

Rétention d'Acides Aminés sur Silice Chargée en Cuivre**

Jean-Luc Veuthey, Marc-Antoine Bagnoud et Werner Haerdi*

Abstract: The functionalization of silica with «bis(dithiocarbamate)-tentacles» and the retention of transition metal ions on this chelating surface were studied. The chemically modified silica in a copper (II)-loaded state has been used as an analogue for formulating a hypothesis concerning retention mechanisms for amino acids in heterogeneous aqueous media. It is proposed that a chelate complex causes the observed strong binding of amino acids to the silica surface. This behaviour enables the surface to be employed for enrichment of such compounds from environmental samples. In addition, the modified silica was found suitable for the enrichment of Lewis bases and on-line coupling to a chromatographic column.

* *Correspondance:* Prof. Dr. W. Haerdi
Département de Chimie minérale, analytique
et appliquée de l'Université, Sciences II
30 quai Ernest Ansermet, CH-1211 Genève 4

** Extrait travail thèse de doctorat de J. L. V. et
M. A. B.

Les silices modifiées chimiquement présentent depuis quelques années un intérêt croissant. Par exemple, en tant que surface chélatante pour la préconcentration des métaux^[1], comme support catalytique^[2], pour la synthèse de peptides^[3] ainsi

que comme phase stationnaire en chromatographie. Pour cette dernière application, les silices chélatantes peuvent être utilisées soit pour la séparation par chromatographie de métaux^[4] soit, si la silice chélatante est déjà chargée en métal, pour la chromatographie d'échange de ligands^[5].

Une autre application, en développement actuellement, consiste à utiliser ces «silices chélatantes métalliques» pour la préconcentration de composés organiques contenant un ou plusieurs hétéroatomes donneurs d'électrons (N, O, S, ...). Cette méthode de préconcentration peut être ensuite couplée directement (on-line) à une séparation chromatographique^[6].

L'analyse de composés organiques à l'état de traces dans des matrices d'échantillons naturels relativement complexes (eau, sang, urine, ...), par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ne peut pas toujours être effectuée directement, une étape de préconcentration et/ou de purification de l'échantillon est souvent nécessaire. L'extraction liquide-liquide est

conditions identiques de travail: l'acide indole-3-acétique (IAA), l'acide indole-3-propanoïque (IPA), la Tryptamine ainsi que le Pyrocatechol (Fluka AG, Buchs). Des solutions stock de 100 ppm en milieu aqueux de chacun de ces composés ont été préparées.

Résultats et Discussion

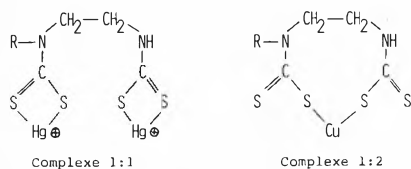
1) Complexes métal-bis-dithiocarbamate: La concentration du groupement bis-dithiocarbamate sur la silice déterminée par iodométrie, s'est avérée être de 1.00 ± 0.04 mmol/g (considérée en CS₂). Cette valeur est identique à celle déterminée précédemment^[1]. Les capacités de rétention de différents métaux de transition ainsi que les couleurs observées à la surface de la silice sont répertoriées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Capacité de rétention des métaux et coloration de la silice.

Métal	Capacité [mmol g ⁻¹]	Couleur
Hg ^{II}	0.96 ± 0.01	jaune
Ag ^I	0.94 ± 0.01	brun-rouge
Cu ^{II}	0.50 ± 0.01	brun-vert
Pb ^{II}	0.20 ± 0.02	jaune
Cd ^{II}	0.20 ± 0.02	blanc
Zn ^{II}	0.15 ± 0.02	blanc

Les capacités de rétention des différents métaux de transition suivent l'ordre de complexation obtenu en solution selon Eckert^[10]: Hg > Ag > Cu > Pb > Cd > Zn. Ceci nous confirme que la rétention de ces métaux est bien due à la formation des complexes correspondants.

D'après les valeurs de concentration des groupes dithiocarbamates mesurées par iodométrie et de la mesure de la rétention des métaux, nous pouvons émettre l'hypothèse que le mercure et l'argent forment des complexes 1:1, alors que les autres métaux forment des complexes 1:2. Ces résultats déduits de considérations stoechiométriques confirment d'ailleurs ceux mentionnés dans la littérature^[1,9].



2) Stabilité des silices: La stabilité de ces surfaces est un problème majeur lors de leur utilisation sous pression en milieu aqueux. En effet, la fonction dithiocarbamate est connue pour être: très instable en milieu acide, facilement oxydable en thiurame disulfure en présence d'oxygène, oxydée par certains métaux et enfin dans le cas de dithiocarbamates monosubstitués pour se décomposer via un réarrangement intramoléculaire libérant H₂S^[1].

Les tests de stabilité effectués sur nos silices chargées en cuivre n'ont pas permis de constater des dégradations visibles.

Néanmoins, des déterminations de présence de cuivre effectuées par absorption atomique, ainsi que l'observation de la présence de composés organiques dans les éluats effectuée par spectrophotométrie U.V., laissent penser à une légère instabilité. Les raisons de cette instabilité sont toutefois mal définies. En effet, en plus des dégradations possibles de la fonction dithiocarbamate, il est connu que la silice-diamine obtenue en tant qu'intermédiaire n'est pas très stable en milieu aqueux. Différents mécanismes de décomposition ont été proposés^[11, 12].

Cependant, cette instabilité des silices métalliques étant relativement peu importante, leur utilisation pour la préconcentration de bases de Lewis ne pose pas de problèmes majeurs. En effet, l'analyse fluorimétrique après séparation de ces composés permet d'obtenir de très bons résultats.

3) Rétention d'acides aminés sur Si-bis-DTC-Cu: Le cuivre fixé possède encore des sites libres de coordination. Les acides aminés choisis comme bases de Lewis sont répertoriés dans le Tableau 2. Les premiers tests de rétention ont été effectués avec L-Trp. Le volume d'enrichissement maximum, V_{EM}, mesuré en fonction du pH est reporté sur la Fig. 2.

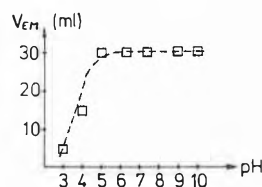


Fig. 2. Volume d'enrichissement (V_{EM}) en fonction du pH.

Tableau 2. Formules des acides aminés et leurs constantes acide-base, constantes de formation des complexes entre le cuivre et les fonctions amino-acides.

Nom	Formule	pK _{ab}	lg β ₁	lg β ₂
L-Trp		2.44; 9.34	8.02	15.56
L-Tyr		2.1; 9.03 10.1	7.8	14.6
L-Dopa		2.22; 8.8 9.83; 13.4	7.56	14.19

(remarque: pour L-Dopa, avec participation des groupements hydroxy: lg β_{CuL} = 12.99 et lg β_{CuL₂} = 24.99).

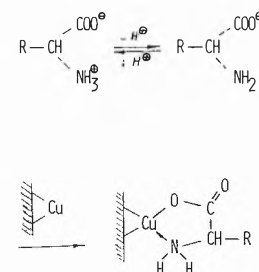
Tableau 3. Formules et constantes de formation de complexes avec le cuivre pour IAA, IPA et la Tryptamine.

Nom	Formule	pK _a	lg K ₁	lg K ₂
IAA		6.25	4.70	3.70
IPA		6.15	4.50	3.50
Tryptamine		9.65	-	-

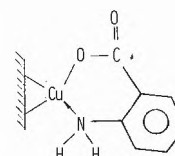
Les mêmes essais effectués à pH 6.5 pour différentes forces ioniques et différentes polarités de phase mobile aboutissent aux mêmes valeurs de V_{EM}. Ces résultats combinés à la connaissance des constantes des couples acide-base correspondants nous indiquent que la rétention de L-Trp est due à une réaction de complexation entre l'espece anionique de l'acide aminé et le cuivre^[13].

La réaction de formation du complexe peut être schématisée de la manière suivante (Schéma 2):

Schéma 2



Thermodynamiquement, un tel complexe est relativement stable car il est formé d'un cycle de 5 membres. D'autre part, les acides β-aminés formant des cycles de 6 membres sont eux aussi très stables, ce qui a été confirmé au moyen de l'acide anthranilique.



La vérification de la participation des atomes d'oxygène et d'azote dans la réten-

tion de L-Trp sur Si-bis-DTC-Cu a été effectuée avec des composés de structure identique à L-Trp ne contenant que l'un des deux hétéroatomes. Ces composés sont répertoriés dans le Tableau 3.

Les résultats obtenus sur les deux acides démontrent que le groupement carboxylate se lie effectivement au cuivre. De même, la Triptamine est retenue sur le cuivre sous sa forme déprotonée par une liaison entre le cuivre et l'amine. Par contre, dans les 3 cas, les volumes d'enrichissement mesurés sont dix à quinze fois inférieurs à ceux obtenus pour L-Trp. Ceci prouve bien l'existence d'un effet chélatant entre l'acide aminé et le cuivre.

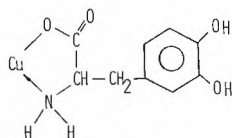
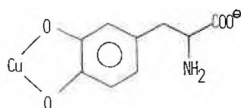
Le chélate L-Trp-Cu est suffisamment stable pour ne pas être influencé par la présence même à relativement forte concentration d'électrolytes tels que: Cl^- , Ca^{2+} ou Mg^{2+} .

Le comportement des deux autres acides aminés L-Tyr et L-Dopa étudiés, est identique à celui de L-Trp. Toutefois, bien que les constantes de formation des complexes des trois acides aminés soient proches (voir Tableau 2), les volumes d'enrichissement maximum (V_{EM}) sont très différents. Les résultats sont consignés dans le Tableau 4.

Tableau 4. Volume d'enrichissement (V_{EM}).

Acide aminé	V_{EM} [mL]
L-Trp	27
L-Tyr	14
L-Dopa	> 100

Ces différences peuvent s'expliquer par la participation d'autres fonctions dans la rétention sur la silice cuivrée. Il est par exemple connu que L-Dopa peut être fixée au cuivre d'une part par une liaison type acide aminé et d'autre part par des groupements hydroxy favorablement placés pour former un chélate à 5 membres^[14]:



Les deux types de liaison peuvent exister à partir de pH 5 et permettent d'expliquer la grande différence obtenue entre L-Dopa

et L-Tyr. En effet, à partir de ce pH, la participation des deux fonctions hydroxy déprotonées induit de nouvelles constantes de formation du complexe L-Dopa-Cu^[15] nettement plus grandes que celles pour L-Tyr (ainsi que pour L-Trp) aux mêmes conditions de pH (Tableau 2).

La participation des fonctions hydroxy dans la forte rétention de L-Dopa sur le cuivre est démontrée par des essais identiques effectués sur le Pyrocatechol. Un volume d'enrichissement maximum de 17 mL a pu être mesuré.

La différence, moins importante, mesurée entre L-Trp et L-Tyr peut être due, selon Meyer et Bauman^[16], à la participation du noyau benzénique ou de l'azote de l'indole. En effet, la structure de L-Trp permet au noyau aromatique de se placer favorablement au-dessus du cuivre.

Enfin, des différences de rétention entre les différents acides aminés peuvent aussi provenir d'autres interactions: dispersion, dipôle-dipôle, π - π , ionique, liaison hydrogène, etc. . . Il est donc difficile de prédire avec certitude les mécanismes autres que la complexation, régissant la rétention des acides aminés sur le cuivre.

4) Rétention de L-Trp sur silices chargées en mercure et en cadmium: Des essais de rétention de L-Trp effectués sur ces deux métaux, nous pouvons tirer les conclusions suivantes: a) Cd^{II} ne forme pas de complexe assez stable avec L-Trp pour satisfaire sa préconcentration par cette technique; b) Hg^{II} forme des complexes relativement stables avec L-Trp. Toutefois, les nombreuses espèces présentes dans les matrices naturelles provoquent d'importantes interférences. En effet, déjà à partir de pH 4, les groupements hydroxy bloquent les sites de coordination du mercure. D'autre part, les anions Cl^- forment également des complexes stables avec le mercure et ont aussi pour effet de bloquer ces sites.

Conclusions

La silice-bis-dithiocarbamate présente les avantages suivants: synthèse facile et peu coûteuse, bonne reproductibilité, très forte rétention des métaux de transition, grande capacité de rétention. La légère instabilité de cette silice chélatante n'est pas gênante notamment pour la préconcentration de bases de Lewis.

La silice-bis-dithiocarbamate chargée de cuivre permet de retenir fortement les bases de Lewis (acides aminés, pyrocatechol) par formation d'une liaison complexante. L'espèce retenue forme avec le cuivre un chélate à 5 ou 6 membres.

La très forte rétention des composés formant des chélates, permet d'utiliser cette silice chargée en cuivre pour leur préconcentration en milieu naturel.

Un couplage direct entre la colonne de préconcentration et une colonne chromatographique pour L-Trp a déjà été présenté^[6].

Les métaux tels que le mercure ou le cadmium ne sont pas appropriés à cette technique de préconcentration des milieux naturels.

Les recherches en cours sont axées sur le couplage direct préconcentration-séparation chromatographique de différentes bases de Lewis, ainsi que sur la synthèse de nouvelles silices chélatantes.

Received: July 12, 1986 [FC 81]

- [1] D. E. Leyden, G. H. Luttrell, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1612.
- [2] G. V. Lisichkin, A. Yu. Yuffa, in: *Heterogeneous Complex-Metal Catalysts*, Khimiya, Moscow (1981).
- [3] M. D. Mattenci, M. H. Carathers, *Tetrahedron Lett.* 21 (1980) 719.
- [4] J. R. Jezorek, H. Freiser, *Anal. Chem.* 51 (1979) 366.
- [5] G. J. Shahwan, J. R. Jezorek, *J. Chromatogr.* 256 (1983) 39.
- [6] J. L. Veuthey, M. A. Bagnoud, W. Haerdi, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 26 (1986) 157.
- [7] R. W. Frei, *Swiss Chem.* 6 (1984) 55.
- [8] J. J. Christensen, D. J. Eatough, R. M. Izatt, in: *Handbook of Metal-Ligand Heats and Related Thermodynamic Quantities*, Dekker, New York (1975).
- [9] G. D. Thorn, R. A. Ludwig, in: *The Dithiocarbamates and Related Compounds*, Elsevier, Amsterdam (1962).
- [10] G. Eckert, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 115 (1957) 23.
- [11] M. Gimpel, K. Unger, *Chromatographia* 16 (1982) 117.
- [12] J. R. Jezorek, K. H. Faltynski, L. G. Blackburn, P. J. Henderson, H. D. Medina, *Talanta* 32 (1985) 763.
- [13] S. M. Felch, J. E. Stuehr, G. W. Tin, *Inorg. Chem.* 14 (1975) 2175.
- [14] A. Guergely, T. Kiss, *Inorg. Chim. Acta* 16 (1976) 51.
- [15] J. E. Gorton, R. F. Jameson, *J. Chem. Soc. (A)* (1968) 2615.
- [16] J. L. Meyer, J. E. Bauman, *Chem. Eng. Data Ser.* 15 (1970) 404.