

KURZE MITTEILUNGEN

Bis am 20. des Monats bei der Redaktion eingehende Kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht
Es werden auch Manuskripte aus dem Auslande angenommen

Hydrolyse de la phosphorylcholine en milieu acide

Dédié au Professeur Emile Cherbuliez à l'occasion de son 75^e anniversaire

Summary

Like the hydrolysis of phosphorylethanolamine and serine-phosphate, the hydrolysis of phosphorylcholine does not seem to be acid-catalyzed and proceeds mainly through the neutral species. These facts can be explained by the presence of the positive charge of choline. The hydrolyses in sulfuric acid media show formation of sulfurylcholine above 6-M H_2SO_4 , the latter reaction being more important with increasing acidity.

L'étude de l'hydrolyse non enzymatique de la phosphorylcholine $^+N(CH_3)_3CH_2CH_2OPO_3H_2$ montre que cet ester se conduit comme la plupart des monoesters ortho-phosphoriques d'alcools². La vitesse d'hydrolyse à 100°C est du premier ordre par rapport à l'ester, notable en milieu HCl 2-N ($k = 0,59 \cdot 10^{-5} s^{-1}$), elle passe par un minimum vers pH 0,5 ($k = 0,45 \cdot 10^{-5} s^{-1}$), atteint un maximum vers pH 4,0 ($k = 1,76 \cdot 10^{-5} s^{-1}$) puis diminue pour s'annuler en milieu alcalin à partir de pH 8,0 environ. Le pH optimum de la réaction correspond au pH de neutralisation de la première acidité phosphorique (pH = 3,6), c'est-à-dire pour un milieu dans lequel la forme $PC_1 : ^+N(CH_3)_3CH_2CH_2OPO_3H^-$ est seule présente.

La détermination des constantes de dissociation apparentes d'après les courbes de titrage ($pk'_1 = 1,47$, $pk'_2 = 5,85$) permet de calculer à chaque pH les concentrations relatives des différentes formes ioniques. Nous voyons ainsi qu'entre pH 2,0 et 8,0 la constante de vitesse expérimentale est proportionnelle à la concentration de la forme monoionisée. Les constantes expérimentales observées dans cet intervalle répondent à l'équation:

$$k = 1,76 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{PC_1}{PC} \quad (s^{-1}) \quad (1)$$

dans laquelle PC_1/PC représente la fraction de PC existant sous forme de monoanion.

En dessous de pH 2,0 les variations de la constante de vitesse expérimentale ne suivent pas la relation (1): au lieu d'une diminution régulière de la vitesse on observe un minimum non nul vers pH 0,5. C'est donc qu'à ces pH la forme cinétique n'est plus uniquement le monoanion, dont la concentration diminue rapidement, mais l'une des autres formes pouvant exister en solution: la forme neutre et l'acide conjugué.

Il nous a paru intéressant d'étudier de plus près le comportement de la PC dans quelques acides minéraux en solution concentrée.

Partie expérimentale

Nous avons disposé du sel de magnésium de la PC, $(PC)_2Mg$, 14 H_2O (P.M. = 640)

Calc.	P %	9,65	N %	4,37	Mg %	3,80
Anal.		9,60		4,37		3,93

Afin d'opérer à partir d'un substrat homogène, la plupart de nos hydrolyses ont été réalisées sur des solutions d'acide choline-phosphorique obtenues par échange d'ions en faisant passer une solution de $(PC)_2Mg$ sur une colonne de résine Dowex-50 sous forme H^+ . Seules quelques hydrolyses en milieu acide concentré ont été effectuées sur le sel de magnésium et n'ont montré aucune influence de l'ion Mg^{++} sur la vitesse de réaction, à l'inverse de ce qui se produit entre pH 4 et 8².

Les expériences ont été réalisées sur des solutions 0,1-M d'ester en ampoules scellées plongées dans un bain thermostaté à $100 \pm 0,1^\circ C$ puis rapidement refroidies sous un courant d'eau.

Dosage de la choline. Les cinétiques ont été suivies par dosage de la choline libérée au cours de la réaction suivant la technique de COTTE et KAHANE³: la choline est oxydée quantitativement par attaque manganique alcaline en triméthylamine (TMA) que l'on dose par acidimétrie (H_2SO_4 N/50) après entraînement à la vapeur. Cette technique permet de suivre la cinétique d'hydrolyse puisque la PC n'est pas attaquée dans ces conditions.

Dosage de H_3PO_4 . Certaines hydrolyses en milieu $HClO_4$ ont été suivies par le dosage de phosphore selon la méthode d'ALLEN¹.

Détermination des constantes de vitesse. Les constantes de vitesse ont été déterminées graphiquement en représentant les variations des fonctions $\log(a - x) = f(t)$ dans lesquelles a représentait le nombre de ml de H_2SO_4 N/50 utilisés pour une hydrolyse totale (N Kjeldahl) et x le nombre de ml de H_2SO_4 N/50 utilisés pour neutraliser la TMA formée par oxydation d'une solution de même volume hydrolysée pendant le temps t . Dans tous les cas les courbes obtenues étaient des droites, ce qui indique que la réaction est du premier ordre par rapport à l'ester.

Résultats expérimentaux

Hydrolyse comparée dans HCl, $HClO_4$ et H_2SO_4 . Les cinétiques ont été étudiées respectivement jusqu'à 9-M (HCl), 8-M ($HClO_4$) et 7-M (H_2SO_4). Dans le cas des acides chlorhydrique et perchlorique les expériences n'ont pas pu être conduites au-delà de 9-M et 8-M respectivement par suite des concentrations limitées des produits commerciaux. L'étude du comportement dans H_2SO_4 a pu être réalisée pour des concentrations d'acide plus fortes et font l'objet d'un paragraphe spécial.

Les résultats de ces déterminations sont récapitulés dans la figure 1. On remarque que la vitesse commence par augmenter avec l'acidité, puis à partir d'une certaine

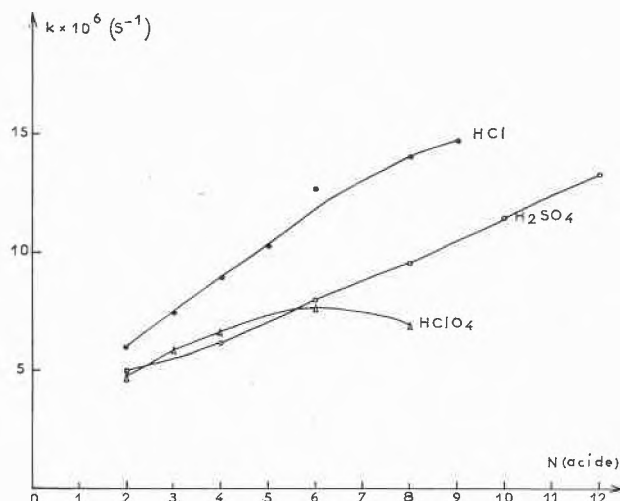


Fig. 1. Hydrolyses comparées de la phosphorylcholine dans HCl, HClO₄ et H₂SO₄

concentration, variable selon l'acide (9-M pour HCl, 6-M pour HClO₄ et 7-M pour H₂SO₄) les courbes s'infléchissent vers le bas semblant indiquer une décroissance de la vitesse de réaction. Pour les faibles concentrations ($C_{H^+} < 6\text{-N}$) les vitesses dans H₂SO₄ et HClO₄ sont sensiblement égales, puis différent quand l'acidité augmente ($k_{H_2SO_4} > k_{HClO_4}$). Par contre en présence de HCl la vitesse est toujours supérieure à celles que l'on observe en présence des deux autres acides. C'est là un effet connu de HCl sur l'hydrolyse acide des esters, dû au pouvoir nucléophile des ions Cl⁻.

Si l'on compare le comportement de la PC dans HClO₄ à celui du méthylphosphate (MP) tel que le décrivent BUNTON et coll.⁴, on constate une nette différence entre ces deux esters. Alors que pour la PC on observe un ralentissement de la vitesse avec les acidités croissantes, pour le MP elle croît régulièrement avec l'acidité, ce qui est le comportement normal d'une réaction acido-catalysée. La constante de vitesse est plus faible dans le cas de la PC ($7,66 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$)* que dans celui du MP ($24,2 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$)⁴*, alors qu'à pH 4,0 c'est l'inverse qu'on observe ($17,6 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ contre $8,23 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$). Par contre, le comportement de la PC est analogue à celui du *p*-nitrophénylphosphate (PNPP) pour lequel VERNON¹³ et DESJOBERT⁸ ont montré une diminution de la vitesse d'hydrolyse avec les acidités croissantes. A l'exception que constitue le cas du PNPP s'ajoute par conséquent l'exception nouvelle de la PC.

Ce qui différencie la PC du MP du point de vue structural c'est la présence de la charge positive de la choline dans la molécule de PC. Il est raisonnable de penser que le phénomène observé est dû à l'effet inductif de cette charge positive sur le groupement phosphorique. Une rapide étude sur la phosphoryléthanolamine (PEA): $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}_2$ nous a montré que le comportement de cet ester est identique à celui de la PC, et que la

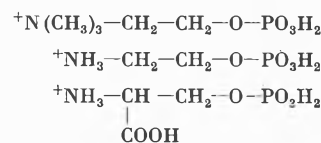
Tableau 1. Vitesses comparées d'hydrolyse de la PC et de la PEA ($k \times 10^6 \text{ s}^{-1}$)

M HClO ₄	2	4	6	8
PC	4,85	6,67	7,66	6,90
PEA	4,63	7,12	8,62	8,79

vitesse d'hydrolyse de la PEA est supérieure à celle de la PC (tableau 1).

Ces résultats vont dans le sens de l'hypothèse de SAMUEL et SILVER¹² émise pour le sérine-phosphate (SP), selon laquelle la catalyse acide est associée à la protonation de l'oxygène de la fonction ester. La présence de la charge positive voisine réduirait la basicité de cet atome d'oxygène par un effet inductif et empêcherait la formation de l'acide conjugué.

Dans la série PC, PEA, SP cet effet inductif est de plus en plus important de la PC au SP ainsi que le montrent les formules de ces trois substances:



Les constantes de vitesse dans HClO₄ 6-N sont telles que $k_{PC} < k_{PEA} < k_{SP}$ *. Ces vitesses se classent dans le même ordre que celles que l'on observe à pH 4,0, c'est-à-dire dans l'ordre des vitesses d'hydrolyse du monoanion de chacun de ces esters^{2, 7, 12}.

Ce comportement semble donc indiquer, dans l'hypothèse du mécanisme invoqué, que ces trois esters ne sont pas sujets à une catalyse acide, ce qui fournit une explication au ralentissement de vitesse aux fortes acidités. On peut expliquer les phénomènes observés avec le PNPP par l'effet du groupement *p*-nitro qui provoque de la même manière une diminution de la basicité de l'atome d'oxygène estérifié.

Hydrolyse en milieu perchlorique à force ionique constante. Les expériences précédentes ont été reprises pour l'acide perchlorique et réalisées à force ionique constante. La force ionique des solutions était ajustée par addition de la quantité complémentaire de NaClO₄. Les hydrolyses ont été réalisées pour des concentrations (HClO₄) + (NaClO₄) de 4,0, 6,0 et 8,0.

La figure 2 montre que les variations de la constante de vitesse en fonction de la concentration en acide sont linéaires pour chacune des forces ioniques étudiées. Si l'on admet que la concentration des protons est égale à la concentration molaire de HClO₄, les variations de la constante de vitesse peuvent s'écrire $k = k_N + k_H(C_{H^+})$, relation dans laquelle k_N représente la constante de vitesse de la forme neutre et k_H celle de l'acide conjugué.

* Valeurs observées dans HClO₄ 6-N à 100°C.

* $k_{SP} = 0,065 \text{ h}^{-1}$,¹²

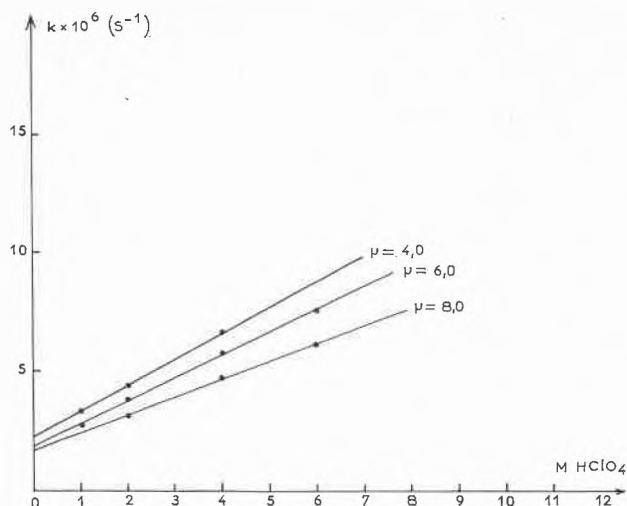


Fig. 2. Hydrolyse de la phosphorylcholine dans HClO_4 à force ionique constante

Ces constantes sont déterminées graphiquement par la pente et l'ordonnée à l'origine des courbes $k = f(C_{\text{H}^+})$. La figure 2 montre que k_N et k_H diminuent quand l'acidité augmente contrairement à ce qu'on observe pour le mono-⁴ et le diméthyl-phosphate⁵. Cet effet de la force ionique, qui indique habituellement une réaction bimoléculaire entre ions de signes opposés, est difficile à expliquer sauf si l'on envisage l'intervention des ions ClO_4^- dans la réaction.

Action de l'acide sulfurique. L'étude de la réaction en milieu sulfurique permet d'explorer un domaine d'acidité plus étendu, jusqu'à $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18\text{-M}$. La figure 3 montre que la vitesse de réaction passe effectivement par un maximum puis diminue régulièrement jusqu'à $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18\text{-M}$ sans toutefois s'annuler (fig. 3 A). Ce fait est curieux: aux fortes concentrations en acide il n'existe pratiquement pas d'eau à l'état libre³ et l'on ne devrait pas observer d'hydrolyse. En fait, nos dosages

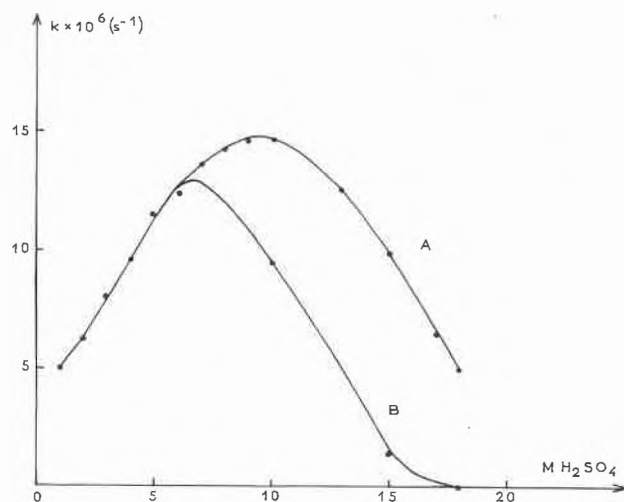


Fig. 3. Hydrolyse de la phosphorylcholine dans H_2SO_4 , A = déphosphorylation, B = hydrolyse

ne font qu'indiquer la déphosphorylation de la PC, dont une partie est passée sous forme oxydable. Il est connu, par ailleurs, que la choline est facilement estérifiée à chaud par H_2SO_4 en sulfurylcholine (SC). Or la SC est oxydée comme la choline par attaque manganique alcaline en TMA, sa formation éventuelle passerait de ce fait inaperçue.

La choline et la SC se distinguent du point de vue analytique par le fait que la choline donne un ennéaiodure insoluble en milieu neutre⁹ tandis que la SC reste en solution. La neutralisation par la soude des solutions sulfuriques hydrolysées gêne la précipitation de la choline par suite des fortes concentrations de sulfate de sodium formé. Par contre, en ajoutant du carbonate de calcium nous avons pu réaliser à la fois la neutralisation des solutions et l'élimination des ions SO_4^{2-} à l'état de sulfate de calcium. La choline libre peut être alors précipitée à l'état de periodure et dosée par une solution d'hyposulfite N/50.

Cette technique, bien que présentant une faible précision, nous a permis d'établir qu'il se forme effectivement de la SC en même temps que la choline (tableau 2). Ce résultat serait passé inaperçu si nous avions procédé comme on le fait d'ordinaire par le dosage de H_3PO_4 .

Tableau 2. Variations du taux de choline libre avec l'acidité (24 h à 100°C)

$\text{M H}_2\text{SO}_4$	6,5	10	15	18
choline libre	0,97	0,80	0,22	0
choline oxydable				

On voit que la concentration de la choline diminue avec l'acidité à l'avantage de celle de la SC. Dans H_2SO_4 18-M nous avons observé un taux de conversion de PC en SC d'environ 36 p. 100 après 24 h à 100°C . Bien que le phénomène de transfert d'alcoyle d'un ester au solvant acide soit connu pour les esters carboxyliques¹⁰, nous n'avons pas rencontré d'exemples où il ait été mis en évidence pour les monoesters orthophosphoriques. Ceci s'explique par le fait que les cinétiques d'hydrolyse sont habituellement suivies par dosage de H_3PO_4 libéré et non par celui de l'alcool.

Il apparaît donc que dans le domaine de concentrations en H_2SO_4 étudié, compris entre M et 18-M, la déphosphorylation de la PC se manifeste suivant trois processus:

H_2SO_4 1-M à 6-M scission hydrolytique,
 H_2SO_4 6-M à 18-M scission hydrolytique et trans-acidification,
 H_2SO_4 18-M transacidification seule.

Il en découle que les constantes de vitesse calculées d'après le taux de TMA libérée par oxydation manganique, pour $\text{H}_2\text{SO}_4 > 6\text{-M}$, représentent la somme des constantes d'hydrolyse et de transacidification, c'est-à-dire la vitesse globale de déphosphorylation. D'après les

taux de choline libre, il est possible de calculer approximativement les constantes de vitesse d'hydrolyse au-dessus de $\text{H}_2\text{SO}_4 = 6\text{-M}$ (fig. 3B), on obtient bien alors une vitesse d'hydrolyse nulle pour $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18\text{-M}$.

Il est évident que les valeurs des constantes de vitesse obtenues ne représentent pas les constantes d'hydrolyse vraies puisqu'il n'est pas tenu compte de l'activité de l'eau. Dans l'acide sulfurique celle-ci décroît rapidement quand la concentration de l'acide augmente³. La linéarité des courbes $\log(a - x) = f(t)$ ne fait qu'indiquer que la réaction est du premier ordre en ester, sans préciser sa molarité par rapport à l'eau. LANE¹⁰ a montré récemment que l'hydrolyse de l'acétate d'éthyle en milieu sulfurique, qui présente comme la PC un maximum aux environs de $\text{H}_2\text{SO}_4 = 20\text{-M}$, est d'ordre 2 par rapport à l'eau. A notre connaissance aucune étude de ce genre n'a été réalisée dans le cas de monoesters orthophosphoriques.

En résumé, comme l'hydrolyse de la phosphoryl-éthanamine et du sérine-phosphate, l'hydrolyse de la phosphorylcholine ne semble pas être catalysée par les acides et paraît procéder principalement par l'intermédiaire de la forme neutre. Ces faits peuvent s'expliquer par la présence de la charge positive voisine de la choline.

L'hydrolyse en milieu sulfurique s'accompagne par ailleurs d'une formation de sulfurylcholine à partir de $\text{H}_2\text{SO}_4 = 6\text{-M}$, cette réaction devient de plus en plus importante quand l'acidité augmente.

Ce travail a fait l'objet du Doctorat de Spécialité de Mademoiselle ANDRÉE PORTAL (Montpellier 1965).

Bibliographie

- ¹ R. ALLEN, *Biochem. J.* 34 (1940) 858.
- ² J. ATTIAS, Thèse doct. Sc. phys., Montpellier 1963.
- ³ E. BROCK ROBERTSON et H. B. DUNFORD, *J. Amer. Chem. Soc.* 86 (1964) 5080.
- ⁴ C. A. BUNTON, D. R. LLEWELLYN, K. G. OLDHAM et C. A. VERNON, *J. Chem. Soc.* 1958, 3574.
- ⁵ C. A. BUNTON, M. M. MHALA, K. G. OLDHAM et C. A. VERNON, *J. Chem. Soc.* 1960, 3293.
- ⁶ J. COTTE et E. KAHANE, *Bull. Soc. Chim.* 1950, 639.
- ⁷ A. DESJOBERT, Thèse doct. Sc. phys., Paris 1950.
- ⁸ A. DESJOBERT, *Bull. Soc. Chim.* 1963, 683.
- ⁹ G. DUCET et E. KAHANE, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 28 (1946) 794.
- ¹⁰ C. A. LANE, *J. Amer. Chem. Soc.* 86 (1964) 2521.
- ¹¹ B. LOEW, *Chem. & Ind.* 1964, 193.
- ¹² D. SAMUEL et B. L. SILVER, *J. Chem. Soc.* 1963, 289.
- ¹³ C. A. VERNON, *Special Publication n° 8*, The Chemical Society, London 1957, p. 17.

JOSEPH ATTIAS

Laboratoire de Chimie Biologique
de la Faculté des Sciences de Montpellier

Recherches sur la formation et la transformation des esters LXIII¹

Note sur la préparation et la scission des monoesters ω -diméthylamino(triméthylammonium)-propyl(butyl)-sulfuriques*

Dédié au Professeur Emile Cherbuliez à l'occasion de son 75^e anniversaire

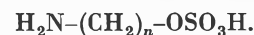
Summary

The rate of scission of aminoalkyl sulfuric monoesters is considerably increased in alkaline medium when the primary amino group is alkylated. In the case of primary, secondary and tertiary amino groups, this rate depends relatively little on the concentration of the hydroxyle ion. On the contrary, in the case of a quaternary ammonium group, the rate of scission is much more dependant on the concentration of OH^- , because the N atom has no more an unshared pair necessary for nucleophilic attack on the C bearing the sulfuric monoester group; this involves a different mechanism of scission.

Dans de précédents mémoires nous avons décrit la préparation d'un grand nombre de monoesters sulfuriques d'aminoalcools, par simple chauffage sous vide des hydrogénosulfates correspondants^{2,3}. Nous avons

également montré que, contrairement à l'acide éthyl-sulfurique stable en milieu alcalin (temps de demi-scission $t_{1/2}$ à 100°C, en milieu NaOH 1-N, environ 100 h), de nombreux monoesters sulfuriques d'amino-alcools étaient très labiles dans ce milieu³. Les deux facteurs principaux responsables de cette labilité en milieu alcalin sont les suivants:

a) Le nombre n d'atomes de C qui séparent le groupe amino de la fonction monoester sulfurique



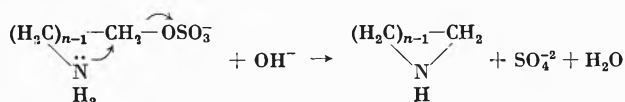
En effet, lorsque par une alcoylation intramoléculaire (attaque nucléophile du doublet libre de l'azote sur le C porteur de la liaison ester sulfurique) on obtient des composés cycliques pentagonaux, hexagonaux ou trigonaux (soit la pyrrolidine, la pipéridine et l'éthylèneimine), c'est-à-dire pour $n = 4$, 5 et 2 respectivement, la scission est très rapide; par contre, pour $n = 3$ et $n = 6$, la scission est aussi lente que dans le cas de l'acide éthyl-sulfurique.

* Reçu le 18 novembre 1965.

¹ LXII^e Communication: *Helv. Chim. Acta* 49 (1966) Fasc. Extr. E. Cherbuliez, sous presse.

² E. CHERBULIEZ, C. CHAPALAY, SL. ČOLAK-ANTIĆ, J. MARZALEK, L. VALLET et J. RABINOWITZ, *Helv. Chim. Acta* 47 (1964) 2106.

³ E. CHERBULIEZ, SL. ČOLAK-ANTIĆ, G. WYSS et J. RABINOWITZ, *Helv. Chim. Acta* 48 (1965) 830; E. CHERBULIEZ, SL. ČOLAK-ANTIĆ et J. RABINOWITZ, *Arch. Sci. (Genève)* 18 (1965) 282.



La courbe des constantes apparentes de vitesse de scission de la fonction monoester sulfurique en fonction du nombre n d'atomes de C séparant le groupe amino de la fonction monoester sulfurique, a la même allure que celle classique (décalée d'une unité en abscisse) qui donne les constantes apparentes de vitesse de cyclisation de dérivés bifonctionnels (par exemple: NH_2 et Hal , OH et COOH , etc.) en fonction du nombre d'atomes composant le cycle formé.

b) Le degré d'alcoylation de la fonction amino. Lorsqu'on passe de l'acide amino-2-éthyl-1-sulfurique aux dérivés de plus en plus méthylés sur l'azote, on constate que la vitesse de scission augmente avec le nombre de groupe CH_3 introduits. A ceci s'ajoute la particularité suivante: la vitesse de libération de l'ion sulfate est relativement peu dépendante de la concentration des ions OH^- pour les dérivés à fonction amino primaire, secondaire ou tertiaire, tandis que pour le dérivé à fonction ammonium quaternaire (acide cholinesulfurique), la vitesse d'hydrolyse augmente fortement avec $[\text{OH}^-]$. Cette différence s'explique aisément: l'azote d'une fonction ammonium quaternaire ne porte pas de doublet libre pouvant effectuer une attaque nucléophile du C porteur de la liaison monoester sulfurique; le mécanisme de cette scission doit donc être différent de celui de la scission des monoesters à fonction amino primaire, secondaire ou tertiaire.

Comme cette étude n'avait porté que sur les dérivés de l'acide amino-2-éthyl-1-sulfurique (ac. colaminesulfurique), nous nous sommes proposé de l'étendre aux dérivés N-alcoylés d'autres monoesters sulfuriques (avec $n = 3$ et 4). A cet effet, nous avons préparé les monoesters diméthylamino-3- et triméthylammonium-3-propyl-1-sulfuriques (dérivant de l'acide amino-3-propyl-1-sulfurique, très stable en milieu alcalin) et le monoester diméthylamino-4-butyl-1-sulfurique (dérivant de l'acide amino-4-butyl-1-sulfurique, très labile en milieu alcalin).

1. Préparation des monoesters aminoalcoyl-sulfuriques

1.1. Acide diméthylamino-3-propyl-1-sulfurique $(\text{CH}_3)_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{OSO}_3\text{H}$.

On neutralise lentement et soigneusement, tout en refroidissant, 20,6 g (0,2 mole) de diméthylamino-3-propanol-1 par 20,4 g (0,2 mole) d'acide sulfurique à 96%. On porte ensuite graduellement la température à 185°C , fait simultanément le vide (trompe à eau) et maintient 1,5 h à cette température et sous ce vide. Après refroidissement, on dissout la masse dans du méthanol bouillant et chauffe le tout quelques minutes avec du noir animal. On filtre à chaud et laisse cristalliser l'acide diméthylamino-3-propyl-1-sulfurique à froid. Par recristallisation dans le méthanol, on obtient 16,2 g (44%) de produit pur, F. $169\text{--}171^\circ\text{C}$.

$\text{C}_5\text{H}_{13}\text{O}_4\text{NS}$ (183) Calc. N 7,6 S 17,5% Tr. N 7,5 S 17,8%

1.2. Acide triméthylammonium-3-propyl-1-sulfurique. $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{---CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{---OSO}_3^-$. Nous avons préparé d'abord l'iodure de triméthylammonium-3-propanol-1, que nous avons transformé en hydrogénosulfate de triméthylammonium-3-propanol-1, qui chauffé sous vide donne le monoester sulfurique voulu.

Dans un ballon contenant 25,7 g (0,25 mole) de diméthylamino-3-propanol-1 en solution dans 200 ml de méthanol, on ajoute petit à petit et en refroidissant, 40 g (0,28 mole) d'iodure de méthyle. L'addition terminée, on chauffe 10 à 15 min à reflux (il se forme un précipité abondant). On ajoute ensuite 200 à 300 ml d'éther anhydre afin de précipiter l'iodure de la base quaternaire encore dissout, filtre, lave le précipité avec de l'éther anhydre et le sèche sous vide sur P_2O_5 . On obtient 51 g (85%) d'iodure de triméthylammonium-3-propanol-1, F. $200\text{--}203^\circ\text{C}$ (litt.⁴ 195°).

On dissout 50 g (0,205 mole) d'iodure de triméthylammonium-3-propanol-1 dans 200 ml d'eau environ, ajoute un excès d'oxyde d'argent fraîchement préparé et agite le tout 1 à 2 h. On filtre (excès d'oxyde d'argent + iodure d'argent), si le filtrat contient encore de l'ion iodure on répète l'opération avec l'oxyde d'argent frais et filtre à nouveau. On tire une prise du filtrat au méthylorange et neutralise l'hydroxyde de triméthylammonium-3-propanol-1 en solution par une quantité équimoléculaire d'acide sulfurique. La solution d'hydrogénosulfate de triméthylammonium-3-propanol-1 est évaporée à sec sous vide dans un ballon, que l'on plonge ensuite dans un bain d'huile dont on élève graduellement la température à 150°C . On fait en même temps le vide (trompe à eau) dans le ballon et après une ébullition violente, le produit devient de plus en plus visqueux pour se transformer finalement en masse solide. On chauffe encore 0,5 à 1 h, à cette température et sous le vide de la trompe à eau. Après refroidissement, on dissout la masse dans le minimum d'eau bouillante, ajoute 1 à 2 vol d'alcool et laisse cristalliser l'ester par refroidissement. Après 2 cristallisations (mélange eau + alcool), on obtient 26 g (65%) de monoester triméthylammonium-3-propyl-1-sulfurique pur, F. $268\text{--}270^\circ\text{C}$.

$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{NS}$ Calc. C 36,5 H 7,60 N 7,1 S 16,2%
(197) Tr. C 36,4 H 7,72 N 7,2 S 16,4%

1.3. Acide diméthylamino-4-butyl-1-sulfurique $(\text{CH}_3)_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{OSO}_3\text{H}$. Nous avons préparé le diméthylamino-4-butanol-1 par méthylation du amino-4-butanol-1 à l'aide de formol et d'acide formique selon KALUSZINER et GALUN⁵, avec un rendement de 40 à 50%, ébullition $77\text{--}78^\circ\text{C}/10$ Torr.

On neutralise lentement, tout en refroidissant, 3,51 g (0,03 mole) de diméthylamino-4-butanol-1 par 3,06 g (0,03 mole) d'acide sulfurique à 96%. L'addition d'acide sulfurique terminée, on plonge le ballon dans un bain d'huile dont on élève graduellement la température à 170°C (en 1 h). On y fait simultanément le vide (trompe à eau) et maintient 2 h à cette température et sous ce vide. Après refroidissement, on dissout la masse visqueuse dans le minimum de méthanol bouillant, ajoute du noir animal et filtre après 5 à 10 minutes d'ébullition. L'acide diméthylamino-4-butyl-1-sulfurique cristallise par refroidissement de la solution méthanolique. On le recristallise dans le méthanol et obtient 2,2 g (37%) de produit pur, F. 139° .

$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{NS}$ (197) Calc. N 7,1 S 16,2% Tr. N 7,0 S 15,7%

⁴ J. V. BRAUN, *Chem. Ber.* 49 (1916) 966.

⁵ A. KALUSZINER et A. B. GALUN, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 3536.

Tableau 1. Constantes apparentes de vitesse de scission k (en h^{-1}) et temps de demi-scission $t_{1/2}$ (en h) de quelques monoesters amino (ammonium)-alcoyl-sulfuriques en solution 0,1-M en ester

Monoester sulfurique	Température °C	Milieu									
		HCl 1-N		pH ~ 4,5		NaOH 0,1-N		NaOH 1-N		NaOH 2-N	
		$t_{1/2}$	k	$t_{1/2}$	k	$t_{1/2}$	k	$t_{1/2}$	k	$t_{1/2}$	k
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OSO}_3\text{H}$	100	1,2	0,58	> 200	< 0,003	105	0,006	95	0,007	67	0,01
$(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OSO}_3\text{H}$	100	1,0	0,69	> 200	< 0,003	2,25	0,31	1,6	0,43	1,25	0,55
$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OSO}_3^-$	100	1,0	0,69	> 200	< 0,003	47,5	0,015	6,5	0,11	2,5	0,28
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OSO}_3\text{H}$	100	1,5	0,46	> 200	< 0,003			< 0,1	> 7,0		
	40							0,95	0,73		
$(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OSO}_3\text{H}^1$	100	2,1	0,32	~ 100	~ 0,007						
	20					0,22	3,1	0,17	4,1	0,10	7,0

¹ En milieu NaOH 0,5-N, à 20°, $t_{1/2} = 0,20$ et $k = 3,5$

2. Scission des monoesters aminoalcoyl-sulfuriques

Nous avons étudié la vitesse de scission des monoesters diméthylamino-3-propyl-1-, triméthylammonium-3-propyl-1- et diméthylamino-4-butyl-1-sulfuriques en solution 0,1-M en ester, à 100°C et à 20°C, et à divers pH. Nous avons suivi la vitesse de scission de la fonction monoester sulfurique, en prélevant de temps en temps une prise de 2 ml, que nous avons acidulée avec HCl et à laquelle nous avons ajouté 2,0 ml d'une solution de BaCl_2 0,1-M pour précipiter H_2SO_4 libéré (2,0 ml de BaCl_2 0,1-M correspondent à une scission complète de la fonction monoester sulfurique) et titré l'excès d'ions baryum au complexon III.

La vitesse de scission de l'acide diméthylamino-4-butyl-1-sulfurique en milieu alcalin est trop grande pour pouvoir être mesurée à 100°C; nous avons donc étudié la vitesse de scission de cet acide en milieu alcalin à 20°C.

Dans nos conditions de travail, la scission de la liaison monoester sulfurique se fait selon une cinétique du premier ordre approximativement. Dans le tableau, nous donnons les temps de demi-scission ($t_{1/2}$) et les constantes apparentes de vitesse de scission (k) de ces 3 monoesters sulfuriques à 100° et à 20°C, et à divers pH. A titre de comparaison, nous avons indiqué également les $t_{1/2}$ et k des acides amino-3-propyl-1- et amino-4-butyl-1-sulfuriques à 100° et à 40°C, à divers pH.

Dans la figure, nous avons tracé la courbe des log. des constantes apparentes de vitesse de scission à 100°C des acides amino-3-, diméthylamino-3- et triméthylammonium-3-propyl-1-sulfuriques en fonction du pH.

Il ressort de cette étude, que par méthylation de la fonction amino d'un acide aminoalcoyl-sulfurique, la vitesse de scission de la fonction monoester sulfurique en milieu alcalin est fortement augmentée (plusieurs dizaines de fois). Dans le cas d'une fonction amino tertiaire (secondaire et primaire aussi comme nous l'avons

montré précédemment³), la vitesse de scission de la fonction monoester sulfurique est peu dépendante de la concentration en ions OH^- , alors qu'elle dépend fortement de cette concentration dans le cas d'un groupement ammonium quaternaire. Ceci confirme et généralise les résultats acquis dans le cas des dérivés N-alcoylés de l'acide amino-2-éthyl-1-sulfurique.

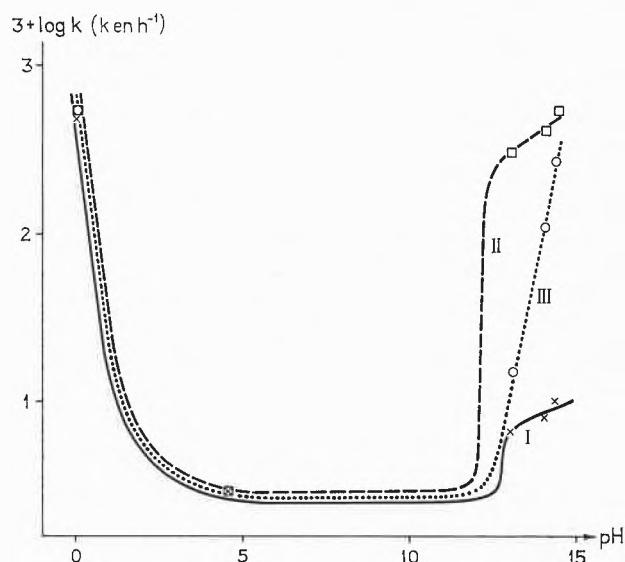


Fig. 1. Log. des constantes apparentes de vitesse de scission des acides amino-3-propyl-1-sulfurique (I), diméthylamino-3-propyl-1-sulfurique (II) et triméthylammonium-3-propyl-1-sulfurique (III) en fonction du pH, à 100°C, en solution 0,1-M en ester

Les auteurs remercient sincèrement le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique de l'aide accordée pour ce travail.

J. RABINOWITZ, S. JACCARD, C. MOGHISSI et M. VERDAN

Laboratoires de Chimie Organique et Pharmaceutique
de l'Université de Genève

Die Identifizierung von auf Dünnschichtchromatogrammen getrennten Aminosäuren mittels einer Kombination von Farbe, Reflektionsspektren und R_f -Werten

Summary

Amino acids resolved on chromatoplates were identified by means of reflectance spectroscopy used in conjunction with R_f values and visual observation. The procedure enables one- and two-dimensional chromatograms to be read rapidly and accurately without requiring the conditions necessary for the attainment of reproducible R_f values.

Die Dünnschichtchromatographie bietet verschiedene auffallende Vorteile. Die Apparatur ist relativ billig, und die Zubereitung und Anwendung der Platten ist einfach und zeitsparend. Die Methode kann ihrer Sensitivität wegen auch für sehr kleine Proben angewandt werden. Oft wird auch eine schärfere Trennung erzielt als mit Papierchromatographie, und besonders erwähnenswert sind die kurzen Trennungszeiten. BRENNER und NIEDERWIESER¹ benötigten für die Trennung von Aminosäuregemischen in einer Dimension eine bis zwei Stunden, für zweidimensionale Trennung vier bis fünf Stunden, im Gegensatz zu 24 Stunden und mehr für Papierchromatographie.

Einer der Nachteile jedoch, der mehr noch als bei Papierchromatographie die Anwendungsmöglichkeiten der Dünnschichtchromatographie einschränkt, besteht in der Schwierigkeit, R_f -Werte genau zu reproduzieren. Dadurch ist es oft unumgänglich, Standardproben gleichzeitig mit den unbekannten Gemischen zu verwenden, um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben. Im Falle von Aminosäuren würde diese zeitraubende Operation überflüssig, falls man eine Kombinationsmethode der visuellen und reflektionsspektrophotometrischen Auswertung im Zusammenhang mit R_f -Werten entwickeln könnte.

MOFFAT und LITTLE² empfehlen ein modifiziertes Ninhydrin-Reagens für die qualitative Analyse von auf Papierchromatogrammen getrennten Aminosäuren. Die damit erhaltenen Farbflecken zeigen eine differenzierte Färbung für die meisten Aminosäuren. BRENNER und NIEDERWIESER¹ haben dieses Reagens mit Erfolg auch für Dünnschichtchromatogramme verwendet. Die Anwendung einer solchen Reagenslösung im Zusammenhang mit der von den Autoren entwickelten reflektionsspektroskopischen Methode für die Analyse von Lebensmittelfarben³ sollte deshalb für den Fall von auf Dünnschichtchromatogrammen getrennten Aminosäuren möglich sein. Voraussetzung ist natürlich, daß für die verschiedenen Säuren charakteristische und reproduzierbare Spektren erhalten werden können.

Experimentelles

Zwei Gruppen von Aminosäuren, aufgeteilt nach ihrer Löslichkeit, wurden in dieser Arbeit untersucht.

50 mg Aminosäure wurde in je 5 ml verdünnter Salzsäure aufgelöst. Für Gruppe I wurde eine 0,28-N und für Gruppe II eine 0,32-N salzsaure Lösung verwendet.

Alle achtzehn Aminosäuren waren «Calbiochem A»-Qualität (bezogen von Calbiochem, Los Angeles, California).

Gruppe I: Asparginsäure, Glycin, Isoleucin, Leucin, Lysin · HCl, Phenylalanin, Prolin, Threonin, Tryptophan, Valin.

Gruppe II: Alanin, Arginin · HCl, Cystin, Glutaminsäure, Histidin · HCl, Methionin, Serin, Tyrosin.

Die Lösungen wurden bis zur Verwendung im Kühlschrank bei etwa 10°C aufbewahrt. Ein Plattenstreichgerät «Desaga Model S 11» wurde für die Zubereitung der 5×20-cm-Platten verwendet, wobei eine Mischung Merck Kieselgel G : Wasser im Verhältnis 4 zu 10 in 0,25 mm Schichtdicke aufgetragen wurde. Die Trocknungszeit betrug zwei Stunden bei 120°C; bis zur Verwendung wurden die Platten in einem Exsikkator über CaCl₂ aufbewahrt.

Eine Blaubrand-Mikropipette diente zur Auftragung von 5 µg Aminosäurelösung pro Flecken ungefähr 1,5 cm vom unteren Plattenrand entfernt, gefolgt von einem Trocknungsprozeß bei 60°C für 30 Minuten.

Das verwendete Lösungsmittelsystem wurde von BRENNER und NIEDERWIESER¹ mit dazugehörigen R_f -Werten angegeben. Es handelt sich um ein Gemisch von *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (60 : 20 : 20). Die Trennung der Aminosäuregemische in einer Dimension konnte in 45 bis 60 Minuten erzielt werden, mit anschließendem Trocknen wiederum bei 60°C für 30 Minuten. Diese Trocknungsbedingungen wurden so gewählt, um eine teilweise Zerstörung der Aminosäuren zu vermeiden^{4,5}.

Die Entwicklung der Chromatogramme wurde mittels eines von MOFFAT und LITTLE² angegebenen Reagens durchgeführt.

Reagens Lösung I: 50 ml 0,2% Ninhydrin-Lösung in EtOH abs., 10 ml AcOH, 2 ml 2,4,6-Kollidin.

Reagens Lösung II: 1% Cu(NO₃) · 3 H₂O-Lösung in EtOH abs.

Die Lösungen I und II werden kurz vor Gebrauch im Verhältnis 50 zu 3 gemischt. Die Ninhydrinkonzentration wurde später auf 0,4% erhöht, da eine größere Sensitivität bei der Farbentwicklung erwünscht war. Zur Erzielung einer gleichmäßigen Sprühwirkung wurde das Sprühgerät mit Druckluft betätigt und die Platten sorgfältig in horizontaler Lage besprüht, bis sie dem Auge durchscheinend erschienen. Ein Überfluß an Reagens sollte jedoch vermieden werden, um ein Herauslösen der Aminosäuren zu umgehen. Nach 1,5 bis 2 Minuten Erhitzen bei 100 bis 105°C konnten die ungefähren R_f -Werte ermittelt und die verschiedenen Färbungen und Farbformationscharakteristiken der Säuren festgestellt werden.

Für die Aufnahme der Reflektionsspektren wurden die Flecken von den Platten abgekratzt und in einen von den Autoren entwickelten Halter gepackt^{3,6}. Eine Kieselgelschicht von etwa 1,8 cm Durchmesser und 0,4 mm Dicke diente als

¹ M. BRENNER und A. NIEDERWIESER, *Experientia* 16 (1960) 378.

² E. D. MOFFAT und R. I. LITTLE, *Anal. Chem.* 31 (1959) 926.

³ M. M. FRODYMA, R. W. FREI und D. J. WILLIAMS, *J. Chromatogr.* 15 (1964) 501.

⁴ L. FOWDER und I. R. PENNEY, *Nature* 165 (1950) 846.

⁵ L. NOVELLIE, *Nature* 166 (1950) 1000.

⁶ R. W. FREI und M. M. FRODYMA, *Anal. Chim. Acta*, in press.

Tabelle 1. Farbe, Absorptionsmaxima und R_f -Werte für die Aminosäuren von Gruppe I

Aminosäuren	Konzentration (μg /Flecken)	Farbe	Absorptionsmaxima ($m\mu$)	Erfassungsgrenzen (μg /Flecken)		
				DK 2	Auge	R_f -Werte
Asparginsäure	5	Hellblau mit gelbem Ring, wechselt nach 5 Minuten auf Blauviolett				0,21
	4	Wie für 5			0,2	
Glycin	3	Blaßviolett				
	5	Intensiv orange mit violetterm Zentrum	484			0,22
	4	Orange	475			
	3	Orange	475			
Isoleucin	2	Orange	475	1	0,1	
	5	Dunkelviolett	539/478/413			0,46
	3	Violett	534/477/413			
Leucin	2	Violett, rosa nach 24 Stunden	532/478	1	0,3	
	5	Dunkelviolett	542/480			0,47
	3	Violett, rosa nach 7 Tagen	542/480			
	2	Violett-rosa	540/474			
Lysin HCl	1	Rosa		2	0,3	
	5	Intensiv gelb-braun, gelb nach 7 Tagen	536/480/397			0,05
	3	Wie für 5		3	1	
Phenylalanin	1	Hellbraun				
	5	Braun mit gelbem Ring, gelb-rosa nach 24 Stunden				0,49
Prolin	2	Braungelb			2	
	5	Intensiv braungelb, braun nach 7 Tagen			1	0,19
Threonin	5	Violett mit gelbem Ring, rosa nach 5 Tagen	537/478/417			0,25
	3	Wie für 5	529/475/412	3	1	
Tryptophan	5	Braun mit hellblauem Ring, blau verblaßt nach 5 Minuten	422			0,56
	3	Wie für 5				
	2	Blaßblau, braun nach 5 Minuten				
	1	Braun			1	
Valin	5	Dunkelviolett	537/480/409			0,35
	3	Blau-violett, rosa-violett nach 7 Tagen		3	0,2	

Unterlage für den abgeschabten Ninhydrinflecken, um eine Reflektion vom Haltermaterial zu verhindern. Bei kleinen eindimensionellen Chromatogrammen konnten die Flecken auch direkt von der Platte gemessen werden, vorausgesetzt, daß ein geeigneter, gut reflektierender Hintergrund auf der Rückseite der Platte befestigt wurde³. Als Reflektionsstandard wurde reines Kieselgel G von der gleichen Platte verwendet und in den schon erwähnten Halter gepackt. Ein automatisches Spektralphotometer Beckman Model DK 2, mit einer Ulbricht-Kugel zur Messung von diffuser Reflektion ausgestattet, wurde für die Aufnahme von Spektren zugezogen.

Die Sensitivität der Farbreaktion wurde sowohl fürs Auge als auch für die Messung reproduzierbarer Spektren untersucht; ebenso die Stabilität der Farbflecken innerhalb von sieben Tagen bei Aufbewahrung der Muster in einem Kühlschrank unter 10°C, da die Stabilität von Ninhydrinkomplexen in einer früheren Arbeit der Autoren als stark temperaturabhängig befunden wurde^{7,8}.

Abschließend wurde die Methode anhand von Standardgemischen für die eindimensionelle und zweidimensionelle Chromatographie von Aminosäuren geprüft, wobei für letztere 20 × 20-cm-Platten, hergestellt nach der früher beschriebenen Methode, verwendet wurden.

Versuchsergebnisse und Diskussion

Jede der zehn Aminosäuren von Gruppe I besitzt eine charakteristische Kombination von Farbe, Spektrum und R_f -Wert (vgl. Abb. 1 und Tabelle 1).

⁷ M. M. FRODYMA und R. W. FREI, *J. Chromatogr.* 15 (1964) 501.

⁸ R. W. FREI und M. M. FRODYMA, *Anal. Biochem.* 9 (1964) 310.

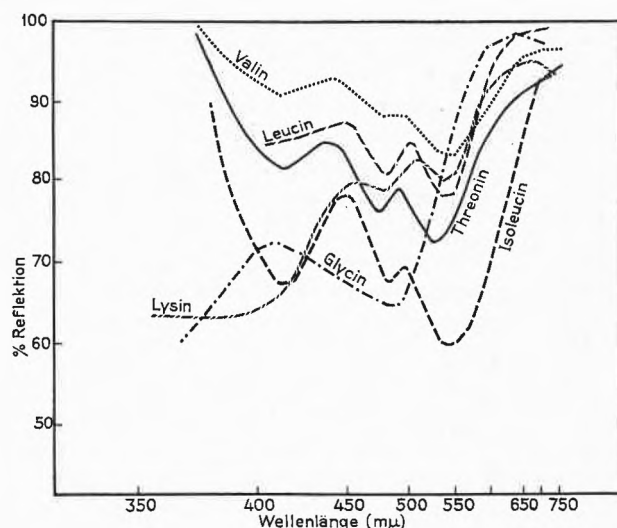


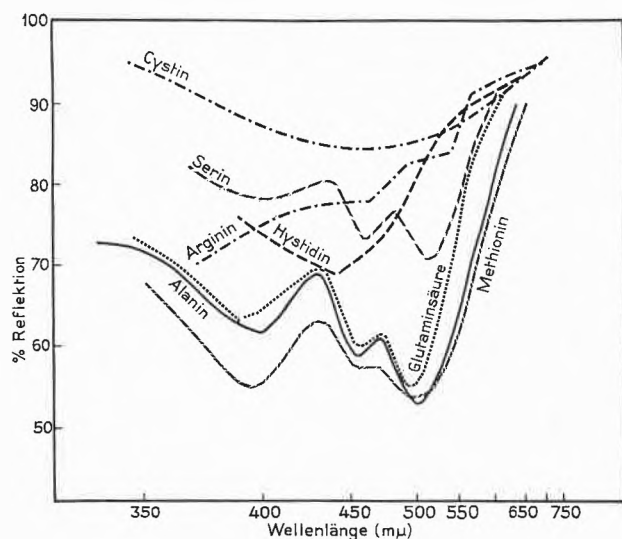
Abb. 1. Reflektionsspektren einiger Aminosäuren von Gruppe I. Konzentration: 5 μg pro Flecken mit Ausnahme von Glycin (4 μg pro Flecken)

Von den acht Aminosäuren, die in Gruppe II aufgezählt wurden, besitzt wiederum jede einen charakteristischen Satz von Eigenschaften (vgl. Abb. 2 und Tabelle 2).

Die in den Tabellen für das Spektrophotometer angegebenen Erfassungsgrenzen sind die Mindestkonzentra-

Tabelle 2. Farbe, Absorptionsmaxima und R_f -Werte für die Aminosäuren von Gruppe II

Aminosäuren	Konzentration (μg /Flecken)	Farbe	Absorptionsmaxima ($m\mu$)	Erfassungsgrenzen (μg /Flecken)		
				DK2	Auge	R_f -Werte
Alanin	5	Blau-violett, verblaßt zu Rot-violett nach 24 Stunden	540/480/412			0,26
	2	Wie für 5	532/486/416	2		
	1	Wie für 5	528/473		0,2	
Arginin · HCl	10	Hellviolett, verblaßt zu Rosa	547/483/419			0,08
	5	Wie für 10	535/484	5	3	
Cystin	8	Rosa-grau	447			0,16
	6	Rosa-grau	455			
Glutamin	5	Rosa-grau		5	3	0,06
	5	Dunkelviolet mit blaß orangem Ring, nach 24 Stunden braun	532/482/409			0,27
	3	Wie für 5	536/481/416	3		
Histidin · HCl	2	Wie für 5			1	
	5	Grau mit gelbem Ring	455			
	3	Gelb, braun-grau nach 24 Stunden	455			
Methionin	0,5	Wie für 3	455	0,5	0,5	
	10	Violett mit gelbem Ring, nach 24 Stunden rosa	535/478/421			0,40
	8	Wie für 10	538/483/410			
Serin	5	Wie für 10	537/480	5		
	2	Wie für 10			1	
	5	Dunkelviolet mit gelbem Ring, verblaßt zu rosa				0,47
Tyrosin	3	Wie für 5	540/478/415			
	2	Wie für 5	540/478/415	2		
	1	Wie für 5	537/479/429		0,3	
	5	Orange mit gelbem Ring, nach 24 Stunden Hellgelb			2	0,47

Abb. 2. Reflektionsspektren einiger Aminosäuren von Gruppe II. Konzentration: 5 μg pro Flecken mit Ausnahme von Cystin und Methionin (8 μg pro Flecken)

tionen, die zur Erhaltung eines typischen und reproduzierbaren Reflektionsspektrums benötigt werden. Die Erfassungsgrenzen für das Auge beziehen sich auf die Mindestkonzentrationen, die zur Erkennung der Flecken benötigt werden, und stimmen im großen und ganzen recht gut mit den Werten überein, die von PRATT und

AUCLAIR⁹ für ein Ninhydrinreagens gleicher Konzentration, aber anderer Zusammensetzung für Aminosäuren auf Papierchromatogrammen ausgearbeitet wurden.

Die Ergebnisse einer Anwendung der ausgearbeiteten Methode für eindimensionelle Chromatographie waren befriedigend und führten meistens zu einer eindeutigen Identifikation aller Komponenten der untersuchten Gruppen von bis zu zehn Aminosäuren.

Um eine vollständige Trennung aller Komponenten zu erzielen und die Anwendungsmöglichkeit dieser Methode zu erweitern, wurde auch zweidimensionelle Chromatographie zugezogen. Als Lösungsmittelsystem wurde hierbei *n*-Propanol : Wasser (64 : 36) für die erste Dimension und das vorher benützte Lösungsmittel für die zweite Dimension verwendet. Die Trennungszeit betrug etwa 8 Stunden im Gegensatz zu 1 bis 2 Stunden für eindimensionelle Chromatographie. Farbe und Reflektionsspektren der Ninhydrinkomplexe blieben unverändert, vorausgesetzt, daß das gleiche *n*-Butanol-Eisessig-Wasser-Gemisch für die zweite Dimension Anwendung fand.

Es wurde ferner festgestellt, daß bei der Anwendung anderer Lösungsmittelsysteme leichte Änderungen in den Farben und Reflektionsspektren der Ninhydrinkomplexe auftreten können. Zudem wurde von den Autoren in einer früheren Arbeit⁸ darauf hingewiesen, daß auch

⁹ T.T.PRATT und T.L.AUCLAIR, *Science* 108 (1948) 213.

die Stabilität der Farbflecken von der Beschaffenheit des Lösungsmittels abhängt.

Schlußfolgerung

Bei der dünnschichtchromatographischen Trennung von Aminosäuregemischen können die einzelnen Aminosäuren mit Hilfe der visuellen und reflektionsphotometrischen Methode identifiziert werden, ohne daß man gänzlich auf die schwer reproduzierbaren R_f -Werte angewiesen ist. Das von MOFFAT und LITTLE für Papierchromatographie und von BRENNER und NIEDERWIESER für Dünnschichtchromatographie empfohlene Reagens hat sich auch für diese Methode als sehr brauchbar erwiesen.

Da bei der Verwendung anderer Lösungsmittelsysteme oft leichte Veränderungen der Farben und Reflektionspektren sowie auch der Stabilität der Farbflecken auftreten können, empfiehlt es sich, die für das entsprechende Lösungsmittelsystem gültigen Daten von Fall zu Fall festzulegen.

Allgemein kann gesagt werden, daß der Anwendungsbereich und die Zuverlässigkeit der Dünnschichtchromatographie durch die Aufnahme von Reflektionsspektroskopie zur analytischen Auswertung der Chromatogramme stark vergrößert wird. Zudem beschränkt sich diese Methode durchaus nicht nur auf Aminosäuren, sondern kann bei geeigneter Kombination der experimentellen Bedingungen auch auf andere biochemische, organische und auch anorganische Gemische erweitert werden.

Der «National Science Foundation» sei gedankt für die Unterstützung dieser Arbeit mit einem Forschungsstipendium GE-3107.

ROLAND W. FREI

Department of Chemistry, Dalhousie University,
Halifax (Nova Scotia, Canada)

IRIS T. FUKUI, VANT. LIEU und MICHAEL M. FRODYMA

Department of Chemistry, University of Hawaii
Honolulu (Hawaii, USA)

Complex Formation of Nickel with Carboxymethylmercaptosuccinic Acid*

Renewed interest¹ on nickel complexes with sulphur ligands and also interesting correlations observed between their colour and stereochemistry^{2,3} have prompted us to study complex formation between Ni(II) and carboxymethylmercaptosuccinic acid (EA 3CS). Ni(II) forms a greenish blue coloured complex with EA 3CS at pH 3 to 10. Spectrophotometric measurements⁴ show that only one complex is formed, and the greenish blue complex thus formed absorbs maximum at a wavelength of 650 m μ . Application of the method of continuous variation⁵ shows that the stoichiometry of the complex formed is 1 : 1. Stability constant, $6 \log K$, of the complex ion comes out to be 3.4 (vide figure), the corresponding free energy of formation ΔF° being -4.726 K cal.

at 30°C. Magnetic susceptibility measurements of the complex in solution, using GOUY's method, shows it to be paramagnetic, with μ_{eff} value equal to 3.15 B.M.

Ni(II) (d^8 configuration) is expected to give a magnetic moment, slightly larger than the spin only value of 2.83 B.M. for two unpaired electrons, possibly because of some mixing-in of upper states via spin-orbit coupling is possible (as cited by NYHOLM⁷). Also for a spin-free d^8 configuration, the crystal-field stabilisation energy favours an octahedral over a tetrahedral complex.⁸ PAULING, however, employing a valence bond approach showed that tetrahedral Ni complexes would be paramagnetic.

The complex ion under investigation exists only in solution where the added ligand is always competing with the coordinating agent, H_2O . The value of 3.15 B.M., though slightly higher than 2.83 B.M., does not appear to be high enough for a tetrahedral configuration, and it seems the complex ion would have an octahedral stereochemical configuration ($4s\ 4p^3\ 4d^2$). The complex shows an anionic nature on passing through an ion-exchange resin. EA 3CS seems to act as a tridentate ligand. Formula of the complex ion may be represented as $[Ni(EA\ 3CS) \cdot 3H_2O]$.

B. C. NAIR and H. L. NIGAM

Chemical Laboratories, University of Allahabad,
Allahabad (India)

* Received October 30, 1965.

¹ W. HIEBER and R. BRUCK, *Naturwiss.* 36 (1949) 312.

² L. PAULING, *The Nature of Chemical Bond*, 2nd edition, Cornell University Press, Ithaca (N.Y.) 1940, Chapter 3.

³ C. FURLANI and G. SARTORI, Proceedings of Symposium on Coordination Chemistry, Rome, 1957, in *J. Inorg. Nucl. Chem.* 8 (1958); C. FURLANI, *Gazz. Chem. Ital.* 88 (1958) 279.

⁴ W. C. VOSBURGH and G. R. COOPER, *J. Amer. Chem. Soc.* 63 (1941) 437.

⁵ P. JOB, *Ann. Chim.* 9 (1928) 113.

⁶ R. T. FOLEY and R. C. ANDERSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 71 (1949) 904.

⁷ R. S. NYHOLM, *Proc. Chem. Soc.* 1961 (August).

⁸ L. E. ORGEL, *Introduction to Transition Metal Chemistry*, Methuen, 1960.

⁹ L. PAULING, *The Nature of Chemical Bond*, 3rd edition, Cornell University Press, Ithaca (N.Y.) 1960.

Polymerisationskinetischer Nachweis von Radikalen im Redox-System $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+ / \text{CCl}_4 / \text{NaBH}_4^*$

Summary

The redox process by which Co^+ is oxidized to Co^{++} by CCl_4 , and reduced back to Co^+ by NaBH_4 , produces radicals, able to initiate the polymerization of methylmethacrylate.

From the course of the polymerization it can be deduced that the reaction $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ with CCl_4 goes through an intermediate, which has a certain stability. Thermal decomposition of this intermediate produces radicals, probably $\cdot\text{CCl}_3$, and the oxidation product of the cobalt compound. This latter is again reduced by NaBH_4 and is thus recycled.

A. VLČEK¹ berichtete kürzlich über ein Redox-System, bei welchem $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^{+***}$ durch Tetrachlorkohlenstoff oxidiert ($\text{Co}^+ \rightarrow \text{Co}^{++}$) und durch Natriumborhydrid wieder reduziert wurde. Die beobachtbare Auswirkung dieser Reaktion ist die Reduktion von CCl_4 durch NaBH_4 , wobei der Kobalt-Komplex als Elektronenüberträger dient.

Andererseits konnten wir in vorangehenden Mitteilungen^{2,3} zeigen, daß metallisches Kobalt-Kolloid mit CCl_4 in einer Zweistufen-Reaktion ($\text{Co}^0 \rightarrow \text{Co}^+ \rightarrow \text{Co}^{++}$) reagiert, wobei in jeder Stufe ein Radikal, wahrscheinlich $\cdot\text{CCl}_3$ entsteht, welches durch polymerisationskinetische Messungen nachgewiesen werden kann. Es konnte ferner wahrscheinlich gemacht werden³, daß Kobalt dabei als Zwischenstufe einen Komplex mit CCl_4 eingeht, welcher thermisch unter Radikalbildung zerfällt; z. B. formuliert für die erste Stufe:



Die vorliegende Untersuchung wurde unternommen, um festzustellen, ob das Co^+ -Ion in oktaedrischer Dipyridylumgebung ebenfalls in derselben Weise zu reagieren vermag, und ferner, ob aufgrund des Redox-Mechanismus (im Gegensatz zum schnell reagierenden Co^0) eine über längere Zeit konstante Radikalbildungsgeschwindigkeit erreicht werden kann.

Die erforderliche Ausgangslösung von $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ wurde in folgender Weise hergestellt: Eine CoCl_2 -Lösung in Tetrahydrofuran (THF) wurde mit überschüssigem α, α' -Dipyridyl behandelt. Der sofort auftretende, schmutzig rosa-farbene Niederschlag wurde anschließend mit überschüssigem NaBH_4 (fest) gerührt. Nach etwa 30 Minuten bei Raumtemperatur ist die Farbe der Reaktionslösung blau. Nach 3 bis 4 Stunden wird die dann

dunkelblaue Lösung des $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ abfiltriert (alle Operationen im Vakuum oder unter Argonschutz). Die Lösung weist eine starke Absorptionsbande bei 600 m μ auf; die Analyse ergibt exakt das stöchiometrische Verhältnis von $\text{Co} : \text{Cl} = 1$ (NaCl sowie $[\text{Co}(\text{dipy})_3]\text{Cl}_2$ sind unlöslich in THF).

Die blaue Lösung reagiert momentan bei Zugabe von CCl_4 (Farbänderung zu hellbraun-rosa, Trübung). In diesem Zustand ist die Reaktionsmischung als Initiator für die Polymerisation zu verwenden. Die blaue Co^+ -Lösung allein initiiert die Polymerisation hingegen nicht. Die folgenden Polymerisationsversuche (vgl. Tabelle 1) wurden in zugeschmolzenen Ampullen durchgeführt (die Technik wurde früher beschrieben⁴). Als Monomeres wurde Methylmethacrylat (MM) verwendet.

Tabelle 1. Polymerisation von Methylmethacrylat. $[\text{MM}] = 2,0 \text{ Mol/l}$; $[\text{CCl}_4] = 0,2 \text{ Mol/l}$; $T = 90^\circ\text{C}$; Lösungsmittel: THF

Nr.	$[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ (Mol/l) · 10 ³	NaBH_4	Zeit (Stunden)	Umsatz (%)
1	0,5	—	1,0	2,9
2	0,5 *	—	1,0	1,4
3	1,0	—	1,0	4,3
4	0,5	+	0,33	5,1
5	0,5	+	1,0	12,2
6	1,0	+	1,0	41,0

* Überschüssiges CCl_4 abdestilliert vor Zugabe des MM.

Die ersten drei Versuche betreffen die Polymerisation ohne Zugabe von NaBH_4 . Interessant ist besonders Versuch Nr. 2, bei welchem der Co-Komplex nach Zugabe des CCl_4 bis zur Trockne im Vakuum eingedampft und 1 Stunde bei 20°C und 10^{-4} mm Hg abgepumpt wurde. Danach erst wurden MM und THF dazu destilliert, die Ampulle zugeschmolzen und erhitzt. Die Polymerisationsgeschwindigkeit ist zwar etwas geringer als bei dem sonst vergleichbaren Versuch Nr. 1, zeigt aber doch deutlich, daß die die Polymerisation initiiierende Substanz eine beträchtliche Lebensdauer hat.

Die Zugabe von NaBH_4 erhöht die Polymerisationsgeschwindigkeit wesentlich (Versuche 4 bis 6); die Versuche 4 und 5 zeigen zudem, daß die Radikalbildungsgeschwindigkeit, zumindest im beobachteten Zeitraum, als etwa konstant angesehen werden kann. Genaue kinetische Messungen sind erschwert durch die Tatsache, daß NaBH_4 in THF nur sehr wenig löslich ist und daß zwecks Aufrechterhaltung einer etwa konstanten Konzentration (Sättigung) mit überschüssigem, ungelöstem NaBH_4 gearbeitet werden muß.

* Vorgetragen beim Symposium für Makromolekulare Chemie (IUPAC), Prag, August 1965. Bei der Redaktion eingegangen am 11. November 1965.

** dipy = α, α' -Dipyridyl.

¹ D. KONRAD und A. A. VLČEK, *Symposium on Coordinated Chemistry, Tihany, Lake Balaton, Hungary 1964, Collection of Papers*, II, 563.

² G. HENRICI-OLIVÉ und S. OLIVÉ, *Chimia* 19 (1965) 46.

³ G. HENRICI-OLIVÉ und S. OLIVÉ, *Makromol. Chem.*, 88 (1965) 117.

⁴ G. HENRICI-OLIVÉ und S. OLIVÉ, *Makromol. Chem.* 58 (1962) 188.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß NaBH_4 weder allein noch in Gegenwart von $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ oder $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^{++}$ die Polymerisation zu initiieren vermag. Ferner ist zu vermerken, daß der radikalische Charakter der Polymerisation wie in früheren Arbeiten^{2,3} durch Kopolymerisationsversuche mit Styrol⁵ eindeutig nachgewiesen wurde.

Zusammenfassend ist zu sagen: Alle experimentellen Befunde sind in Übereinstimmung mit der Annahme einer schnellen Reaktion des $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^+$ mit CCl_4 unter Ausbildung einer Zwischenverbindung (Komplex), welche eine gewisse Lebensdauer besitzt. Die räumlichen

Gegebenheiten eines oktaedrischen Komplexes lassen dabei vermuten, daß ein Dipyridyl-Molekül durch CCl_4 und eventuell THF verdrängt wird. Der thermische Zerfall des Komplexes liefert einerseits Radikale, welche mittels der Polymerisationstechnik nachgewiesen werden können. In Analogie zu vergleichbaren Reaktionen der Co^0 -Kolloide^{2,3} und auch der Co-Carbonyl⁶ ist anzunehmen, daß es sich um $\cdot\text{CCl}_3$ -Radikale handelt. Andererseits erhält man das Oxydationsprodukt der Co-Verbindung (vermutlich $[\text{Co}(\text{dipy})_3]^{++}$ oder $[\text{Co}(\text{dipy})_2]^{++}$). Letzteres wird von NaBH_4 wieder reduziert und kann somit erneut in den Zyklus eintreten.

⁵ F.R. MAYO und CH. WALLING, *Chem. Rev.* 46 (1950) 191.

⁶ C.F. BAMFORD, *J. Polymer Sci. C4* (1964) 1571, und weitere Zitate dort.

G. HENRICI-OLIVÉ und S. OLIVÉ

Monsanto Research S.A., Zürich

La phénylacétaldéhyde, un constituant de l'arome de thé noir*

Summary

A gas chromatography investigation of black tea aroma has revealed, besides known components, the presence of *phenylacetaldehyde*, a new substance which seems to be an important constituent of tea aroma.

Au cours d'une recherche systématique sur l'arome de thé noir, nous avons identifié la *phénylacétaldéhyde* parmi d'autres constituants dont la plupart ont été décrits par YAMANISHI *et al.*¹ Cette substance présente une odeur rappelant celle de la jacinthe et elle paraît être un constituant important de l'arome de thé noir.

Partie expérimentale

100 kg de thé noir provenant de Ceylan ont été soumis à un entraînement à la vapeur; les 200 kg de distillat aqueux ont été rectifiés dans un appareil en verre. L'arome aqueux ainsi obtenu a été extrait au dichlorométhane; les opérations de séchage et d'évaporation ont donné un concentré qui a été fractionné par chromatographie préparative en phase gazeuse.

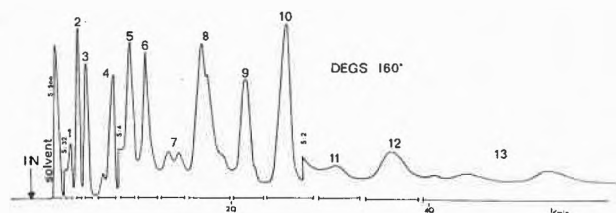


Fig. 1. Chromatogramme de l'arome brut

La figure 1 montre un chromatogramme obtenu au sortir d'une colonne préparative de 3 m contenant du Chromosorb P (60–80 mesh) chargé de 30% de succinate de diéthylèneglycol sous un débit d'hélium de 100 ml/mn et à une température de 150°C. Le pic 8 de la figure 1 a été tout d'abord purifié sur la même colonne puis on l'a injecté dans une autre colonne préparative de 6 m contenant du Chromosorb P (60–80 mesh) chargé de 30% de «silicon gum rubber» SE-30 sous un débit d'hélium de 150 ml/mn et à une température de 160°C; on a obtenu de cette manière deux constituants A et B (voir fig. 2). Le spectre infrarouge de B était identique à celui du vinyl-2-triméthyl-2,6,6-hydroxy-5-tétrahydropyran (oxyde de linalol III), substance déjà identifiée par YAMANISHI *et al.*¹ dans l'arome de thé vert et que nous avons synthétisée d'après FELIX *et al.*² La fraction A a été identifiée de la manière suivante:

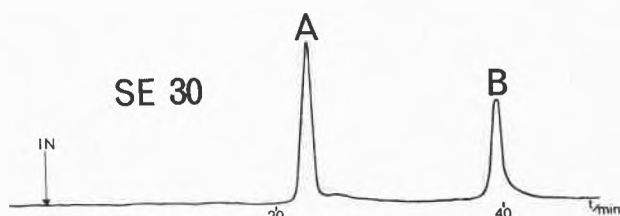


Fig. 2. Purification de la fraction 8

Indices de rétention d'après KOVATS³. 1240 sur phase stationnaire UCON-LB-550-X à 150°C; 1900 sur phase stationnaire Succinate de diéthylèneglycol à 130°C. Ces indices sont identiques à ceux de la phénylacétaldéhyde.

* Reçu le 17 novembre 1965.

¹ T. YAMANISHI, H. SATO et A. OHMURA, *J. Agr. Biol. Chem. (Japan)* 28 (1964) 653.

² D. FELIX, A. MELERA, J. SEIBL et E. SZ. KOVATS, *Helv. Chim. Acta* 46 (1963) 1513.

³ E. KOVATS, *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 1915.

Spectre infra-rouge. La figure 3 montre que le spectre IR «X» (film liquide) est identique à celui de la phénylacétaldéhyde «R».

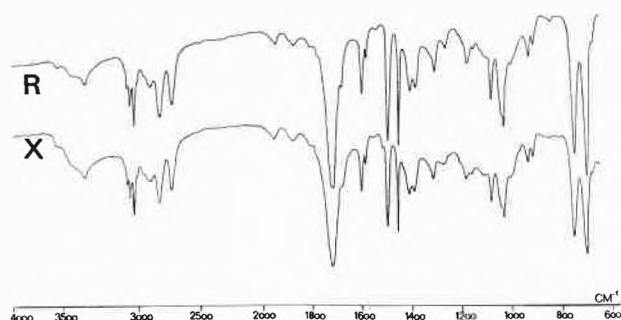


Fig. 3. Spectre infrarouge de la phénylacétaldéhyde: X = isolée du thé
R = référence

Dérivé dinitro-2,4-phénylhydrazone. Le dérivé de A présente le même R_f (0,37) que la dinitro-2,4-phénylhydrazone de la phénylacétaldéhyde lorsqu'on le soumet à une chromatographie en couche mince sur gel de silice en utilisant un mélange benzène-éther de pétrole (60–80°) dans la proportion 3 : 1 en volume; les spectres électroniques de ces deux dérivés présentent des maxima identiques à 353 m μ (chloroforme) et à 428 m μ , 515 m μ en milieu alcalin (éthanol sodique); ces données correspondent à celles de JONES *et al.*⁴

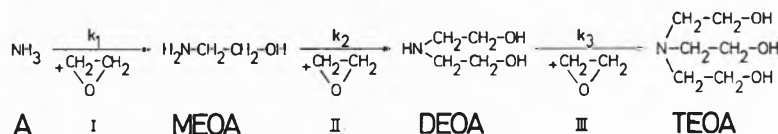
R. VIANI, F. MÜGGLER-CHAVAN, L. VUATAZ,
D. REYMOND et R. H. EGLI

Laboratoire de Recherche des Produits Nestlé, Vevey

⁴ L. A. JONES et C. K. HANCOCK, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 105.

Reaktionskinetische Untersuchungen der Synthese von Äthanolaminen*

Die Umsetzung von Äthylenoxid mit Ammoniak zu Mono-, Di- und Triäthanolamin beruht, reaktionskinetisch betrachtet, auf einem System sich konkurrenzierender Folgereaktionen zweiter Ordnung. Abb. 1 zeigt die Reaktionsgleichungen mit den entsprechenden Geschwindigkeitsgesetzen.



$$\text{I. } \frac{d(\text{MEOA})}{dt} = k_1(\text{EO})(\text{A}) - k_2(\text{EO})(\text{MEOA})$$

$$\text{II. } \frac{d(\text{DEOA})}{dt} = k_2(\text{EO})(\text{MEOA}) - k_3(\text{EO})(\text{DEOA})$$

$$\text{III. } \frac{d(\text{TEOA})}{dt} = k_3(\text{EO})(\text{DEOA})$$

$$\text{IV. } \frac{d(\text{A})}{dt} = -k_1(\text{A})(\text{EO})$$

Abb. 1. Reaktionsgleichungen und Geschwindigkeitsgesetze

Das Ziel war es nun, diese Folgereaktionen durch Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_1 , k_2 und k_3 mathematisch zu erfassen. Bekanntlich bestehen hierfür drei Möglichkeiten:

– Man verzichtet darauf, eine Angabe bezüglich der Reaktionszeit zu erhalten, indem der Zeitfaktor aus den Geschwindigkeitsgesetzen eliminiert wird. Es läßt sich so allerdings nur das *Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten* bestimmen, während es auf diese Weise nicht gelingt, deren Absolutwert zu erhalten.

– Als zweite Möglichkeit können die Zeitgesetze mit Hilfe von Näherungsmethoden integriert werden. Nachteilig ist dabei, daß der mathematische Aufwand beim Vorliegen von mehr als zwei Reaktionsschritten sehr groß wird.

– Die dritte Möglichkeit, die für solche Fälle zur Bestimmung der gewünschten Geschwindigkeitskonstanten am zweckmäßigsten angewandt wird, besteht im Einsatz eines Analogrechners. Diese Methode arbeitet nicht nur sehr rasch und genau, sondern es läßt sich auch bei Nichtgenügen des mathematischen Modells vielfach abschätzen, welcher Art eventuell ablaufende Nebenreaktionen sein müssen.

Es wurden nun die Geschwindigkeitskonstanten k_1 , k_2 und k_3 im Temperaturbereich von 20 bis 60°C ermittelt. Hierbei interessierten vor allem drei Probleme:

* Vorgetragen an der Sommersammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, 25. September 1965, in Genf.

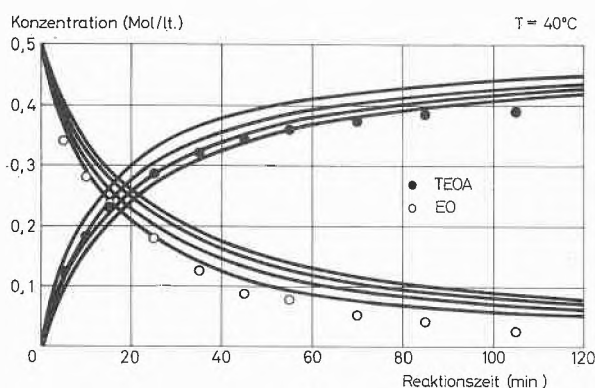
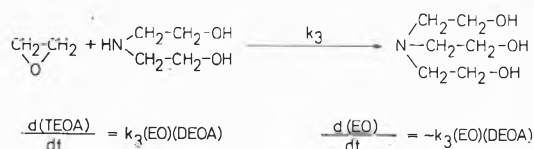


Abb. 2. Umsetzung von Diäthanolamin mit Äthylenoxid. Vergleich der theoretischen mit den experimentell bestimmten Werten (ohne Berücksichtigung einer Nebenreaktion)

1. Läßt sich die vorliegende Reaktion mit dem aufgestellten mathematischen Modell mit genügender Genauigkeit beschreiben?
2. Treten irgendwelche Parallel- oder Folgereaktionen auf, die zum vollständigen Erfassen der Reaktion ebenfalls berücksichtigt werden müßten?
3. Ist die Zusammensetzung der Produkte von der Temperatur abhängig, d. h. wie groß sind die Aktivierungsenergien der einzelnen Reaktionsschritte?

Als erstes wurde die Umsetzung von Diäthanolamin mit Äthylenoxid zu Triäthanolamin untersucht. Abb. 2 zeigt als Beispiel einen Versuch, der bei 40°C und mit einer Anfangskonzentration der Edukte von je 0,5 Mol/Liter durchgeführt wurde.

Hierbei wurden die theoretischen Zeit/Konzentrations-Funktionen, wie sie sich unter Annahme einer Reaktion zweiter Ordnung ergeben, mit den experimentell gefundenen Werten verglichen. Die Darstellung zeigt einerseits die zeitliche Abnahme der Äthylenoxidkonzentration, andererseits die entsprechende Zunahme des Triäthanolamins. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde darauf verzichtet, auch die Meßwerte der Diäthanolaminkonzentration, die symmetrisch zu denjenigen der Triäthanolaminzunahme liegen, einzutragen.

Wie aus den vom Analogrechner gezeichneten Kurven ersichtlich ist, kann nur durch Veränderung des k_3 -Wertes keine Übereinstimmung der theoretischen Kurven mit den experimentell ermittelten Werten erzielt werden. Der tatsächliche Kurvenverlauf kann also nicht mit der aufgestellten einfachen Differentialgleichung beschrieben werden, und es blieb abzuklären, welcher Art eventuell ablaufende Nebenreaktionen sein könnten. Es wurden zwei diesbezügliche Arbeitshypothesen aufgestellt.

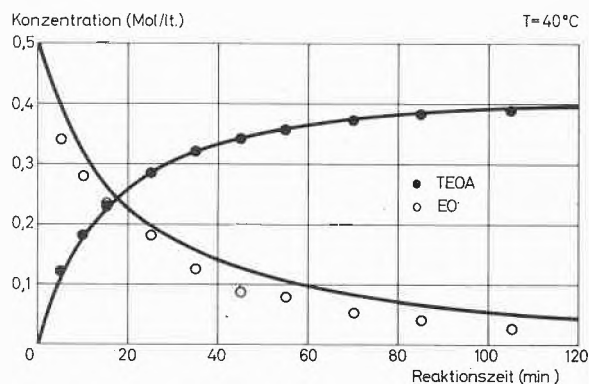
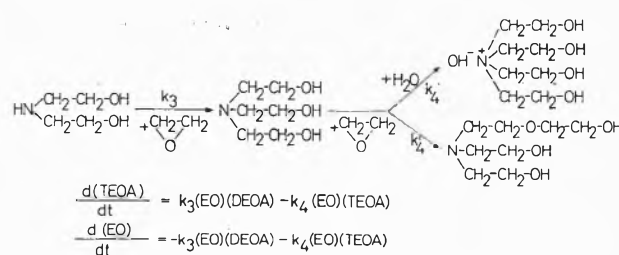
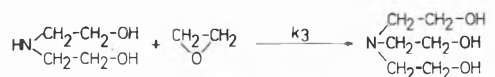


Abb. 3. Umsetzung von Diäthanolamin mit Äthylenoxid. Vergleich der theoretischen mit den experimentell bestimmten Werten (unter Berücksichtigung einer weiteren Folgereaktion zweiter Ordnung)

Einmal könnte das Äthylenoxid mit dem gebildeten Triäthanolamin weiterreagieren, sei es zu Tetraäthanolammoniumhydroxid oder aber unter Ätherbildung zum Monoglykoläther des Triäthanolamins. Letztere Reaktion verläuft aber nur mit vernünftigen Ausbeuten bei der Einwirkung eines Überschusses von Äthylenoxid auf konzentrierte Triäthanolaminlösungen bei erhöhter Temperatur, und es gelang uns auch nicht, die quaternäre Base durch direkte Umsetzung von Triäthanolaminlösungen mit Äthylenoxid und Wasser herzustellen. Kinetisch gesehen müßten sich beide Reaktionen analog beschreiben lassen, indem es sich in beiden Fällen um eine weitere, konkurrenzierende Folgereaktion handelt. Simuliert man diese Folgereaktion mit Hilfe des Analogrechners zusammen mit der als Hauptreaktion vorliegenden Triäthanolaminbildung, so erhält man gute Übereinstimmung der berechneten und der gemessenen Zeit/Konzentrations-Funktion bezüglich des Triäthanolamins. Dagegen liegen die experimentell gefundenen Werte der Äthylenoxidabnahme immer noch beträchtlich unterhalb der theoretischen Kurve.

Anders liegen die Verhältnisse, wie in Abb. 4 dargestellt ist, wenn man annimmt, daß das Äthylenoxid mit dem Wasser zu Äthylenglykol reagiert.

Es handelt sich in diesem Fall um eine Parallelreaktion, die sich, da ja in verdünnter wässriger Lösung gearbeitet wird, mit einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung beschreiben lassen sollte. Man erhält in diesem Moment eine sehr gute Übereinstimmung der theoretischen und der experimentellen Zeit/Konzentrations-Funktionen, sowohl bezüglich der Triäthanolaminzunahme wie auch der Äthylenoxidabnahme.



$$\frac{d(\text{TEOA})}{dt} = k_3 (\text{EO})(\text{DEOA})$$

$$\frac{d(\text{EO})}{dt} = -k_3 (\text{EO})(\text{DEOA}) - k'_h (\text{EO})$$

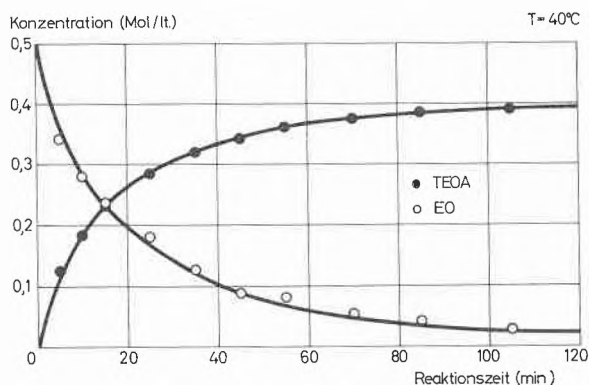


Abb. 4. Umsetzung von Diäthanolamin mit Äthylenoxid. Vergleich der theoretischen mit den experimentell bestimmten Werten (unter Berücksichtigung einer Parallelreaktion erster Ordnung)

Selbstverständlich stellte dies noch keinen eindeutigen Beweis dafür dar, daß es sich bei der vorliegenden Nebenreaktion wirklich um die Glykolbildung handelt. Zur Verifizierung wurde daher das Äthylenglykol einerseits analytisch nachgewiesen, andererseits die Glykolbildung unter analogen Versuchsbedingungen mit Natriumhydroxid als Katalysator untersucht. Hierbei wurden Geschwindigkeitskonstanten von derselben Größenordnung gefunden, wie sie sich auch bei der Glykolbildung als Nebenreaktion der Äthanolaminsynthese ergeben hatten.

Nachdem nun feststand, daß die Glykolbildung, entgegen den bisherigen Ansichten, eine Nebenreaktion darstellt, die bei der Synthese der Äthanolamine nicht vernachlässigt werden darf, konnte man daran gehen, die Geschwindigkeitskonstanten der Tri-, Di- und Monoäthanolaminbildung im gewünschten Temperaturgebiet zu bestimmen. Durch Untersuchung der Umsetzung von Diäthanolamin mit Äthylenoxid erhielt man die Geschwindigkeitskonstante k_3 der Triäthanolaminbildung. Bei bekanntem k_3 -Wert konnte sodann, ausgehend von Monoäthanolamin und Äthylenoxid, die Geschwindigkeitskonstante k_2 der Diäthanolaminbildung bestimmt werden, und in analoger Weise ergab sich dann die Geschwindigkeitskonstante k_1 der Monoäthanolaminbildung. Abb. 5 gibt in der bekannten Darstellung der Arrheniusschen Geraden eine Zusammenstellung der ermittelten Geschwindigkeitskonstanten zwischen 20 und 60°C.

Es zeigt sich, daß die Bildung des Monoäthanolamins aus Ammoniak und Äthylenoxid eindeutig der lang-

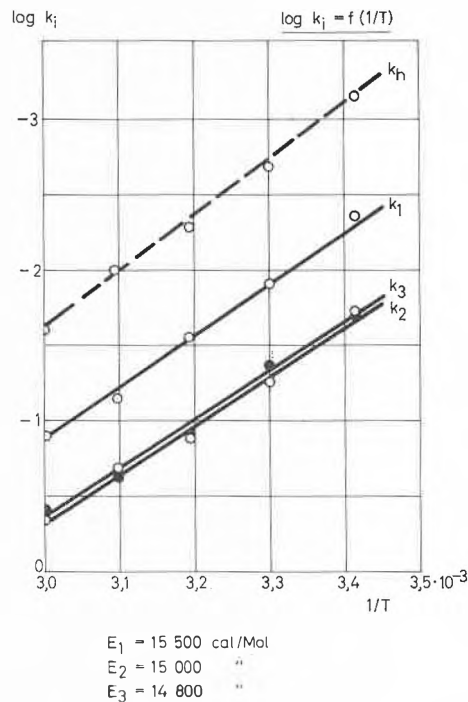


Abb. 5. Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten bei der Äthanolaminsynthese [$\log k_i = f(1/T)$]

samste Reaktionsschritt ist, während dann die Umsetzungen zu Di- und Triäthanolamin mit praktisch gleicher Geschwindigkeit ablaufen. Das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten beträgt etwa 1:4:4. Aus der Tatsache, daß die drei Arrheniusschen Geraden praktisch parallel verlaufen, ergibt sich, daß die Aktivierungsenergien der drei Reaktionsschritte von gleicher Größenordnung sind; sie betragen 15,5, 15,0 und 14,8 kcal/Mol für die Mono-, Di- und Triäthanolaminbildung. Damit wird aber auch das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten temperaturunabhängig, und die Zusammensetzung der Produkte ist somit nur vom Verhältnis der Edukte und nicht von der Temperatur abhängig.

Die Geschwindigkeitskonstanten der Hydrolyse von Äthylenoxid, d.h. der Glykolbildung, liegen etwa eine Zehnerpotenz tiefer als diejenigen der Monoäthanolaminbildung. Die Arrheniussche Gerade verläuft ein wenig steiler, und somit wird die Aktivierungsenergie etwas größer. Ein merklicher Einfluß auf die Zusammensetzung der Äthanolamine ergibt sich daher aus dieser Nebenreaktion erst bei bedeutend höheren Temperaturen.

Es ist somit mit Hilfe des aufgestellten mathematischen Modells unter Berücksichtigung der Glykolbildung als Nebenreaktion gelungen, die Äthanolaminsynthese im untersuchten Temperaturbereich kinetisch vollständig zu erfassen.

H. U. REICH, M. NICOLET und P. GUYER
Technisch-Chemisches Laboratorium der ETH, Zürich

Über die hydrothermale Alterung von Silicagelen*

Silicagel finden in der Technik der Gastrocknung wie auch als Trägermaterialien für Katalysatoren verbreitet Anwendung. Die spezielle Eignung als Adsorptionsmittel und Katalysatorträger basiert insbesondere auf der feinporösen Mikrostruktur ihres Feststoffgerüsts. Silicagel zeichnen sich durch eine große innere Kapillaroberfläche, einen hohen Porositätsgrad wie auch durch ein homogenes Porensystem aus. Diese charakteristischen Strukturkenngrößen lassen sich durch geeignete Wahl der Herstellungsbedingungen in relativ weiten Grenzen variieren. Mitbestimmend für die Eigenschaften von Silicagelen ist sodann ihre chemische Beschaffenheit, die durch oberflächenständige $\equiv\text{SiOH}$, d.h. Silanolgruppen, gekennzeichnet ist. Es sind vor allem diese Gruppen, die Silicagel zu einem hydrophilen Adsorptionsmittel stempeln.

Die praktische Verwendbarkeit von Silicagelen setzt voraus, daß die durch die Mikrostruktur bedingten spezifischen Eigenschaften über längere Zeit erhalten bleiben. Diese Forderung ist erfahrungsgemäß nur dann erfüllt, wenn die Mikrostruktur im Dauerbetrieb keine Veränderung erfährt.

Es ist nun aber bekannt, daß die innere Kornstruktur von Silicagelen speziell bei Temperatureinwirkung oberhalb 400 bis 500°C durch eine Art Sintervorgang erheblich verändert wird. Diese Art von Strukturbeeinflussung wird als thermische Alterung bezeichnet. Verschiedentlich wurde darauf hingewiesen, daß die thermische Alterung in Gegenwart von Feuchtigkeit beschleunigt wird.

Einige anwendungstechnische Probleme haben nun dazu Anlaß gegeben, gerade diese sogenannte *hydrothermale Alterung* eingehender zu studieren. Die Untersuchungen gingen von der Beobachtung aus, daß Silicagel, die bei Temperaturen oberhalb 100°C während einiger Stunden einer Sattampf-atmosphäre ausgesetzt sind, ihr Adsorptionsvermögen teilweise einbüßen. In der Folge wurde eine Beantwortung der Fragen angestrebt:

- Welche Einflußgrößen sind für die hydrothermale Alterung maßgebend?
- In welchem Ausmaß wirkt sich die Alterung auf die Eigenschaften von Silicagelen aus?
- Welche Konsequenzen ergeben sich für die praktische Anwendung von Silicagelen?

Wie bereits erwähnt, lassen sich die wichtigsten Eigenschaften von Silicagelen einerseits auf Strukturkenn-

größen, wie spezifische Oberfläche, Porenvolumen und Porengröße, zurückführen, andererseits auf den Silanolgruppengehalt bzw. den Gehalt an chemisch gebundenem Wasser.

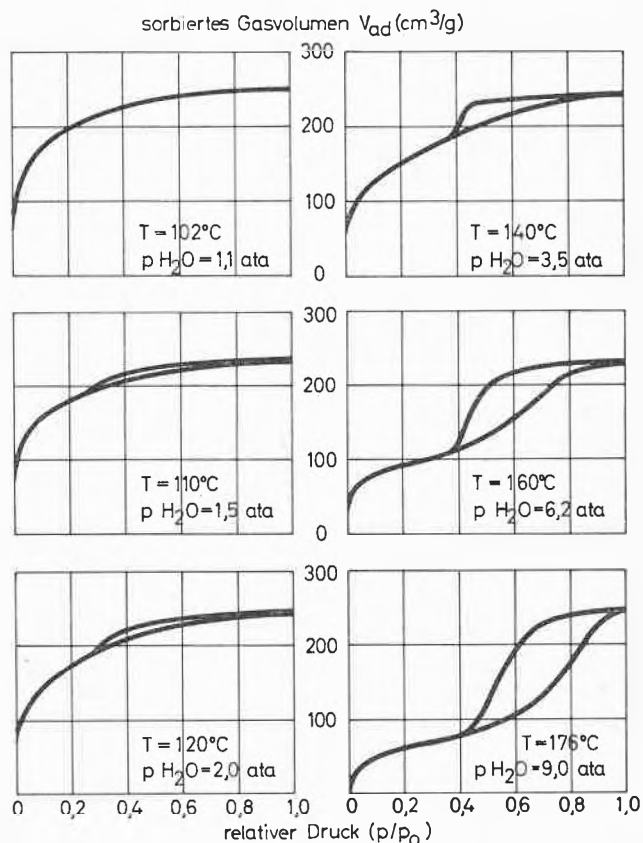


Abb. 1. Stickstoff-Adsorptionsisothermen von hydrothermal gealtertem engporigem Silicagel. Behandlungsdauer 4 Stunden

Diese Kennwerte bildeten denn auch die Grundlage zur Beurteilung des Alterungsvorganges, wobei im wesentlichen folgende Methoden zur Anwendung gelangten:

- Die Ermittlung von spezifischer Oberfläche, mittlerem Porenradius und Porengrößenverteilung erfolgte mittels der Adsorptions- und Desorptionsisotherme von Stickstoff am porösen Feststoff.
- Das Porenvolumen und der Porositätsgrad wurden einerseits mittels der Adsorptionsmethode bestimmt, andererseits aus der scheinbaren und der wahren Dichte des porösen Feststoffes berechnet.
- Der Silanolgruppengehalt ließ sich, mit einigen Einschränkungen allerdings, aus dem Wasserverlust bei der Temperung bei 1000°C bestimmen.

* Vorgetragen an der Sommerversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, 25. September 1965, in Genf.

Das Verhalten der erwähnten Kenngrößen unter dem Einfluß von Temperatur, Wasserdampfdruck und Alterungsdauer kann anhand einiger graphischer Darstellungen veranschaulicht werden; die nachfolgend wiedergegebenen Meßergebnisse beschränken sich auf die Alterung von engporigem Silicagel.

In Abb. 1 sind die Adsorptions- und Desorptionsisothermen von Stickstoff für einige typische Alterungsprodukte dargestellt. Die Adsorptionsisotherme des bei 102°C erhaltenen Alterungsproduktes entspricht dabei annähernd derjenigen des Ausgangsproduktes. Es zeigt sich, daß bei konstanter Behandlungsdauer die Desorptionshysterese mit zunehmender Alterungstemperatur immer deutlicher in Erscheinung tritt. Dies steht vor allem in krassem Gegensatz zu der rein thermischen Alterung von engporigem Silicagel, deren Alterungsprodukte praktisch immer Adsorptionsisothermen vom Langmuir-Typ liefern.

Im weiteren zeigt Abb. 2 die Abhängigkeit der spezifischen Oberfläche von der Behandlungsdauer, wobei die Temperatur als Parameterwert auftritt:

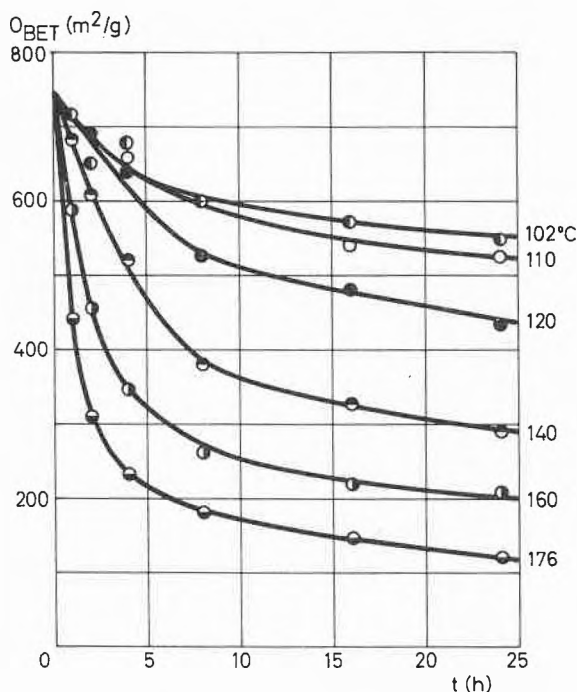


Abb. 2. Spezifische Oberfläche in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer

Da die entsprechenden Versuche unter Sattdampfbedingungen durchgeführt wurden, kann jeder Temperatur ein definierter Wasserdampfdruck zugeordnet werden; dieser beträgt bei 102°C beispielsweise 1,1 ata, bei 176°C 9 ata. Entsprechend der graphischen Darstellung erweist sich der Oberflächenabbau sowohl als zeit- wie auch als temperatur- oder wasserdampfdruckabhängig. Die Oberflächen streben in allen Fällen einem von der Temperatur abhängigen Endwert zu. Das Ausmaß

der Oberflächenverringering nimmt speziell bei Temperaturen von 160 und 176°C erhebliche Werte an, weisen doch die entsprechenden Produkte zum Teil Oberflächen von weniger als 200 m²/g auf, gegenüber einem Anfangswert von 730 m²/g.

Der Oberflächenabbau ist gleichzeitig von einer Porenvergrößerung begleitet, wie dies aus den Abbildungen 3 und 4 ersichtlich wird:

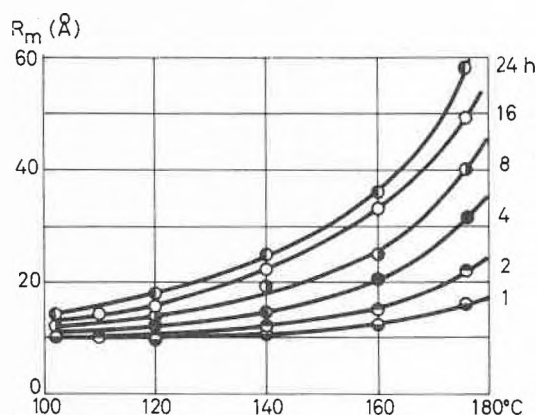


Abb. 3. Mittlerer Porenradius in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur (Sattdampf)

Abb. 3 zeigt den mittleren Porenradius in Abhängigkeit von der Temperatur. In Abb. 4 sind Porengrößenverteilungskurven einiger typischer Alterungsprodukte wiedergegeben. Es geht daraus hervor, daß durch hydrothermale Alterung eines engporigen Silicagels mittel- und weitporige Silicagel erzeugt werden, weisen doch die entsprechenden handelsüblichen Produkte mittlere Porenradien von 20 bis 40 Å auf, während engporige Silicagel durch Porenradien von 8 bis 10 Å gekennzeichnet sind.

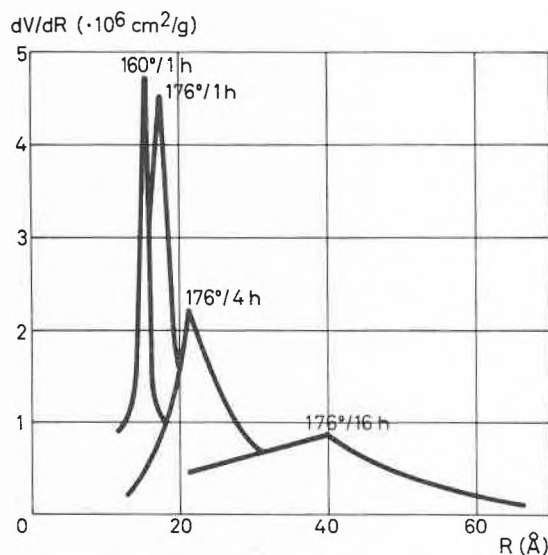


Abb. 4. Veränderung der Porengrößenverteilung bei verschiedenen Alterungsbedingungen

Eine Vergrößerung des mittleren Porenradius durch sekundäre Einflüsse kann einerseits darin bestehen, daß sich das gesamte Porensystem gleichmäßig ausweitet; andererseits kann sie die Folge der Bildung eines neuen Systems größerer Poren sein. Die Porengrößenverteilungen zeigen, daß das erstere Modell Gültigkeit haben muß, indem eine Verschiebung des gesamten Porengrößenspektrums nach größeren Radien hin erfolgt.

Die Bildung zusätzlicher Poren widerspricht auch dem erstaunlichen Befund, wonach das Porenvolumen und damit die Porosität durch die Alterung nicht beeinflusst wird. Für sämtliche Alterungsprodukte von engporigem Silicagel wurde eine Streuung der Volumenmeßwerte von $\pm 4\%$ um einen Mittelwert von $0,364 \text{ cm}^3/\text{g}$ beobachtet.

Schließlich erwies sich der Silanolgruppengehalt, angegeben in mMol Wasser pro g Silicagel, als linear abhängig von der spezifischen Oberfläche, wie dies aus Abb. 5 ersichtlich ist:

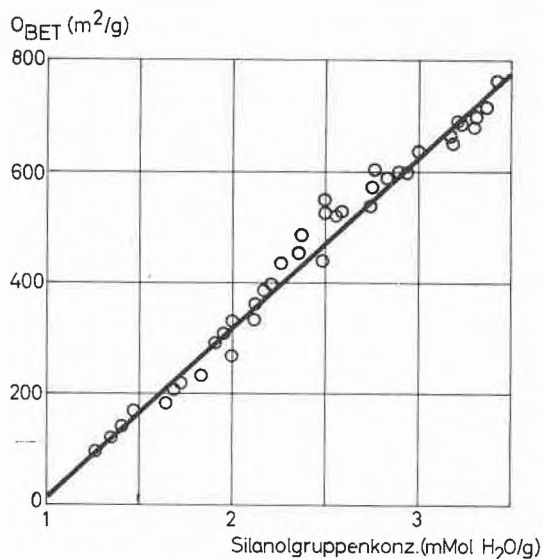


Abb. 5. Zusammenhang zwischen spezifischer Oberfläche und Wassergehalt bzw. Silanolgruppenkonzentration

Ein Silanolgruppengehalt von 2 mMol Wasser/g Silicagel entspricht z.B. einer Oberflächenkonzentration von 0,25 OH-Gruppen pro Siliciumatom. Dies bedeutet, daß im entsprechenden Silicagel an jedes vierte Siliciumatom eine Silanolgruppe gebunden ist. Der enge Zusammenhang zwischen Silanolgruppengehalt und spezifischer Oberfläche weist auf eine chemische Ursache der Strukturveränderung hin.

Die Tatsache, wonach die in Abb. 5 dargestellte Gerade bei einer extrapolierten Oberfläche von einigen wenigen m^2/g noch einen Silanolgruppengehalt von etwa 1 mMol Wasser/g aufweist, ist insbesondere durch die Analysenmethode bedingt. Die Produkte wurden vorgängig der Temperung bei 150°C am Hochvakuum während 24 Stunden getrocknet. Unter diesen Bedingungen

enthalten Silicagel stets noch physikalisch adsorbiertes Wasser, das unter Temperungsbedingungen desorbiert, das aber zur Vereinfachung nicht vom chemisch gebundenen Wasser unterschieden wurde.

Die bisher erwähnten Versuchsergebnisse beziehen sich durchwegs auf die Sattdampfbehandlung von Silicagel. Temperatur und Wasserdampfdruck müssen dabei vorerst als gleich wichtige Einflußfaktoren bei der hydrothermalen Alterung angesehen werden. Zur Beurteilung, welche der beiden Variablen die Strukturveränderung aber maßgeblich beeinflusst, wurden analoge Alterungsversuche mit überhitztem Wasserdampf durchgeführt. Es zeigte sich dabei, daß der Alterungsgrad praktisch nur durch das Ausmaß des Wasserdampfdruckes, nicht aber durch die Temperatur beeinflusst wird, wie dies aus den Abbildungen 6 und 7 hervorgeht:

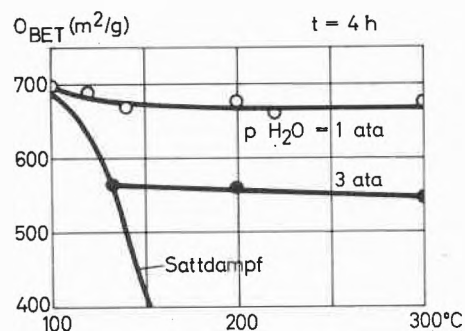
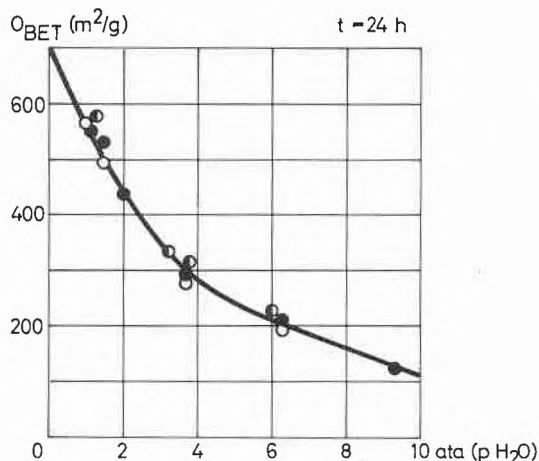


Abb. 6. Spezifische Oberfläche in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur (überhitzter Wasserdampf)

In Abb. 6 gibt die linke Kurve die Temperaturabhängigkeit der spezifischen Oberfläche unter Sattdampfbedingungen an, während die beiden annähernd horizontalen Kurvenäste dieselbe Abhängigkeit bei überhitztem Wasserdampf darstellen. Werden sodann die



- 176°C , $p_{\text{H}_2\text{O}}$ variabel (Behandlung mit überhitztem H_2O -Dampf)
- T und $p_{\text{H}_2\text{O}}$ variabel (Sattdampfbehandlung dynamisch)
- T und $p_{\text{H}_2\text{O}}$ variabel (Sattdampfbehandlung im Autoklaven)

Abb. 7. Spezifische Oberfläche in Abhängigkeit vom Wasserdampfdruck

Oberflächenwerte in Abhängigkeit vom Dampfdruck dargestellt, so lassen sich gemäß Abb. 7 sämtliche Meßwerte durch ein und dieselbe Funktion wiedergeben, und zwar unabhängig davon, ob die Alterung unter Satt-dampfbedingungen oder mit überhitztem Wasserdampf durchgeführt wurde.

Diese Ergebnisse besagen, daß für die hydrothermale Alterung von Silicagelen einzig und allein der Wasserdampfdruck als treibende Kraft in Erscheinung tritt.

Wenn sich die vorangehenden Resultate alle auf engporiges Silicagel bezogen, so darf erwähnt werden, daß für mittel- und weitporige Silicagele im wesentlichen dieselben Aussagen Gültigkeit haben.

Die vorliegenden Untersuchungen führten also zum Befund, daß die Strukturumwandlung von Silicagel durch hydrothermale Alterung bestimmten Gesetzmäßigkeiten folgt. Während das Porenvolumen des Ausgangsproduktes erhalten bleibt, wird die spezifische Oberfläche unter dem Einfluß von Wasserdampf verringert, die Poren aber gleichzeitig erweitert. Der Oberflächenabbau ist von einem Silanolgruppenverlust begleitet. Diese Vorgänge können qualitativ anhand des einfachen, in Abb. 8 dargestellten Modells veranschaulicht werden:



Abb. 8. Modelldarstellung des Alterungsvorganges

Die poröse Grundsubstanz des Silicagels ist als Mischung von Feststoffteilchen und kapillaren Hohlräumen aufzufassen. Durch die hydrothermale Alterung schließen sich einzelne Feststoffpartien zusammen, wobei die äußere Form des Grundkörpers, also z.B. des Silicagelkornes, erhalten bleibt. Die Anteile an Gerüstsubstanz und Hohlräumen bilden nach der Alterung ein gröberdisperses System. Dieses einfache Modell steht vollkommen in Einklang mit den Messergebnissen und findet auch gewisse Parallelen in der Entwässerung von Tonerdehydraten.

Es stellt sich nun noch die Frage, welcher Art die chemischen Vorgänge sein müssen. Es erscheint im ersten Moment paradox, daß unter der Einwirkung von Wasserdampf eine Dehydratisierung des Silicagels stattfindet, wobei dem Wasserdampf gewissermaßen die Rolle eines Katalysators zugewiesen werden kann. Ausgehend von der Herstellung, d.h. der Kondensation von Kieselsäure, ist Silicagel als räumliches Gebilde von Silicium-Sauerstoff-Tetraedern in Form von Ketten oder Schichten aufzufassen. Die Kondensation ist durch

Kettenabbrüche gekennzeichnet, die dann eintreten, wenn reaktionsfähige Silanolgruppen in eine räumliche Isolation gelangen. Die Oberfläche des Feststoffgerüsts kann, wie dies in Abb. 9 dargestellt ist, einerseits isolierte Silanolgruppen enthalten, andererseits Siloxangruppen, d.h. Silicium-Sauerstoff-Brücken aufweisen, die durch Kondensation benachbarter Silanolgruppen entstanden sind.

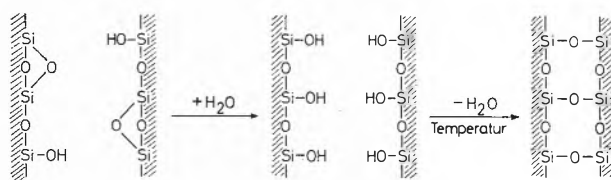


Abb. 9. Reaktionsschema für den Alterungsvorgang

Unter dem Einfluß von Wasserdampf kann eine partielle Rehydratisierung der Siloxangruppen stattfinden, wodurch eine thermodynamisch begünstigte Umgruppierung der Siloxanbindungen resultiert. Dies führt zu einer weiteren Vernetzung bzw. einem Zusammenschluß kleinerer Feststoffpartikel, wie dies im vorangehenden Modell angedeutet wurde.

Abschließend soll noch kurz auf einige wichtige Konsequenzen der hydrothermalen Alterung für die praktische Anwendung von Silicagelen hingewiesen werden:

- Die Untersuchungen zeigen, daß Silicagele sich nur dann für die Trocknung von heißen, feuchten und unter Druck stehenden Gasen eignen, wenn der Feuchtigkeitsgehalt einen Partialdruck von 1 ata nicht übersteigt.
- Silicagele lassen sich mit Wasserdampf von mehr als 1 ata Druck nur unter einem Aktivitätsverlust regenerieren.
- Silicagele eignen sich, selbst wenn alle anderen Voraussetzungen erfüllt sind, nicht als Katalysatorträger, wenn bei der durchzuführenden katalytischen Reaktion Wasserdampf in einem Partialdruck von mehr als 1 ata anfällt. Es gilt dies für einige Oxydationsreaktionen unter Druck.
- Und schließlich ermöglicht es die hydrothermale Alterung, aus handelsüblichen Silicagelen modifizierte Produkte mit definierter Oberfläche, in weiten Grenzen variierender Porengröße und mit verschiedenen adsorptiven Eigenschaften herzustellen.

Diese Studien wurden zum Teil mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ausgeführt; wir möchten dem Forschungsrat unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

B. BÖHLEN, M. BÜHLMANN und A. GUYER

Technisch-Chemisches Laboratorium der ETH, Zürich