene Nitrit-



menge mit einem Überschuss an I bzw. II versetzt; bei pH ca. 5 lieferte die Reaktion bei Zimmertemperatur in 8 Stunden pro Mol HNO<sub>2</sub> 0,92 Mol NO. Ohne Redukton



sollten nach (2) 0,5 Mol NO pro Mol HNO<sub>2</sub> entstehen; bei Abtrennung von NO<sub>2</sub> durch Lauge wurden in der Tat 0,45–0,49 Mol NO gefunden.

<sup>1)</sup> 12. Mitt.: H. DAHN & H. HAUTH, *Helv.* 42, 1214 (1959).

<sup>1a)</sup> Vorläufige Mitteilungen: H. DAHN & LOTTE LOEWE, *Chimia* 12, 362 (1958); C. A. BUNTON, H. DAHN & LOTTE LOEWE, *Nature* 183, 163 (1959).

<sup>2)</sup> P. KARRER & H. BENDAS, *Helv.* 17, 743 (1934).

<sup>3)</sup> M. LEMOIGNE, P. MONGUILLON & R. DESVEAUX, *C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci.* 204, 1841 (1937).

Bei pH 0–1 verläuft die Oxydation nach Gl. (1) sehr rasch; bei Zusatz katalytisch wirkender<sup>4)</sup> Halogenid-Ionen lässt sich sogar eine angesäuerte Ascorbinsäurelösung mit Nitritlösung direkt titrieren. Bei potentiometrischer Indizierung an einer Pt-Elektrode zeigt sich bei Äquivalenz ein Potentialsprung von über 200 mVolt, der eine scharfe Endpunktsbestimmung gestattet (Fig. 1). Ascorbinsäure verbrauchte 98% der nach Gl. (1) berechneten Nitritmenge.

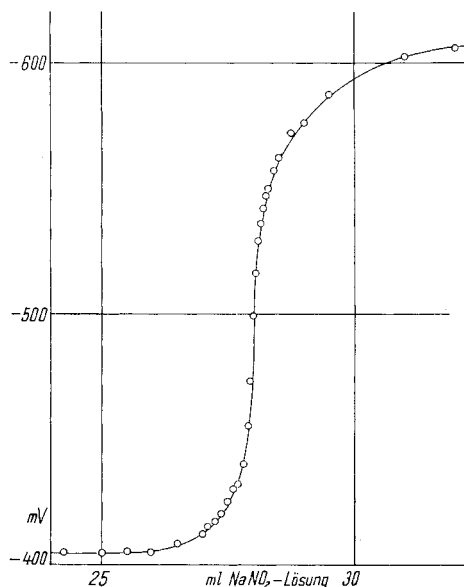


Fig. 1. Potentiometrische Titration von Ascorbinsäure (1,40 mMol) in 1 M HCl (0,4 M KBr-haltig) mit 0,096 M  $\text{NaNO}_2$ -Lösung bei 0°

Nach beendeter Titration liess sich spektroskopisch die völlige Abwesenheit der charakteristischen Ascorbinsäurebande bei 244 m $\mu$  feststellen. Ferner konnte nach der Redox-Titration überschüssiges  $\text{HNO}_2$  in der Titration:lösung ohne weiteres dadurch nachgewiesen werden, dass es Anilin zum Diazoniumsalz diazotierte, das mit R-Salz gekuppelt wurde. Solange dagegen noch Ascorbinsäure anwesend ist, ist es nicht möglich, Anilin durch Diazotierung und Kupplung nachzuweisen, offenbar einerseits weil I rascher als Anilin mit salpetriger Säure reagiert und diese grösstenteils wegfängt, anderseits weil aromatische Diazoverbindungen durch Ascorbinsäure rascher reduziert werden als sie mit R-Salz kuppeln können. ERLBACH<sup>5)</sup> beobachtete die Spaltung der Ascorbinsäure durch Diazoverbindungen. Diese Unterdrückung der Diazotierungs- und Kupplungs-Reaktion ist übrigens sogar schon länger bekannt als Ascorbinsäure selbst: bereits 1890 fand LAURENT<sup>6)</sup>, dass Orangensaft (der, wie wir heute wissen, 0,06% Ascorbinsäure enthält) die Diazoreaktion von aromatischen Aminen verhindert.

<sup>4)</sup> Die Katalyse von  $\text{HNO}_2$ -Reaktionen durch Halogenid-Ionen ist bekannt; vgl. z. B. die Diazotierung von Anilin: H. SCHMID & G. MUHR, Ber. deutsch. chem. Ges. 70, 421 (1937).

<sup>5)</sup> H. ERLBACH, Ber. deutsch. chem. Ges. 68, 534 (1935); R. WEIDENHAGEN & H. WEGNER, *ibid.* 72, 2010 (1939); B. EISTERT & H. MUNDER, Chem. Ber. 88, 226 (1955).

*Kinetische Messmethodik.* Ascorbinsäure<sup>7)</sup> und Phenylhydroxytetronsäure<sup>8)</sup> besitzen ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei ca. 245 m $\mu$ , ihr Anion ein solches bei 265 m $\mu$ , beide mit  $\log \epsilon$  ca. 4. Da die Dehydrierungsprodukte<sup>9)</sup><sup>10)</sup> bei diesen Wellenlängen ca. 100 mal schwächer absorbieren, konnte man den Fortgang der Reaktion an der Abnahme der Extinktion verfolgen. Die Extinktionskurven von I und II wurden bei pH ca. 1 (undissoziierte Form) und pH ca. 7 (Monoanion) in der im experimentellen Teil beschriebenen Apparatur bei 0° in Wasser und Dioxan-Wasser (40:60 v/v) neu gemessen; das BEER'sche Gesetz wird befolgt. Die Dehydrierung der Ascorbinsäure lässt sich nicht im isosbestischen Punkt des Systems Ascorbinsäure/Ascorbat-Ion verfolgen (diesen fanden wir für I bei 250 m $\mu$  (Wasser) bzw. 252 m $\mu$  (Dioxan-Wasser), für II bei 251 m $\mu$  (Wasser) bzw. 254 m $\mu$  (Dioxan-Wasser)); denn HNO<sub>2</sub> und NaNO<sub>2</sub> absorbieren bei 250 m $\mu$  bereits sehr merklich<sup>11)</sup>; ihr breites Absorptionsminimum bei 300–270 m $\mu$  ist auch nicht zu verwenden, da hier die Reduktone nicht mehr ausreichend absorbieren. Wir wählten daher 255 m $\mu$  zur Messung, wo HNO<sub>2</sub> und NO<sub>2</sub><sup>–</sup>  $\log \epsilon$  ca. 1 besitzen<sup>11)</sup>.

Da die Oxydation in Wasser bei Zimmertemperatur zu rasch vor sich geht, um bequem Messungen zu gestatten, wurde die Temperatur auf 0° gesenkt; ferner fanden wir, dass die Reaktion bei Dioxanzusatz erheblich langsamer verläuft; daher wurde bei einem Teil der Versuche in Dioxan-Wasser (40:60 v/v) anstatt Wasser gearbeitet. Dioxan-Wasser hat den zusätzlichen Vorteil, gewisse Reduktone besser zu lösen als Wasser. Zunächst wurde die Reaktion durch Zugabe von Alkali unterbrochen und in den Einzelproben die Ascorbinsäurekonzentration gemessen (Alkali-Stop-Verfahren); dabei machte sich jedoch störend bemerkbar, dass Reduktone in alkalischem Milieu besonders empfindlich gegen Luftoxydation sind, vor allem in Anwesenheit des autoxydablen Dioxans. Dies war in Versuchen von 0. und 2. Ordnung störend, in denen die wahre Ascorbinsäurekonzentration bekannt sein sollte. Daher wurde in allen späteren Versuchen die Ascorbinsäurekonzentration direkt in der Reaktionslösung spektrophotometrisch bei  $+0,6^\circ \pm 0,1^\circ$  verfolgt (Kühlzelle, s. exper. Teil).

Redukton (Red<sup>0</sup>) und Reduktonat-Anion (Red<sup>–</sup>) unterscheiden sich bei 255 m $\mu$  in der Extinktion; für kinetische Messungen ist es am bequemsten, die Gesamtkonzentration (Red\*) optisch zu ermitteln. Hierfür muss bei Versuchen, die merkliche Mengen Anion enthalten können, dessen Anteil durch pH-Messung ermittelt werden. Dies geschah mit Glaselektrode und separater Kalomel-Bezugselektrode in gekühlter Lösung unter Stickstoff. Unter diesen Bedingungen fanden wir für die erste Dissoziationsstufe der Reduktone<sup>12)</sup> folgende pK- bzw. pK\*-Werte:

<sup>6)</sup> E. LAURENT, Ann. Inst. Pasteur 4, 737 (1890).

<sup>7)</sup> J. S. LAWENDEL, Nature 180, 434 (1957).

<sup>8)</sup> H. DAHN & H. HAUTH, Helv. 40, 2249 (1957).

<sup>9)</sup> R. W. HERBERT, E. L. HIRST, E. PERCIVAL, R. REYNOLDS & F. SMITH, J. chem. Soc. 1933, 1270.

<sup>10)</sup> H. DAHN & J. S. LAWENDEL, Helv. 37, 1318 (1954).

<sup>11)</sup> G. KORTÜM, Z. physikal. Chem. (B) 43, 418 (1939); T. A. TURNEY & G. A. WRIGHT, Chem. Reviews 59, 497 (1959).

<sup>12)</sup> Die 2-ständige HO-Gruppe der Reduktone ist phenolisch mit pK ca. 12<sup>13)</sup><sup>8)</sup>, dissoziiert also im betrachteten pH-Bereich (< 5) nicht mehr merklich.

Ascorbinsäure:  $pK$  (in Wasser,  $0^\circ$ ) = 4,29;  $pK^*$  (in Dioxan-Wasser (40:60 v/v),  $0^\circ$ ) = 5,22.

Phenylhydroxytetronsäure:  $pK$  (in Wasser,  $0^\circ$ ) = 3,97;  $pK^*$  (in Dioxan-Wasser (40:60 v/v),  $0^\circ$ ) = 5,30.

$HNO_2$  zeigt in Wasser bei  $0^\circ$   $pK = 3,50^{14}$ .

pH und  $pK$ -Werte bei  $0^\circ$  weichen von den thermodynamischen Werten ab; in Dioxan-Wasser haben  $pH^*$  und  $pK^*$  überhaupt keine exakte Bedeutung mehr. Die Differenz  $pH^* - pK^*$  ist jedoch, unabhängig vom Lösungsmittel, von realer Bedeutung als — antilog  $[Red^-]/[Red^0]$ , wenigstens in verdünnter Lösung und vorausgesetzt, dass beide Grössen unter den gleichen Bedingungen ermittelt wurden. Hieraus lässt

$$\frac{[Red^-]}{[Red^0]} = \frac{\text{antilog}(pH^* - pK^*)}{1 + \text{antilog}(pH^* - pK^*)} \quad (3)$$

sich nach (3) der Anteil von Reduktonat-Ion an der Gesamtkonzentration ( $[Red^0] = [Red^0] + [Red^-]$ ) berechnen, und, falls die Gesamtkonzentration bekannt ist (z. B. aus der Einwaage), die Konzentration an Reduktonat-Ion  $[Red^-]$ .

Die Reaktion nach Gl. (1) verläuft unter Verlust von 3 H-Ionen; auf die Zugabe von Puffern musste jedoch verzichtet werden, da diese, wie in Teil IV erwähnt, als Katalysatoren wirken. Bei Reaktionsmischungen von pH ca. 4 bedingt der Verlust von z. B.  $0,4 \cdot 10^{-3}$  Mol H-Ionen schon eine beträchtliche pH-Änderung, so dass sich das Verhältnis Reduktonat:Redukton während der Reaktion mit steigendem pH laufend zugunsten des stärker absorbierenden Anions verschiebt. Um bei solchen Reaktionen aus der gemessenen Extinktion noch auf die Konzentrationen  $[Red^0]$  und  $[Red^-]$  zu schliessen, musste das pH bei  $0^\circ$  über die ganze Reaktionsdauer verfolgt und für jeden Messpunkt individuell berücksichtigt werden (vgl. Teil IV). Bei der pH-Verfolgung war speziell darauf zu achten, dass keine Halogenid-Ionen oder andere Katalysatoren aus Vergleichselektroden oder Brücken in die Messlösung treten konnten.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG sowie der CIBA-STIFTUNG bestens für die Unterstützung dieser Arbeit und Herrn Dr. C. A. BUNTON, London, für die Messung und Interpretation der Massenspektren.

### Experimenteller Teil

**Materialien:** Ascorbinsäure (F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co.) und 4-Phenyl-2-hydroxy-tetronsäure (II) (hergestellt durch Oxydation von Phenylhydroxytetronimid mit  $HNO_2^{10}$ ) und Reduktion mit Ascorbinsäure<sup>15</sup>); mehrfach aus Wasser umkristallisiert) wurden über Nacht bei  $25^\circ/0,05$  Torr über  $P_2O_5$  getrocknet und über  $P_2O_5$  aufbewahrt. Natriumnitrit war MERCK, *p. a.*, Natriumazid FLUKA, *purum*, 99-proz.;  $HClO_4$  FLUKA, *p. a.*, war nach Titration 69,86-proz. Destilliertes Wasser wurde unter  $N_2$  ausgekocht, Dioxan wie üblich gereinigt und über Na unter  $N_2$  destilliert. Dioxan-Wasser (40:60 v/v) wurde durch Abwägen hergestellt. Alle Lösungsmittel wurden unter  $N_2$  aufbewahrt und gehandhabt.

Potentiometrische Redox-Titration von Redukton mit  $HNO_2$ . — In einem Titriergefäss mit Pt-Drahtelektrode, Kalomelektrode, Kühlmantel und Magnetrührer wurde eine eingewogene Reduktonmenge in 10 ml 1 N HCl gelöst, mit 2 ml 25-proz. KBr-Lösung versetzt

<sup>13</sup>) W. D. KUMLER & T. C. DANIELS, J. Amer. chem. Soc. 57, 1929 (1935).

<sup>14</sup>) A. KLEMENC & E. HAYEK, Mh. Chem. 53, 407 (1929).

<sup>15</sup>) H. DAHN & H. HAUTH, Helv. 39, 1366 (1956).

und unter Durchleiten von  $\text{CO}_2$  bei  $0^\circ$  mit  $\text{NaNO}_2$ -Lösung titriert. Bis zur Zugabe von ca. 80% verlief die Potentialeinstellung rasch, später musste 1–2 Min. bis zur Ablesung des Redoxpotentials gewartet werden (Fig. 1).

132,9; 105,7; 33,2 mg Ascorbinsäure verbrauchten 14,92; 11,88; 3,85 ml 0,0998 M  $\text{NaNO}_2$ -Lösung, entspr. 98,7; 98,8; 101,9% d. Th.

Die Gehaltsbestimmung der Nitritlösung geschah durch potentiometrische Titration<sup>16)</sup> von getrockneter Sulfanilsäure, deren Gehalt durch Titration mit  $\text{NaOH}$  bestimmt war.

Bei unvollständigem Luftabschluss wurden nur 30–90% der berechneten Menge  $\text{NaNO}_2$  verbraucht. Nach den Titrationen war im UV.-Spektrum bei 240–260m $\mu$  kein Redukton mehr nachweisbar; ein  $\text{HNO}_2$ -Überschuss liess sich leicht durch Diazotieren und Kuppeln demonstrieren.

**Diazotierungs- und Kupplungs-Versuche:** 0,1 mMol Anilin, 0,1 bis 0,5 mMol Ascorbinsäure und 0,1 mMol  $\text{NaNO}_2$  wurden bei  $0^\circ$  mit verdünnter  $\text{HClO}_4$  angesäuert und nach kurzem Stehen mit R-Salzlösung in Boratpuffer versetzt: keine Rotfärbung. – Bei  $\text{HNO}_2$ -Überschuss trat sehr langsam Rotfärbung auf, bei Abwesenheit von Ascorbinsäure momentan. – Wurde Anilin zuerst diazotiert und dann mit Ascorbinsäure versetzt, so war bei Zusatz von R-Salz in Borat keine Kupplung festzustellen.

**Gasanalyse.** – Die Umsetzung wurde in einem Zweihalskölbchen mit Gaseinleitung und Tropftrichter mit Druckausgleich und Gasauslass durchgeführt; falls die Nitritlösung zum überschüssigen Redukton getropft wurde, wurde der Tropftrichter mittels eines Spülaufsatzes mit Wasser unter Luftausschluss nachgespült. Die entwickelten Gase wurden mittels eines  $\text{CO}_2$ -Stromes in einem Azotometer über 50-proz.  $\text{KOH}$  (die  $\text{CO}_2$  und  $\text{NO}_2$  absorbiert) gesammelt. Nach beendeter Gasentwicklung («Mikroblasen», ca. 5–8 Std.) wurde das Gasvolumen in einer HEMPELSCHEN Gasbürette über  $\text{H}_2\text{O}$  gemessen, das Gas in einer HEMPELSCHEN Gaspipette zur Absorption von  $\text{NO}$  mit 20-proz.  $\text{FeSO}_4$ -Lösung bis zur Volumkonstanz geschüttelt und wieder in der HEMPELSCHEN Bürette gemessen:  $\text{NO}$ -Menge = Differenz der beiden Gasvolumina.

69,0 mg  $\text{NaNO}_2$  (1,0 mMol) in 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  wurden mit einer Lösung von ca. 175 mg Ascorbinsäure (1 mMol, d. h. 100% Überschuss über  $\text{NaNO}_2$ ) in 15 ml 0,7 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt: 20,5 ml  $\text{NO}$  ( $0^\circ$ , 760 Torr; = 92% d. Th.) + 1,2 ml Restgas.

Zu einer Lösung von ca. 190 mg II (1 mMol, d. h. 100% Überschuss) in 10 ml 1 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 3 ml Dioxan wurden 69,0 mg  $\text{NaNO}_2$  (1 mMol) in 15 ml  $\text{H}_2\text{O}$  getropft und nachgespült: 20,5 ml  $\text{NO}$  ( $0^\circ$ , 760 Torr; = 92%) + 1,3 ml Restgas.

Kontrollversuche mit dem nicht reduzierenden Phenyl-diketobutylolacton an Stelle von Redukton, oder ohne Substrat, ergaben aus 69 mg  $\text{NaNO}_2$  9,9 bzw. 10,9 ml  $\text{NO}$  ( $0^\circ$ , 760 mm), entsprechend 89 bzw. 98% d. Th., bezogen auf die Reaktion nach Gl. (2). – 1,3 ml Restgas wurden nach jeder Reaktion gefunden, auch bei Abwesenheit von  $\text{HNO}_2$ ; sie stammen offenbar aus dem Spül- $\text{CO}_2$ , akkumuliert in der langen Reaktionszeit.

**Kinetische Messverfahren.** – *Alkali-Stop:* Zu bestimmten Zeiten wurden aus der Reaktionslösung Proben herauspipettiert und zur Unterbrechung der Oxydation in überschüssige, ca. 0,02 N wässrige Hydrogencarbonatlösung gebracht. Kontrollen der Luftempfindlichkeit alkalischer Lösungen von Reduktonen zeigten, dass bei den vorliegenden geringen Konzentrationen die Zersetzung 1. Ordnung in Redukton war; daher wurden die spektrophotometrischen Messungen jeweils stets 2,0 Min. nach Entnahme gemacht. Bei Reaktionen, die 1. Ordnung in Redukton waren, wurde vernünftige Übereinstimmung mit den genaueren Kühlzellenwerten gefunden.

*Kühlzelle.* Um die Abnahme der Ascorbinsäurekonzentration in der Messküvette bei  $0^\circ$  verfolgen zu können, wurde in den Strahlengang eines Spektrophotometers BECKMAN DU eine doppelwandige Kühlzelle gebracht. Diese bestand aus einem lichtdichten Metallgehäuse und, darin isoliert, einer Kühlwanne aus Polyvinylchlorid, die auf der Vorder- und Rückseite mit je einem Quarzfenster versehen war. Die Wanne wurde von eisgeköhltem dest. Wasser durchströmt; in ihr stand der von aussen bewegbare Küvetenschlitten mit den beiden Quarzglasküvetten für Mess- und Vergleichslösung (sauerstoffreies Wasser bzw. Dioxan-Wasser). Die Quarzfenster der Wanne wurden von aussen mit einem auf  $0^\circ$  gekühlten Strom von reinem trockenem Stickstoff angeblasen, um ihr Beschlagen zu verhindern; dieser erfüllte den Raum oberhalb der Reaktions-

<sup>16)</sup> E. MÜLLER & E. DACHSELT, Z. Elektrochem. 37, 662 (1925).

küvette und verhinderte die Luftoxydation der Reduktonlösung. Das zirkulierende, mit Eis gekühlte Kühlwasser wurde durch eine Zentrifugalpumpe umgewälzt. Durch Isolation der Zuleitung konnte die Temperatur im Kühlbad auf  $+0,6^\circ \pm 0,1^\circ$  konstant gehalten werden (Fig. 2).

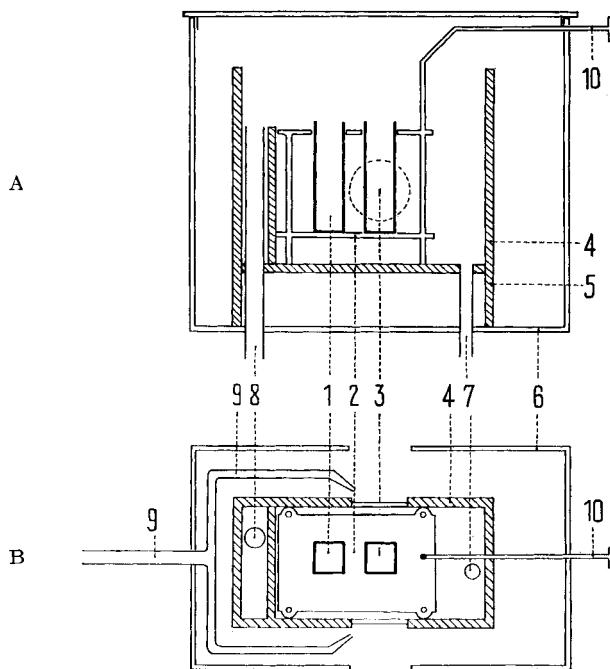


Fig. 2. Kühlvorrichtung für Spektrophotometrie bei ca.  $0^\circ$  im Spektrophotometer BECKMAN DU, Maßstab 1:3

A. Aufriss.

B. Grundriss.

- 1 Quarzküvetten 10 mm.
- 2 Küvettenhalter auf beweglichem Schlitten, Messing.
- 3 Quarzfenster in (4).
- 4 Kühlzelle aus Polyvinylchlorid 4 mm.
- 5 Füße der Kühlzelle, Polyvinylchlorid, an (6) verschraubt.
- 6 Gehäuse mit lichtdichtem Deckel, Aluminium 2 mm, zwischen Monochromator und Photozellengehäuse des Spektrophotometers verschraubt.
- 7 Zulauf von Kühlflüssigkeit (dest. Wasser); isolierte Zuleitung von der Umwälzpumpe.
- 8 Ablauf des Kühlwassers, zur Umwälzpumpe.
- 9 Zuleitung von gekühltem Stickstoff gegen (3).
- 10 Griff am Küvetten Schlitten, von aussen bedienbar zum Küvettenwechsel.

*Lösungen:* 5,20 M  $\text{HClO}_4$  in Dioxan-Wasser (40:60 v/v): 184,15 g  $\text{HClO}_4$  (68,20-proz.) und 40,48 g Dioxan wurden mit Dioxan-Wasser (40:60) auf 250,0 ml aufgefüllt; Kontrolle durch Titration.

*Messung in der Kühlzelle:* 1–2 mg Redukton (ca. 0,005–0,01 mMol) wurden eingewogen und in so viel luftfreiem Lösungsmittel gelöst, dass nach Zusatz aller Reagentien 50,0 ml Messlösung von  $0^\circ$  vorlagen. Bei allen Manipulationen wurde  $\text{N}_2$  oder  $\text{CO}_2$  übergeleitet. Die Lösung wurde auf  $0^\circ$  gekühlt und mit den gekühlten Lösungen von  $\text{NaNO}_2$  (sowie eventuell  $\text{NaN}_3$ ) und  $\text{HClO}_4$  versetzt, worauf die Reaktion einsetzte. Nach raschem Mischen wurde die vorgekühlte Küvette mittels einer vorgekühlten Pipette gefüllt und die Extinktion wie üblich gemessen.

*Extinktionskoeffizienten:* Die Absorption von I und II wurde in 0,1 N HClO<sub>4</sub> und in Phosphat-Citrat-Puffer von pH ca. 7 in Wasser und in Dioxan-Wasser (40:60 v/v) bei  $0,6^\circ \pm 0,1^\circ$  in der Kühlzelle unter N<sub>2</sub> gemessen. Die Form der Absorptionskurven von Reduktion und Reduktonat stimmte mit derjenigen von früher beschriebenen Kurven<sup>7)</sup> überein; die Tab. enthält die gefundenen Absorptionsmaxima und Extinktionskoeffizienten sowie die Extinktionen für  $\lambda = 255 \text{ m}\mu$ .

Tabelle.  $\epsilon_{\text{max}}$  und  $\epsilon_{255}$  von Ascorbinsäure und Phenylhydroxytetronsäure

	Wasser			Dioxan-Wasser		
	$\lambda_{\text{max}}$	$\epsilon_{\text{max}}$	$\epsilon_{255}$	$\lambda_{\text{max}}$	$\epsilon_{\text{max}}$	$\epsilon_{255}$
Ascorbinsäure . . . . .	244	9910	6850	246	10020	7250
Ascorbat . . . . .	265	15500	12100	266	14500	10250
4-Phenyl-hydroxytetronsäure . . . . .	245	9220	7250	247	10000	8540
4-Phenyl-hydroxytetronat . . . . .	266	13771	10210	268	13050	9250
NaNO <sub>2</sub> . . . . .						130
HNO <sub>2</sub> . . . . .						105

In der Kühlzelle blieb die Extinktion von Ascorbinsäure und Ascorbat bei pH 1–7 in Wasser stundenlang unverändert; in Dioxan-Wasser zwischen pH\* 1 und 5,5, d. h. im pH-Bereich unserer kinetischen Untersuchungen, sank die Extinktion um 1%/Std., d. h. sie blieb innerhalb der Fehlergrenze unserer kinetischen Messungen konstant.

*pH-Messungen* (0°; Ausschluss von Halogenid-Ionen): Das Messgefäß (ca. 50 ml) war mit gut wirkender Aussenkühlung (Zirkulation von Eiswasser durch einen Kühlmantel; isolierte Zuleitung) und Magnetrührer versehen; es wurde vorgekühlter, durch Vanadin(II)-Lösung gereinigter Stickstoff übergeleitet.

Messanordnung: Glaselektrode (EA 109 T; METROHM)/Messlösung bei  $0^\circ \pm 0,1^\circ$ /Brücke mit Glasfritten mit bei 0° ges. KNO<sub>3</sub>-Lösung/Verbindungsgefäß mit ges. KCl-Lösung/Kalomel-elektrode (EA 404; METROHM)/Potentiometer (E 187; METROHM). Kalomelelektrode und Verbindungsgefäß hatten Zimmertemperatur; ausser der Messlösung waren nur der darin eintauchende Teil der Nitratbrücke und der Glaselektrode gekühlt. War die Apparatur ca. 10 Min. vorgekühlt, so stellten sich die Potentialwerte von vorgekühlten Messlösungen sofort ein und blieben über viele Stunden konstant<sup>17)</sup>. Eich- und Kontrollpuffer (gef. Werte in Übereinstimmung mit der Literatur):

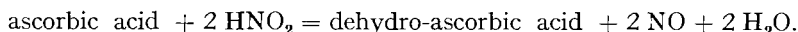
0,01 M Kaliumtrihydrogenoxalat: pH 2,14 (0°)<sup>18)</sup>

0,05 M Kaliumhydrogenphthalat: pH 4,01 (0°)<sup>18)</sup>

ges. Kaliumhydrogentartrat: pH 3,67 (0°)<sup>19)</sup>

#### SUMMARY

Oxidation of ascorbic acid by nitrous acid at pH 0 to 5 follows the stoichiometric equation:



This was shown by potentiometric titration of the ascorbic acid and by gas analysis.

The reaction can be followed by the u. v. spectrophotometric determination of ascorbic acid concentration. A thermostated cell for spectrophotometry at ca. 0° is described.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

<sup>17)</sup> Falls Halogenid-Ionen nicht ausgeschlossen werden müssen, kann man ebensogut die Vergleichselektrode direkt in die gekühlte Messlösung tauchen; Anordnungen mit kombinierten Elektroden (Glas- und Kalomel-Elektrode zusammengebaut, EA 125 X und 121 T) erwiesen sich dagegen für Arbeiten bei 0° als völlig ungeeignet.

<sup>18)</sup> K. SCHWABE, Fortschritte der pH-Messtechnik, Berlin 1953, S. 28.

<sup>19)</sup> Bei 20°: 3,57; NATIONAL BUREAU OF STANDARDS, Letter circular 933 (1950).